

GRAVIMETRISCHE MIKROBESTIMMUNG VON ACETOIN UND DIACETYL.

Von

ROLAND KUNZE.

Aus dem Biochemischen Institut der Technischen und Montanistischen Hochschule Graz-Leoben in Graz, Vorstand Prof. Dr. F. FUHRMANN.

(Eingelangt am 7. Oktober 1936.)

Seitdem durch zahlreiche Untersuchungen bekannt geworden ist, daß der Ketonalkohol Acetoin, dessen Oxydations- und Reduktionsstufen vielfach als Zwischenprodukte bei der Gärung von Mikroorganismen auftreten, ferner ganz allgemein im Tier- und Pflanzenreich vorkommen und im Zusammenhang damit auch in Nahrungs- und Genußmitteln weit verbreitet sind, gewinnt die quantitative Bestimmung dieser Substanzen immer mehr an Bedeutung. Sie wird vornehmlich mit Hilfe der bekannten TSCHUGAEFF'schen¹ Nickeldimethylglyoxim-Reaktion ausgeführt, ein Verfahren, das von M. LEMOIGNE² stammt, von A. J. KLUYVER³ und Mitarbeitern verbessert und von C. B. VAN NIEL⁴ zur Grundlage einer gewichtsanalytischen Methode ausgestaltet wurde, die auch bei Gegenwart anderer Substanzen spezifisch ist.

Bei unseren Untersuchungen⁵ über die Lipoidanreicherung in untergärigen Brauereihefen, mußten wir das intermediär gebildete Acetoin neben anderen Stoffwechselprodukten bestimmen, wozu insbesondere für Serienversuche, zur raschen und sicheren Ermittlung auch kleiner Mengen, die Ausarbeitung einer Mikromethode erforderlich war. Die Aussichten für die Genauigkeit derselben waren insofern günstig, als ungefähr das doppelte Gewicht der zu bestimmenden Substanzen zur Wägung gelangt und für die

¹ L. TSCHUGAEFF, B. 38, 2520 (1905).

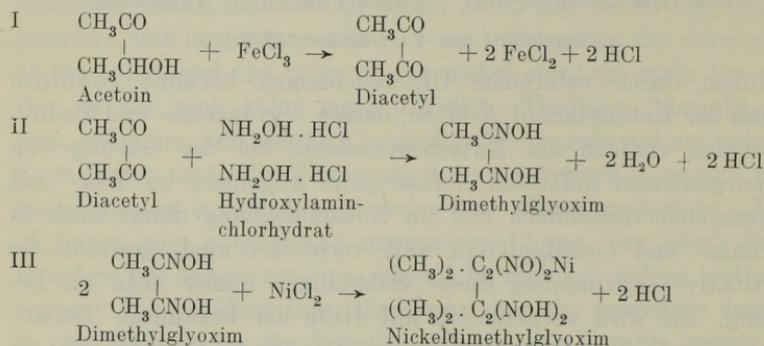
² Ann. Inst. Pasteur 27, 871 (1913); Compt. rend. Acad. Sci. 170, 131 (1920); 177, 652 (1923).

³ A. J. KLUYVER, H. J. L. DONKER und F. VISSER'T HOOFT, Biochem. Ztschr. 161, 361 (1925).

⁴ Biochem. Ztschr. 187, 472 (1927).

⁵ W. HALDEN, F. BILGER und R. KUNZE, Naturwiss. 21, 660 (1933); W. HALDEN, Ztschr. physiol. Chem. 225, 68 (1934).

Erfassung der Niederschläge, die von J. DONAU⁶ geschaffene Methode der Niederschlagsbehandlung Anwendung finden konnte, deren Vorteil in der Verwendung kleinster Gefäße liegt, die ein ebenso rasches wie genaues Arbeiten ermöglichen. Deshalb unternahm ich es, auf Grund der genannten Reaktion eine Mikromethode auszuarbeiten; Vorbedingung war das eingehende Studium des Reaktionsverlaufes. Zur Erklärung des Versuchsganges sei vorerst das Reaktions-Schema wiedergegeben:



Hiebei lassen sich drei Reaktionsstufen unterscheiden, nämlich die Oxydation von Acetoin mittels Eisenchlorid zu Diacetyl (I), die Destillation und Überführung des Diacetyls in Dimethylglyoxim (II) und schließlich die Fällung des Dimethylglyoxims als Nickelsalz (III).

Wie ersichtlich, wird bei allen drei Reaktionen reichlich Salzsäure gebildet, wodurch beträchtliche Mengen des ausgefallten Niederschlages gelöst werden. Deshalb waren frühere Autoren genötigt, einerseits durch Neutralisation mit Ammoniak oder Sodalösung, andererseits durch Puffern mit Natriumacetat, diesem Umstand zu begegnen. Trotzdem verläuft diese Reaktion nicht immer quantitativ, so daß W. DIRSCHERL⁷ zur Erzielung richtiger Werte einen Faktor einführen mußte. Als Erklärung führt der Autor an, daß der Fehler bei der Oxydation liege und Acetoin eben nur zu 80—85% in Diacetyl umwandelbar sei, denn würde Diacetyl teilweise weiteroxydiert werden, müßten verschiedene Mengen Nie-

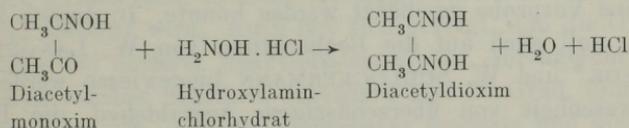
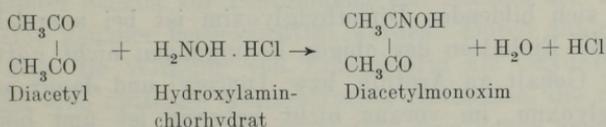
⁶ Monatsh. Chem. 60, 129 (1932); dort weitere Literaturangaben.

⁷ Ztschr. physiol. Chem. 188, 225 (1930).

derschlag auftreten, je nach dem, ob Diacetyl direkt mit Hydroxylamin und Nickelsalz umgesetzt oder der Oxydation mit Eisenchlorid und Destillation unterworfen wird; er erhielt jedoch in beiden Fällen übereinstimmende Werte. Dagegen ergab sich aus meinen Versuchen, daß direkte Umsetzung von Diacetyl quantitativ verläuft, während bei der Destillation, infolge der Flüchtigkeit des Diacetyls, ein Verlust von nahezu 10% auftritt. Es kam also darauf an, die einzelnen Reaktionen getrennt zu studieren, wozu eine Reihe systematischer Untersuchungen nötig war.

Die Bedingungen der quantitativen Fällung des Nickeldimethylglyoxims.

Es ist zu berücksichtigen, daß die im Reaktions-Schema unter II dargestellte Umwandlung von Diacetyl zu Nickeldimethylglyoxim langsam verläuft, denn sie erfolgt stufenweise, indem sich zuerst das Diacetylmonoxim bildet und erst bei weiterem Einwirken von Hydroxylamin das Diacetyldioxim:



Schließlich bilden sich unter dem Einfluß des Nickelsalzes die roten, dichroitischen Nadeln von Nickeldimethylglyoxim. Grundbedingung für den quantitativen Verlauf der Mikroreaktion ist, wie nach dem Massenwirkungsgesetz verständlich, die Anwendung konzentrierterer Reagenzien. Als wichtig erwies sich ferner, vor Zugabe des Diacetyls als Testsubstanz, das mit Natriumacetat auf $p_{\text{H}} = 7-8$ gepufferte Gemisch von Hydroxylamin und Nickelchlorür kurz bis zum Sieden zu erhitzen, um die bei späterem Erwärmen sonst auftretenden verschiedenen Oxydationsstufen des Hydroxylamins zu vermeiden. Zur Beschleunigung der Umwandlung und Fällung ist es erforderlich, das gut verschlossene Fällungsgefäß zunächst auf 90 Grad zu erwärmen und dann durch kurzes Kühlstellen im Eisschrank den erhaltenen Niederschlag

vollständig abzuschneiden. Auf diese Weise erhält man eine quantitative Umsetzung von Diacetyl zu Nickeldimethylglyoxim, wobei die Menge an zugesetztem Hydroxylamin und Nickelchlorür innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwanken kann, wie aus Tabelle I ersichtlich ist.

Tabelle I.

Diacetyl als Testsubstanz	Hydroxylaminchlorhydrat in cc	Nickelchlorür in cc	Natriumacetat in cc	Niederschlag gefunden in mg	Diacetyl berechnet in mg	Prozente d. Testsubst.	Fehler in %
1 mg	0,02	0,02	1,0	1,671	0,996	99,6	-0,4
1 mg	0,05	0,05	1,0	1,680	1,001	100,1	+0,1
1 mg	0,10	0,10	2,0	1,645	0,980	98,0	-2,0
1 mg	0,20	0,20	3,0	1,662	0,989	98,9	-1,1
1 mg	0,50	0,50	5,0	1,642	0,978	97,8	-2,2

Eine besondere Berücksichtigung des Konzentrationsverhältnisses⁸ von angewandtem Nickelchlorür zu dem im Verlaufe der Reaktion sich bildenden Dimethylglyoxim ist bei ausreichendem Puffern und Einhalten der obigen Bedingungen nicht notwendig, zumal der Gehalt an Acetoin, bzw. Diacetyl und damit auch an Dimethylglyoxim, im voraus nicht bekannt ist und höchstens durch eine Vorprobe geschätzt werden könnte. In diesem Zusammenhang soll auch auf die Beobachtung von W. LANGENBECK, H. WREDE⁹ und W. SCHLOCKERMANN hingewiesen werden, daß bei Anwesenheit von überschüssigem Acetaldehyd, die Bestimmung von Acetoin in der bisherigen Ausführungsform nach LEMOIGNE, bzw. VAN NIEL nicht immer quantitativ verläuft, da Acetaldehyd im Überschuß durch Bildung von Acetaldoxim die Ausfällung kleiner Mengen Nickeldimethylglyoxim verhindert. Die genannten Autoren dampften daher das Gemisch von Acetaldoxim und Diacetyldioxim bei Gegenwart von Nickelsalz in wässriger Lösung ein. Während Acetaldoxim leicht flüchtig ist, fällt Nickeldimethylglyoxim aus, wobei allerdings auch etwas Diacetyldioxim verloren gehen kann. Auch ich konnte Verluste, besonders bei zu schwach gepufferten Probeansätzen, feststellen, wobei sich oft erst nach dem Eindampfen des Filtrates bis zur Trockene und Wieder-

⁸ Vgl. TREADWELL, Lehrb. der analyt. Chemie, Bd. II, 10. Aufl. 1923, S. 109.

⁹ Ztschr. physiol. Chem. 227, 263 (1934).

benetzen mit Wasser eine geringe Niederschlagsmenge durch schwache Rotfärbung zeigte. Diese Verluste sind hauptsächlich auf die bei der Reaktion eintretende Säuerung des Reaktionsgemisches zurückzuführen und nicht etwa auf die Löslichkeit in der Waschflüssigkeit, die aus wässrigem Alkohol (3 : 1) besteht, worin der Niederschlag, wie entsprechende Versuche ergaben, praktisch vollkommen unlöslich ist. Dagegen muß die Lösung, wie bereits oben dargelegt, durch ausreichendes Puffern neutral bis schwach alkalisch gehalten werden. Es ist zur Kontrolle der quantitativen Abscheidung wichtig, das schließlich erhaltene Filtrat durch vorsichtiges Eindampfen zu überprüfen, um etwa auftretende meßbare Anteile von Niederschlag mitzubestimmen.

Überführung von Acetoin in Diacetyl.

Nachdem die quantitative Mikrobestimmung von Diacetyl unter Verwendung kleinster Mengen Testsubstanz gelungen war, mußte als nächster Schritt zur Bestimmung von Acetoin der Verlauf der Oxydation genauer berücksichtigt werden. Durch zahlreiche Versuche über die Wirkung von Eisenchlorid als Oxydationsmittel, ließ sich eine optimale Konzentration feststellen, die nicht überschritten werden darf, da sonst Acetoin, bzw. schon umgewandeltes Diacetyl zerstört wird. Auch hat sich gezeigt, daß die Oxydation vorsichtig, bei niedriger Reaktionstemperatur, durchgeführt werden muß, denn rasches Erhitzen, besonders über 90 Grad, führt gleichfalls zu Verlusten. Um die Temperatur langsam und gleichmäßig steigern zu können, erwies sich die Verwendung eines Glycerinbades als Wärmeschutz für den Oxydationskolben notwendig; dadurch wird gleichzeitig eine plötzliche Überoxydation ausgeschlossen. Die Einwirkungsdauer spielt offenbar eine geringe Rolle. Eine Versuchsreihe mit 30 Minuten bis 6 Stunden langer Einwirkung von Eisenchlorid bei Zimmertemperatur und hernach langsam ansteigendem Erhitzen bis zur Maximaltemperatur von 90 Grad ergab übereinstimmende Werte. Neben der Konzentration des Oxydationsmittels ist somit nicht die Dauer, sondern die Art der Oxydation von Bedeutung. Sie verläuft am besten im schwach sauren Medium, bei $p_{\text{H}} = 4$ bis 5, mit halbnormaler Essigsäure eingestellt.

Trotzdem konnte bei dieser Arbeitsweise nur 87,4 bis 89% der

angewandten Testsubstanz erhalten werden, also um etwa 10% weniger als bei der direkten Umsetzung von Diacetyl im Fällungsgefäß. Diese Verluste entstanden nicht bei der Oxydation, sondern waren, wie Kontrollversuche mit reinem Diacetyl im Destillierkolben ergaben, durch die Flüchtigkeit des Diacetyls bedingt; deshalb mußte eine Schliffapparatur in Verwendung kommen.

Apparatur zur Destillation von Diacetyl.

Die Anwendung eines Glas-Schliff-Apparates erfolgte zur Vermeidung von Gummistopfen, die sich in der Destillationsanlage nicht bewährten und das namentlich bei höherer Temperatur leicht flüchtige Diacetyl entweichen ließen. Wie aus der Abbildung 1 er-

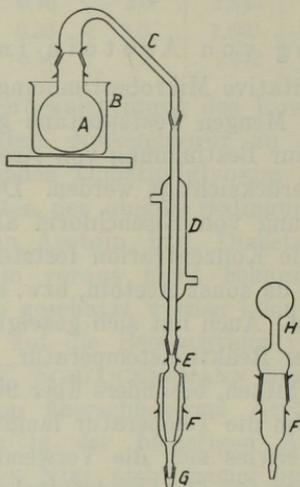


Abb. 1. Schematische Darstellung der Destillationseinrichtung und des Fällungsröhrchens.

sichtlich, ist die Anordnung so getroffen, daß der Oxydationskolben A, umgeben vom Glyzerinbad B, durch das mit doppelseitigem Schliff versehene Ableitungsrohr C mit dem vertikalen Kühler D verbunden wird, dessen unteres Ende ein gleichfalls mit Schliff versehenes Ansatzstück E trägt, das während der Destillation in die Vorlageflüssigkeit eintaucht und so ein verlustfreies Arbeiten ermöglicht. Dieses Ansatzstück ist etwas konisch erweitert, wodurch der Querschnitt des Lumens gegenüber dem Kühlerrohr vergrößert wird, und ein plötzliches Aufsteigen der Vorlageflüssig-

keit, selbst bei vorübergehendem Siedeverzug, vermieden wird. Es muß verhindert werden, daß Vorlageflüssigkeit in das Kühlerrohr gelangt, da dort Niederschlag ausfällt und so Verluste entstehen. Den Destillationsapparat samt Fällungsgefäß und Filtriereinrichtung¹⁰ veranschaulicht Abbildung 2. In dem links sichtbaren Chlorkalzium-Exsikkator sind die Platinfilterschälchen vorbereitet

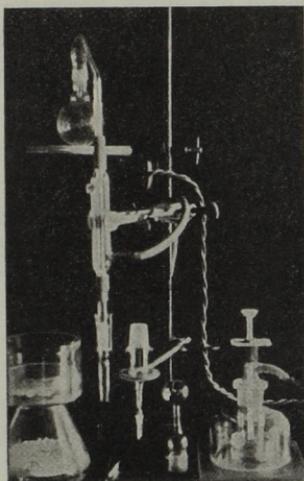


Abb. 2. Gesamtanordnung der Destillationsapparatur samt Filtriereinrichtung.

Durchführung der Methode.

Zur Ausarbeitung dieser Mikromethode dienen als Testsubstanzen hauptsächlich Diacetyl von der SCHERING-KAHLBAUM A.-G., Berlin, und Acetoin (Acetylmethylcarbinol) aus POLAK'S Frutal-Works, Amersfoort in Holland. Daneben wurde noch ein durch Reduktion von Diacetyl mittels Zinkstaub und Schwefelsäure nach PECHMANN und DAHL¹¹ selbsthergestelltes Acetoin-Präparat verwendet. Für die Versuche gelangten Lösungen bestimmter Konzentration in wechselnder Menge zur Anwendung, die mittels geeichter Pipetten, bei kleinsten Maßen mit der 0,1 cc Auswasch-Mikropipette nach F. PREGL, gemessen wurden.

¹⁰ Die Glasapparatur sowie alle Behelfe für die Fällungs- und Filtriereinrichtung nach J. DONAU, liefert die Firma PAUL HAACK, Wien, IX., Garellig. 4.

¹¹ B. 22, 2214 (1889); 23, 2421 (1890).

Notwendige Reagenzien und Konzentrationen.

Für die Ausführung dieser Bestimmung benötigt man:

0,1—0,2 cc einer 40%igen Lösung	Hydroxylamin-Chlorhydrat
0,1—0,2 cc einer 20%igen Lösung	Nickelchlorür
2—5 cc einer 40%igen Lösung	Natriumacetat
1—2 cc einer 20%igen Lösung	Ferrichlorid
1—2 cc halbnormaler Essigsäure.	

Hiebei sind gleichzeitig die durch Versuche ermittelten Konzentrationen, bezogen auf die bestimmbare Menge Acetoin, bzw. Diacetyl, für den Erfassungsbereich von 0,3 bis 10 mg angegeben.

Grenzen der Methodik.

Ist die Größenordnung der zu erwartenden Niederschlagsmenge auch annähernd nicht bekannt, so muß dieselbe auf Grund eines Vorversuches abgeschätzt werden. Dies ist notwendig, weil größere Mengen als 10 mg mit Hilfe der beschriebenen Einrichtungen nicht mehr einwandfrei bestimmt werden können. Desgleichen geben kleinere Mengen als 0,3 mg keine sicheren Werte mehr. Für solche Fälle sind jedoch bereits kolorimetrische Verfahren vorhanden; hier sei besonders auf C. R. BARNICOAT¹³ hingewiesen. Der Niederschlag wird nach diesem Verfahren in Chloroform gelöst und kolorimetrisch mit einer Standardlösung verglichen. Allerdings ist bei den kolorimetrischen Methoden die Genauigkeit bedeutend vermindert, dürfte aber praktisch zumeist genügen.

Die stöchiometrische Berechnung der gravimetrisch ermittelten Werte ergibt sich auf Grund der Äquivalentgewichte wie folgt:

Gewicht des Niederschlages in Milligramm

$$\text{Nickeldimethylglyoxim} \times 0,610 = \text{Acetoin in mg.}$$

$$\text{Nickeldimethylglyoxim} \times 0,596 = \text{Diacetyl in mg.}$$

Ausführung der Bestimmung.

Zur gravimetrischen Mikrobestimmung von Acetoin, bzw. Diacetyl in flüssigen oder festen Nährsubstraten, insbesondere bei Stoffwechselversuchen an Mikroorganismen, werden, der voraussichtlichen Niederschlagsmengen entsprechend, 2 bis 20 Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit oder ebensoviel Gramm des zerkleinerten, kolloiden Materiales, z. B. Nähragar, Würz-

¹³ Analyst **60**, 653 (1935).

gelatine und dgl. in Wasser aufgenommen und in den Oxydationskolben gebracht. Dazu kommen Ferrichlorid und Essigsäure in den oben angegebenen Konzentrationen, sowie eine Siedekapillare. Hierauf werden die Schlißverbindungen mit einer dünnen Glycerinschicht abgedichtet und so zusammengefügt, daß ein verlustfreies Arbeiten gewährleistet ist. Man führt die Oxydation bei niedriger Temperatur, etwa 50—60 Grad, am besten auf einer Elektroheizplatte durch, kann dieselbe mit einiger Vorsicht aber auch auf dem Drahtnetz oder einem Sandbade vornehmen. Zu beachten ist, daß während der ersten halben Stunde die Temperatur nicht über 70 Grad steigt und erst später die Destillation bei 90 Grad ganz langsam vor sich geht. Eine weitere Temperatursteigerung ist möglichst zu vermeiden, da das mitüberdestillierende Wasser die Vorlageflüssigkeit zu sehr verdünnt und die Umsetzung zu Nickeldimethylglyoxim nicht mehr quantitativ erfolgt.

Als Vorlage dient, wie aus Abbildung 1 ersichtlich, ein vergrößertes DONAU'sches Fällungsröhrchen F, dessen obere Schlißkappe H während der Destillation abgenommen und durch einen Watterverschluß ersetzt wird, wogegen der untere Spitzenverschluß G fest sitzen muß. Diese Vorlage enthält Hydroxylamin-Chlorhydrat, Nickelchlorür sowie Natriumacetat in den angegebenen Konzentrationen und wird (von einem Stativ gehalten) so eingestellt, daß das Kühlerrohrende mit dem Ansatzstück gerade noch in die Vorlageflüssigkeit eintaucht und das langsam überdestillierende Diacetyl auf diese Weise verlustfrei zur Umsetzung gelangt. Es ist darauf zu achten, daß mit fortschreitender Destillation nicht Vorlageflüssigkeit in das Kühlerrohr steigt, weil dadurch auch Anteile des feinen Niederschlages verloren gehen. Die am Ansatzstück selbst haftenden Niederschlagsteilchen lassen sich nach beendeter Destillation mit einigen Tropfen wässrigen Alkohols (3 Teile Wasser und 1 Teil Alkohol) leicht abspülen und quantitativ im Vorlagegefäß sammeln. Durch den Überdruck während der Destillation wird die Vorlageflüssigkeit in Bewegung gehalten und durchmischt, so daß immer wieder frische Lösung zur Reaktion gelangen kann. Da die Umsetzung stufenweise erfolgt und, wie bereits mitgeteilt, durch höhere Temperatur beschleunigt wird, hält man die Vorlage auf 50 Grad erwärmt.

Bei dieser Arbeitsweise dauert die Destillation meist eine

Stunde. Sobald annähernd $\frac{2}{3}$ der Flüssigkeit aus dem Oxydationskolben überdestilliert ist und sich keine weitere Zunahme des Niederschlages bemerkbar macht, ist die Destillation beendet. Zweckmäßig prüft man durch eine zweite Destillation mit neuer Vorlage auf Vollständigkeit. Sollte neuerlich ein Niederschlag ausfallen, so muß dessen Bestimmung genau wie bei der Hauptprobe durchgeführt werden, um quantitative Ergebnisse zu erzielen.

Nach beendeter Destillation wird das Vorlage-Fällungs-Gefäß samt Inhalt auch mit der oberen Schliffkappe gut verschlossen, während einer halben Stunde bei 90 Grad in einem Thermostaten oder in einem mittels Mikroflamme auf dieser Temperatur gehaltenen Messingheizring belassen, um die quantitative Fällung des Niederschlages zu bewirken.

Hierauf kühlt man das Fällungsgefäß während einer halben Stunde auf zirka 6 Grad ab, wobei die Kristallisation der letzten Anteile am raschesten erfolgt. Zur Filtration wird das Fällungs-röhrchen samt Niederschlag wieder in das Stativ eingeklemmt, die obere Schliffkappe abgenommen, deren Kugel mäßig erwärmt und wieder aufgesetzt. Dadurch entsteht im Innern des Gefäßes ein Unterdruck, der es ermöglicht, den unteren Spitzenverschluß zu öffnen, ohne daß Flüssigkeit abtropft. Zweckmäßig stellt man hierauf das Fällungsgefäß so ein, daß die nach unten weisende Spitze sich ungefähr einen halben Zentimeter über der Randfläche eines ausgeglühten und gewogenen DONAU'schen Platinfilterschälchens¹⁴ befindet. Durch Berühren der Kugel mit einem heißen Glasstab oder durch Erwärmen mittels einer kleinen Bunsenflamme läßt sich nun der Inhalt aus dem Fällungs-röhrchen tropfenweise auf das Filterschälchen bringen. Mit Hilfe eines in einem Glasrohr befestigten Federföhnchens oder eines mit Gummistück versehenen Glasstäbchens werden Niederschlagsreste, die an der Gefäßwand haften, entfernt und durch gleichzeitiges Waschen mit wässrigem Alkohol (3 : 1) quantitativ in das Filterschälchen überspült.

Nachdem die letzten Anteile der Flüssigkeit durch die kapillare Saugwirkung des Trichterchens abgelaufen sind, wird das Filter-

¹⁴ Vgl. a. „Arbeitsmethoden d. Mikrochemie“, Franckh'sche Verlagsh., Stuttgart, 1913, Seite 44; siehe auch F. EMICH, „Mikrochemisches Praktikum“, Verlag J. F. Bergmann, München, 1924, Seite 69.

schälchen mit dem Niederschlag in einem kleinen Aluminiumtrockenblock bei 105 Grad bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Zur Wägung wurde die NERNST-DONAU'sche Mikrowaage¹⁵ verwendet, die infolge ihrer weitgehenden Temperaturunabhängigkeit die Ermittlung des Gewichtes in wenigen Sekunden gestattet und sich deshalb besonders für Serienbestimmungen eignet. Selbstverständlich kann auch jede andere mikrochemische Waage hierfür benützt werden.

Die Ausführung der gesamten Bestimmung dauert bei einiger Übung kaum drei Stunden. Die mit dieser Methode erhaltenen Werte sind aus den nachstehenden Tabellen II und III ersichtlich. Es wurden die gefundenen Werte für Acetoin, also nach erfolgter Oxydation, bzw. Destillation, denen für Diacetyl (direkte Umsetzung) zum Vergleich gegenübergestellt. Die Werte stimmen innerhalb des angeführten Erfassungsbereiches mit einem maximalen Fehler von $-2,8\%$ überein.

Tabelle II.

Acetoin als Testsubstanz in mg	Niederschlag gefunden in mg	Acetoin berechnet in mg	Prozente der Testsubstanz	Fehler in %
0,3	0,479	0,292	97,4	-2,6
0,5	0,795	0,485	97,2	-2,8
1,0	1,628	0,993	99,3	-0,7
2,0	3,201	1,953	97,7	-2,3
3,0	4,811	2,935	97,8	-2,2
5,0	8,052	4,911	98,2	-1,8
10,0	16,005	9,763	97,6	-2,4

Tabelle III.

Diacetyl als Testsubstanz in mg	Niederschlag gefunden in mg	Diacetyl berechnet in mg	Prozente der Testsubstanz	Fehler in %
0,5	0,834	0,497	99,4	-0,6
1,0	1,682	1,002	100,2	+0,2
2,0	3,302	1,969	98,4	-1,6
5,0	8,242	4,912	98,2	-1,8
10,0	16,316	9,724	97,2	-2,8

¹⁵ J. DONAU, Mikrochemie 8, 257 (1930); 9, 1 (1931); 13, 155 (1933); vgl. auch G. GORBACH, Sammelreferat „Die Mikrowaage“, Mikrochemie 20, 254 (1936), und zwar Seite 310.