

Die Substanz zeigt i. Vak. bei 20° keinen Verlust; bei 100° werden in 6 Stdn. 21.1% abgegeben, ber. für 1 Mol. Anilin 21.2%. Es liegt dann *p*-Nitro-benzyl-chinolinium-bromid vor. Die Mol.-Verb. ist in warmem Wasser unter Zersetzung in die Komponenten farblos löslich. — Auch andere *p*-Nitro-benzyl-chinolinium-Salze, etwa das Perchlorat, lösen sich orangerot in Anilin, in Methylanilin tiefrot; ebenso verhalten sich die entsprechenden Isochinolinium-Salze.

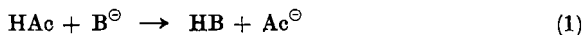
252. Hans Brockmann und Ernst Meyer: Äquivalent- und Molekulargewichts-Bestimmungen durch potentiometrische Mikrotitration in nichtwäßrigen Lösungsmitteln

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 12. Oktober 1953)

Die potentiometrische Titration schwacher Säuren in nichtwäßrigen Lösungsmitteln wurde zu einer Mikromethode entwickelt und als Differentialtitration zur Äquivalent- und Molekulargewichts-Bestimmung neuer Naturstoffe verwendet.

Eine schwache Säure HAc läßt sich mit einer Base B[⊖] nach (1) nur dann maßanalytisch erfassen, wenn die Dissoziationskonstante K_{HB} der korrespondierenden Säure HB erheblich kleiner ist



als die Dissoziationskonstante K_{HAc} der Säure, d.h. wenn der Quotient $Q = \frac{K_{\text{HB}}}{K_{\text{HAc}}}$ eine gewisse Größe nicht überschreitet. Je kleiner K_{HB} ist, desto weiter verschiebt sich die Grenze der Titrierbarkeit nach schwachen Aciditäten hin. Daher können Säuren, die sich infolge Hydrolyse der Alkalimetrie in Wasser entziehen, ohne weiteres mit Basen titriert werden, deren korrespondierende Säuren HB weniger sauer sind als H₂O, die korrespondierende Säure der OH-Ionen. Als solche Basen lassen sich die Anionen von Alkoholaten verwenden. Die für derartige Titrationen verwendbaren Lösungsmittel haben folgende Bedingungen zu erfüllen: Sie müssen 1. die zu titrierende Säure und ihre Salze genügend lösen, 2. ein ausreichendes Ionisationsvermögen besitzen, damit eine echte Ionenreaktion stattfinden kann und eine elektrometrische Messung möglich ist, und sie dürfen 3. nicht durch Abgabe von Protonen die Konzentration von HB erhöhen, d.h. als Säure mit HAc in Konkurrenz um B treten.

Bedingung 3 wird von den zur Titration geeigneten Lösungsmitteln, wie Alkoholen, Gemischen von Alkoholen und neutralen Lösungsmitteln (z.B. Benzol-Methanol), Butylamin, Äthylendiamin und Dimethylformamid, in verschiedenem Maß erfüllt¹⁾. Durch Wechsel des Lösungsmittels läßt sich daher die Grenze zwischen titrierbaren und nicht mehr titrierbaren Säuren verschieben. Dadurch wird es möglich, „Differentialtitrationen“ durchzuführen, d.h. bei Verbindungen mit mehreren sauren Gruppen die schwach sauren nach Belieben mitzubestimmen oder auszulassen.

Die unterste Grenze der mit einer echten Ionenreaktion noch titrierbaren Acidität erreicht man wohl in Äthylendiamin mit Natriumcolaminat²⁾. Darüber hinaus lassen sich auch Krypto-Ionen-Reaktionen zur Titration verwenden. So konnten Higuchi und Mitarbb.³⁾ Alkohole in Tetrahydrofuran mit Lithiumaluminiumamid (Indikator: *N*-Phenyl-*p*-amino-azobenzol) maßanalytisch bestimmen und sogar Amine⁴⁾ sowie bestimmte

1) Zusammenfassende Literatur: J. A. Riddick, *Analytic. Chem.* **24**, 41 [1952].

2) M. L. Moss, J. H. Elliott u. R. T. Hall, *Analytic. Chem.* **20**, 784 [1948].

3) T. Higuchi, J. Concha u. R. Kuramoto, *Analytic. Chem.* **24**, 685 [1952].

4) T. Higuchi, C. J. Lintner u. R. H. Schleif, *Science* **111**, 63 [1950].

Kohlenwasserstoffe mit Lithiumaluminiumhydrid potentiometrisch titrieren. Damit dürfte die äußerste Grenze der Alkalimetrie erreicht sein, da das H^{\ominus} -Ion anscheinend die stärkste zu Titrationsen verwendbare Base ist. „Neutralisationen“ dieser Art sind bereits praktisch irreversibel; ihre gasvolumetrische Auswertung ist die Zerewitinoff-Bestimmung aktiver Wasserstoffatome.

Diese Erweiterung der Alkalimetrie und Acidimetrie hat neue Klassen organischer Verbindungen einer potentiometrischen Titration zugänglich gemacht und damit, wie folgende Überlegung zeigt, neue Möglichkeiten für eine chemische Mol.-Gew.-Bestimmung eröffnet.

Bei Verbindungen mit mehreren sauren Gruppen dissoziiert das Proton in erster Stufe aus einer neutralen Molekel, in zweiter und dritter aus einem einfach bzw. zweifach geladenen Anion ab. Das bedingt zwangsläufig so merkwürdige Unterschiede im pK -Wert, daß jeder Stufe der potentiometrischen Titrationskurve nur eine saure Gruppe zugeordnet werden kann⁵⁾; d.h. aus der Basenmenge, die zwischen zwei Wendepunkten verbraucht wird, läßt sich der Gehalt einer funktionellen Gruppe berechnen, die nur einmal in der Molekel vorhanden ist. Analoges gilt für mehrsaurige Basen⁶⁾. Damit wird die potentiometrische Differentialtitration zur chemischen Mol.-Gew.-Bestimmung, die für solche Naturstoffe von Bedeutung ist, bei denen wegen geringer Löslichkeit oder wegen Assoziationserscheinungen die physikalischen Methoden zur Ermittlung des Mol.-Gew. versagen. Voraussetzung für ihre Anwendung ist ein Gehalt von mindestens zwei sauren bzw. basischen Gruppen und ein Lösungsmittel, in dem sich die pK -Differenzen durch entsprechende Stufen in der Titrationskurve zu erkennen geben.

Naturstoffe, bei denen die physikalischen Methoden zur Bestimmung des Mol.-Gew. versagen, sind uns wiederholt begegnet. In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um Verbindungen, die in nichtwäßrigen Lösungsmitteln als mehrbasige Säuren fungieren und nur in geringer Menge verfügbar waren. Um den obigen Überlegungen entsprechend ihr Mol.-Gew. potentiometrisch zu ermitteln, mußte die bisher nur als Makromethode verwendete Titration schwacher Säuren in nichtwäßrigen Lösungsmitteln zu einer Mikromethode ausgebildet werden. Mit der im Versuchsteil beschriebenen Apparatur gelang das so weit, daß Mol.-Gew.-Bestimmungen mit wenigen Milligrammen Substanz hinreichend genau durchgeführt werden konnten.

Da die Naturstoffe, deren Äquiv.- bzw. Mol.-Gew.-Bestimmung uns interessierte, z.Tl. Oxy-chinone waren, haben wir als Modellsubstanzen zunächst einige Oxy-anthrachinone untersucht. Oxy-anthrachinone sind bisher nur in Alkohol mit Natriumalkoholat titriert worden⁷⁾. Dabei wurde im allgemeinen

⁵⁾ Diese Unterschiede werden bei mehr als vierfach geladenen Anionen naturgemäß nicht mehr so groß, was für die Mol.-Gew.-Bestimmung aber bedeutungslos ist. Sind die funktionellen Gruppen räumlich weit voneinander entfernt, wie z.B. bei den Kettenmolekeln, so werden die pK -Differenzen so klein, daß deutliche Sprünge in der Titrationskurve nicht mehr auftreten.

⁶⁾ Die Titration schwacher Basen in Eisessig mit Perchlorsäure ist zuerst von N. F. Hall, J. B. Conant und T. H. Werner durchgeführt worden, deren Arbeiten für die Titration in nichtwäßrigen Lösungsmitteln grundlegend geworden sind. Zusammenfassung: N. F. Hall, Chem. Rev. 8, 191 [1931].

⁷⁾ W. D. Treadwell u. G. Schwarzenbach, Helv. chim. Acta 11, 386 [1928].

nur eine Oxygruppe erfaßt⁸⁾. Um weitere Oxygruppen zu titrieren, muß man auf Grund der obigen Überlegungen ein Lösungsmittel verwenden, das noch weniger sauer ist als Alkohol und andererseits ein ausreichendes Lösungs- und Ionisationsvermögen besitzt. Wir haben unsere Modellsubstanzen daher in Äthylendiamin mit Natriumcolaminat⁹⁾ titriert.

Die Basizität des Äthylendiamins ist günstig für Löslichkeit und Ionisation der Oxy-anthrachinone und günstig vor allem auch, weil sie sehr schwach saure Gruppen zu erfassen erlaubt; ein Vorteil, der wie bei allen basischen Lösungsmitteln zwangsläufig mit dem Nachteil der CO₂-Empfindlichkeit verknüpft ist. In einer Blindprobe muß daher der CO₂-Gehalt des Lösungsmittels und die während der Titration ohne einigen Aufwand nicht ganz zu vermeidende CO₂-Aufnahme potentiometrisch oder mit Indikator ermittelt und vom Titrationswert der Substanz abgezogen werden. Trotzdem läßt sich auch im Mikromaßstab der Meßfehler auf 1–2% herunterdrücken, was für Äquiv.- und Mol.-Gew.-Bestimmungen völlig ausreichend ist.

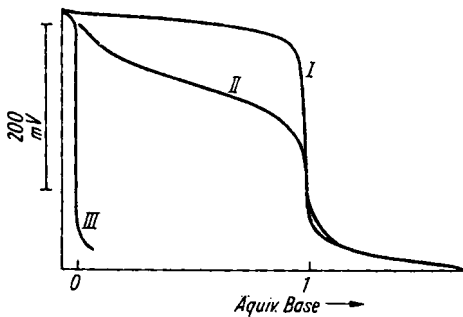


Abb. 1. Titration von Benzoesäure (I) und Phenol (II) in Äthylendiamin mit Natriumcolaminat; III: Blindwert

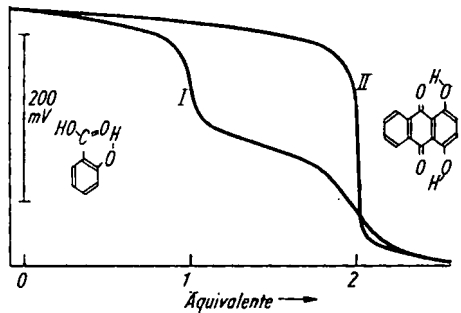


Abb. 2. Titration von Salicylsäure (I) und Chinizarin (II) in Äthylendiamin

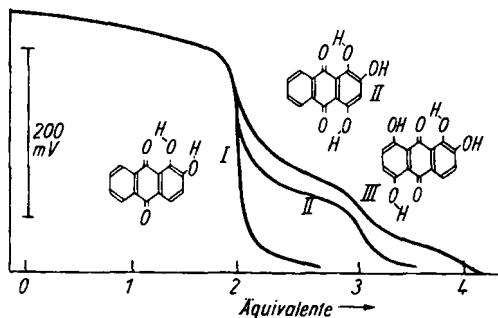
Abb. 1 zeigt die zur Titerstellung der Natriumcolaminat-Lösung durchgeführte Titration von Benzoesäure und die Titrationskurve des Phenols, Abb. 2 die Titration von Salicylsäure und Chinizarin. Salicylsäure, bei der in Benzol-Methanol nur die Carboxygruppe erfaßt wird, hat in Äthylendiamin einen zweiten Wendepunkt für die phenolische Oxygruppe. Sie wird in diesem Lösungsmittel also einer Differentialtitration zugänglich. Wie aus den Kurven (Abb. 2 u. 3) hervorgeht, sind in Äthylendiamin die beiden Oxygruppen des Chinizarins und Alizarins stark sauer. Der sicherlich erhebliche Unterschied im pK -Wert der beiden Gruppen kommt hier in der Titrationskurve nicht zum Ausdruck, wohl dagegen, wie schon erwähnt, bei der Titration in Alkohol, in dem nur eine Oxygruppe erfaßt wird⁷⁾. Die Kurve des zwei α - und eine β -Oxygruppe enthaltenden Purpurins (Abb. 3) weist zwei Wendepunkte auf, den ersten nach Verbrauch von zwei, den zweiten

⁸⁾ Nur beim 2.6- und 2.7-Dioxy-anthrachinon und den sich von ihnen ableitenden Trioxy-anthrachinonen hatte die Titrationskurve zwei Wendepunkte.

⁹⁾ Bei unserer Elektrodenanordnung und den von uns verwendeten Lösungsmitteln zeigt die Höhe des Titrationssprunges und der Halbstufenpotentiale zu große Schwankungen, um für exakte pK -Messungen brauchbar zu sein.

nach drei Äquivv. Base. Zum Unterschied vom Chinizarin ist hier die eine der beiden α -Oxygruppen deutlich schwächer sauer. Das ist nicht überraschend, da die Dissoziation der dritten Oxygruppe aus einem zweifach negativ geladenen Anion erfolgen muß.

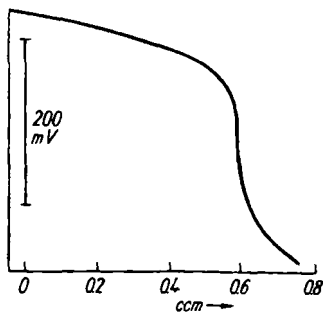
Die Kurve des Chinalizarins (Abbild. 3), das vier Oxygruppen enthält, zeigt einen Wendepunkt nach Aufnahme von zwei und einen zweiten nach drei Äquivv. Base. Der dritte Wendepunkt nach Verbrauch von vier Äquivv. Colaminat ist nur noch schwach angedeutet. Die vierte Oxygruppe, deren Dissoziation aus einem dreifach negativ geladenen Anion erfolgen muß, ist demnach so schwach sauer, daß sie sich auch in dem stark basischen Äthylendiamin kaum noch bemerkbar macht. Danach ist zu erwarten, daß in Oxy-anthrachinonen mit mehr als vier Oxygruppen die letzten sich auch in Äthylendiamin der Titration entziehen.



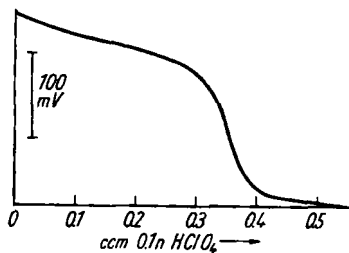
Abbild. 3. Titration von Polyoxy-anthrachinonen in Äthylendiamin.

I: Alizarin, II: Purpurin, III: Chinalizarin

Die Titration in Äthylendiamin ist in unserer Apparatur nur möglich, wenn die Analysesubstanz in Alkali gegen Luftsauerstoff hinreichend beständig ist. Die einwandfreie Titration einiger Oxy-chinone (Naphthazarin, Actinorhodin¹⁰), Carminsäure, Rubromycin¹¹) gelang offenbar deshalb nicht, weil die Substanzen durch den an der Platinelektrode adsorbierten Sauerstoff oxidiert werden und dadurch die Elektrode depolarisieren. Voraussichtlich lassen sich solche Verbindungen mit einer Wasserstoff-Elektrode titrieren, was aber einen größeren experimentellen Aufwand und größere Substanzmengen erfordert.



Abbild. 4. Titration von Limocrocin in Äthylendiamin



Abbild. 5. Titration des Actinomycins C in Eisessig mit Perchlorsäure

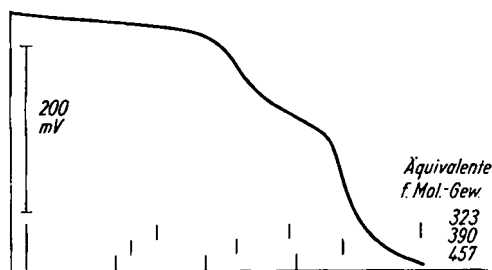
Abbild. 4 zeigt die zur Mikro-Äquiv.-Gew.-Bestimmung benutzte Kurve des gelben Actinomyceten-Farbstoffes Limocrocin¹²), der so schwer löslich ist, daß eine Mikro-Mol.-Gew.-Bestimmung in den hierfür gebräuchlichen Lö-

¹⁰) H. Brockmann, H. Pini u. O. v. Plotho, Chem. Ber. 83, 161 [1950].

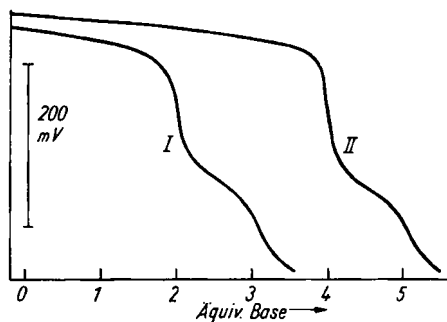
¹¹) H. Brockmann u. K. H. Renneberg, Naturwiss. 40, 59 [1953].

¹²) H. Brockmann u. G. Grothe, Chem. Ber. 86, 1110 [1953].

sungsmitteln nicht möglich war. Aus dem gleichen Grunde verbot sich auch eine Titration in Benzol-Methanol. In Äthylendiamin löste sich die zur Titration erforderliche Menge nur bei 80°, fiel beim Erkalten als feiner Niederschlag aus, ging aber bei der Titration vor Erreichen des Äquivalenzpunktes wieder in Lösung. Aus der Lage des Wendepunktes ergibt sich das Äquiv.-Gew. 232 ± 3 . Den Analysenzahlen nach ist $C_{13}H_{13}O_3N$ die kleinste Summenformel für Limocrocin. Ihr Mol.-Gew. 231 stimmt gut mit dem gefundenen Äquiv.-Gew. überein. Da die C_{13} -Formel in keiner Weise mit den Eigenschaften des Limocrocins zu vereinbaren ist, kamen als nächstgrößere die Formeln $C_{26}H_{26}O_6N_2$ bzw. $C_{39}H_{39}O_9N_3$ in Frage. Nachdem ausreichende Mengen Limocrocin zur Verfügung standen, ließ sich durch eine kryoskopische Mol.-Gew.-Bestimmung in Phenol die C_{26} -Formel sicherstellen. Limocrocin ist demnach eine zweibasige Säure.



Abbild. 6. Titration des Resistomycins in Äthylendiamin



Abbild. 7. Titration des Rhodomycins(I) und seines Hydrochlorids(II) in Äthylendiamin

Als erstes Beispiel einer potentiometrischen Mikro-Mol.-Gew.-Bestimmung zeigt Abbild. 6 die des schwerlöslichen Antibioticums Resistomycin¹³, für das den Analysen nach die Summenformeln $C_{19}H_{14}O_5$ (322.3), $C_{23}H_{18}O_6$ (390.4) und $C_{27}H_{22}O_7$ (458.5) in Betracht kamen. Die Titrationskurve des Antibioticums hat zwei Wendepunkte. Nach den obigen Überlegungen erfaßt man durch die zwischen den beiden Wendepunkten verbrauchte Menge Colaminat nur eine saure Gruppe des Resistomycins. Demnach entspricht die bis zum ersten Wendepunkt verbrauchte Menge Colaminat (die doppelt so groß ist wie die zwischen erstem und zweitem Wendepunkt benötigte) zwei sauren Gruppen. Im ganzen enthält Resistomycin also drei titrierbare saure Gruppen. Die Kenntnis dieser Zahlen ermöglicht die Berechnung des Mol.-Gew. auf drei verschiedenen Wegen: 1. Aus der bis zum ersten Wendepunkt verbrauchten Basenmenge, 2. aus der zwischen erstem und zweitem Wendepunkt verbrauchten und 3. aus der bis zum zweiten Wendepunkt verbrauchten. Man benötigt zur Berechnung des Mol.-Gew. also nur einen Wendepunkt und kann den wählen, der am besten definiert ist. Auf diese Weise ergibt sich aus der Titrationskurve des Resistomycins das Mol.-Gew. 386 ± 5 , das gut mit dem für $C_{23}H_{18}O_6$ berechneten Wert 390.4 übereinstimmt. Die C_{19} - und die C_{27} -Formel werden dadurch mit Sicherheit ausgeschlossen.

¹³) H. Brockmann u. G. Schmidt-Kastner, Naturwiss. 38, 479 [1951].

Abbild. 7 zeigt die Titrationskurven des roten, amphoteren Antibioticums Rhodomycin¹⁴⁾ und seines kristallisierten Hydrochlorids¹⁵⁾. Die kleinsten mit den Analysenzahlen in Einklang zu bringenden Formeln für Rhodomycin-Hydrochlorid sind $C_{18}H_{26}O_6NCl$ (387.9) und besser passend als diese $C_{20}H_{30}O_7NCl$ (431.9). Zwischen ihnen läßt sich durch eine Mol.-Gew.-Bestimmung nicht sicher entscheiden, wohl aber kann dadurch geklärt werden, ob diese Formel zu vervielfachen ist oder nicht. Die Titrationskurve des Rhodomycin-Hydrochlorids zeigt zwei Wendepunkte. Die bis zum ersten Wendepunkt verbrauchte Menge Colaminat ist etwa viermal größer als die zwischen erstem und zweitem Wendepunkt benötigte. Danach enthält Rhodomycin-Hydrochlorid vier saure und eine schwach saure Gruppe. Unter Zugrundelegung des ersten Wendepunktes berechnet sich als Mol.-Gew. 880 ± 20 .

Die Kurve des bisher nur amorph erhaltenen Rhodomycins selber hat ebenfalls zwei Wendepunkte, aus deren Lage sich ein Mol.-Gew. von etwa 920 ergibt. Da bis zum ersten Wendepunkt doppelt soviel Base verbraucht wird wie zwischen erstem und zweitem, müssen im Rhodomycin zwei saure und eine schwach saure Gruppe vorhanden sein.

Rhodomycin-Hydrochlorid benötigt zwei Äquivv. Colaminat mehr als Rhodomycin. Dieser Mehrverbrauch kann nur durch die Salzsäure des Hydrochlorides bedingt sein und zeigt, daß dieses zwei Moll. HCl enthält. Aus den Titrationskurven folgt also, daß die Bruttoformel des Rhodomycin-Hydrochlorids doppelt so groß ist wie die aus den Analysenzahlen sich ergebenden kleinsten Formeln. Rhodomycin ist demnach eine zweisäurige Base.

Zu den Verbindungen, bei denen die physikalischen Mol.-Gew.-Bestimmungen infolge Assoziation versagen, gehören die Actinomycine. Ihr Mol.-Gew. läßt sich daher nur auf chemischem Wege ermitteln. Dazu eignet sich, wie zuerst am Actinomycin C gezeigt¹⁶⁾, die katalytische Hydrierung, bei der die Wasserstoffaufnahme nach kurzer Zeit völlig zum Stillstand kommt. Aus dem Wasserstoffverbrauch errechnet sich unter der Annahme, daß nur eine chinoide Gruppe im Molekül vorhanden ist, ein Mol.-Gew. von etwa 1200. Um diesen Wert noch auf einem anderen Wege sicherzustellen, haben wir das schwach basische Actinomycin C in unserer Apparatur in Eisessig unter Verwendung von Antimonelektroden mit Perchlorsäure potentiometrisch titriert (Abbild. 5). Aus der bis zum Wendepunkt der Kurve verbrauchten Säuremenge ergibt sich unter der Annahme, daß nur eine basische Gruppe vorhanden ist, das Mol.-Gew. 1335.

Beschreibung der Versuche

Apparatur: Potentiometrische Mikrotitrationen in nichtwäßrigen Lösungsmitteln sind bisher nur in Eisessig durchgeführt worden¹⁷⁾. Dabei hat man in den zur Makrotitration gebräuchlichen Gefäßen in großer Verdünnung, also mit einem großen Titrationsvolumen gearbeitet und die dadurch bedingte größere Unschärfe des Umschlag-

¹⁴⁾ H. Brockmann, K. Bauer u. I. Borchers, Chem. Ber. 84, 700 [1951].

¹⁵⁾ H. Brockmann u. I. Borchers, Chem. Ber. 86, 261 [1953].

¹⁶⁾ H. Brockmann, N. Grubhofer, W. Kass u. H. Kalbe, Chem. Ber. 84, 260 [1951]. ¹⁷⁾ R. T. Keen u. J. S. Fritz, Analytic. Chem. 24, 564 [1952].

punktes in Kauf genommen. Bei der Titration in basischen Lösungsmitteln kann man so nicht vorgehen, weil sich hier der Blindwert des Lösungsmittels und der CO_2 -Gehalt der Luft allzu störend auswirken. Dieser Störung ist nur dadurch zu begegnen, daß das Titrationsvolumen möglichst klein gemacht, d. h. bei Einwaagen von 2–10 mg auf etwa 3 ccm verringert wird.

Um bei diesem geringen Volumen ein erträgliches Verhältnis zwischen Flüssigkeitsoberfläche und Flüssigkeitsvolumen und auch zwischen Gefäßwandfläche und Flüssigkeitsvolumen zu erreichen, haben wir das Titrationsgefäß möglichst klein gehalten und alles beiseite gelassen, was seinen Bau kompliziert. Aus diesem Grunde wurde auch auf die Verwendung von Wasserstoff-Elektroden verzichtet.

Abbild. 8 zeigt unsere Apparatur. Ihre Elektrodenanordnung ist die gleiche wie die von M. L. Moss, J. H. Elliott und N. F. Hall²⁾ benutzte. Als Bezugs- und Indikatorelektrode dient eine in der Bürette unterhalb des Hahnes angebrachte und dadurch in einer Flüssigkeit von konstantem p_{H} ruhende Indikatorelektrode. Als Salzbrücke fungiert die eintauchende Bürettenspitze, deren hakenförmig nach oben gebogenes Ende Störungen durch Konvektionen verhindert. Da die Titrierlösung bei jeder Zugabe die Capillare ausspült, werden Diffusions-effekte beseitigt.

Durch die Füllvorrichtung (Abbild. 8) wird bei hahnfettlösenden Lösungsmitteln ein unkontrollierbares Nachlaufen aus dem Vorratsgefäß verhindert. Beim Heben der um den Schliff (A) drehbaren Birne tritt Flüssigkeit in die Bürette und läuft bei richtiger Krümmung des Auslaufrohres blasenfrei auch in 2-ccm-Büretten ein.

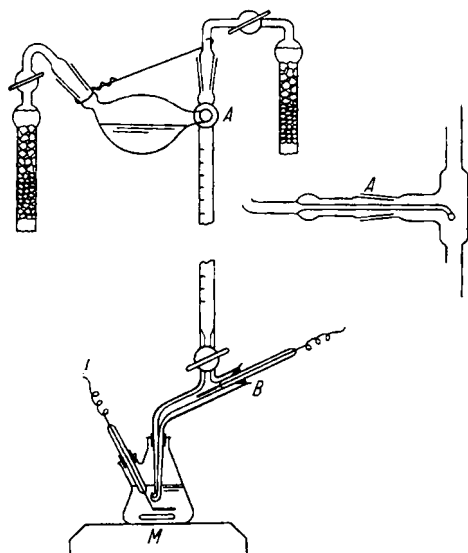
Einige Mühe hat die Auswahl geeigneter Elektroden gemacht. Da Wasserstoff-Elektroden nicht in Betracht kamen und Moss, Elliott und Hall²⁾, mit Antimonelektroden gearbeitet hatten, verwendeten auch wir zunächst dieses Material in Form von dünnen Antimonstäben, deren Guß im folgenden Abschnitt beschrieben ist. Während sie sich bei Titrationen in Eisessig gut bewährten, versagten sie in Benzol-Methanol und basischen Lösungsmitteln wie Äthylendiamin auch bei verschiedener Art der Vorbehandlung.

Während unserer Arbeit erschien eine Mitteilung von G. Gran und B. Althin¹⁸⁾, die als Elektroden blankes Platin verwendeten, ohne dessen Wirkungsmechanismus näher zu diskutieren. Eine Nachprüfung ergab, daß dieses Material tatsächlich gut brauchbar ist; für unsere Zwecke auch deswegen, weil sich Platinelektroden gut in kleinen Dimensionen verwenden lassen. Auf die von Gran und Althin benutzte Kalomelektrode konnten wir verzichten, weil bei unserer Anordnung, auch wenn Indikator- und Bezugs- und Indikatorelektrode aus Platin waren, gute Ergebnisse erzielt wurden. Platinierung der Elektroden brachte keinen Vorteil. Die Durchmischung der Titrationsflüssigkeit besorgte ein magnetischer Rührer.

Über den Wirkungsmechanismus der blanken Platinelektroden bei dieser Anordnung ist nichts Sicheres bekannt. Für die Funktion als Sauerstoffelektrode spricht die Beobachtung, daß Stoffe, die in alkalischer Lösung durch Luft leicht oxydiert werden, depolarisierend wirken und daher die potentiometrische Messung unmöglich machen.

Über den Wirkungsmechanismus der blanken Platinelektroden bei dieser Anordnung ist nichts Sicheres bekannt. Für die Funktion als Sauerstoffelektrode spricht die Beobachtung, daß Stoffe, die in alkalischer Lösung durch Luft leicht oxydiert werden, depolarisierend wirken und daher die potentiometrische Messung unmöglich machen.

¹⁸⁾ G. Gran u. B. Althin, Acta chem. scand. 4, 967 [1950].



Abbild. 8. Titrationsapparatur. A: Ansatzschliff des Vorratsgefäßes, B: Bezugs- und Indikatorelektrode, I: Indikatorelektrode, M: Magnetrührer

Wegen der Polarisierbarkeit unserer Elektroden mußten die potentiometrischen Titrations weitgehend stromlos durchgeführt werden, d. h. der durch das Elektrodenystem gehende Strom durfte auch zwischen den Ablesungen 10^{-10} Ampère nicht überschreiten. Eine Kompensationsmethode kommt daher nicht in Frage, auch nicht, wenn dabei ein Röhrengalvanometer verwendet wird. Wir arbeiteten zunächst mit einem selbstgebauten Röhrenpotentiometer, später mit einem p_H -Meter 22 (Fa. Radiometer, Kopenhagen).

Bei dieser Anordnung der Apparatur können wegen des hohen elektrischen Widerstandes im Leitungssystem beim Eintauchen der Bürettenspitze, besonders in Benzol-Methanol, kapazitive Störungen auftreten, z. B. beim Annähern der Hand an das obere Büretteneende („Handkapazität“). Sie werden ausgeschaltet, wenn man die Titrationsapparatur unter einen Faraday-Käfig setzt. Störungen können auch dadurch auftreten, daß die basischen Lösungsmittel, wie Äthylendiamin, leicht auf dem Gerät und der Bürette leitende Beschläge bilden, die zum Auftreten von Kriechströmen führen. Sie lassen sich durch sorgfältiges Sauberhalten der Apparatur vermeiden.

Für alle Titrations im Mikromaßstab diente eine 2-ccm-Bürette mit Schliffhahn (Abbild. 8). Vorratsbirne und Bürette waren durch eingeschlifene Trockenröhrchen geschützt, die zur einen Hälfte mit Natronkalk, zur anderen mit körnigem Silikagel gefüllt waren, das mit der Titrierflüssigkeit getränkt war; bei Titrations mit Eisessig/Perchlorsäure wurde Blaugel als Füllung verwendet. Über die Bürettenspitze aus konisch ausgezogenem Capillarrohr wurde ein 4 mm langes Schlauchstückchen geschoben, auf welches man das Titrationsgefäß aufsteckte. Um eine kleine Undichtigkeit zu erzeugen, welche die bei der Zugabe verdrängte Luft entweichen läßt, schob man unter diese Gummimanschette ein Stückchen dünnen Draht. Die Titrationsgefäße, in der Regel Erlenmeyer-Kölbchen von 5 ccm Inhalt, waren für potentiometrische Titrations mit einem seitlichen Tubus zum Einkitten der Indikator-Elektrode versehen. Als Magnetrührkerne dienten 10 mm lange, in Glascapillaren eingeschmolzene Drahtstückchen.

Elektroden: Für den Guß der Antimon-Elektroden wurde in Supremax-Glasröhren von 2.5–3 mm lichter Weite mit einem Gummiball geschmolzenes Antimon p. a. eingesaugt. Nach Abschrecken ließ sich das Glas von dem ziemlich spröden Metall leicht abschälen. Die so hergestellten Elektroden waren ebenso brauchbar wie i. Vak. gegossene. Die 4–5 cm langen Stäbe wurden nach Anlöten eines Zuleitungsdrahts in genau passende, 7 cm lange Glasröhrchen eingeschoben und mit Polyäthylen darin so eingekittet, daß das freie Ende etwa 3 mm herausragte. Die Bezugs-elektrode für die Bürette wurde ebenso hergestellt, nur blieb hier der Antimonstab etwa 10 mm weit frei. Vor Gebrauch wurden die Elektroden mit feinem Sandpapier abgeschmirgelt, 15 Sek. in konz. Salpetersäure angeätzt, abgespült, mit Filtrierpapier getrocknet und in die Kölbchen eingekittet¹⁹⁾.

Als Platinelektroden dienten 3 mm breite, 6 mm lange Blechstreifen, deren Platin-Zuleitungsdrähte in 7 cm lange Glasröhren eingeschmolzen waren, mit denen sie in die Bürette bzw. Kölbchen eingekittet wurden. Vor Gebrauch wurden die Elektroden in der entleuchteten Flamme ausgeglüht. Die Zuleitungskabel waren abgeschirmt und 60 cm lang, um induktive Wirkungen des Magnetrührers auf das Röhrenpotentiometer zu vermeiden.

Beispiel einer Titration (in Äthylendiamin): Nach Einwägen von 2–10 mg Substanz in das trockene Kölbchen und Einbringen des Rührkerns wird der Meniskus der Bürette auf Null gestellt und die Bürettenspitze mit einem alkoholfuchten Wattebausch gereinigt. Dann gibt man aus einer mittels Natronkalkrohr geschützten 50-ccm-Bürette

¹⁹⁾ Als einzig brauchbare Kittsubstanz für die Elektroden bewährte sich Polyäthylen. Beim Kitten ist darauf zu achten, daß die Glasteile ebenfalls erwärmt werden, damit der Kitt fest darauf haftet.

3 ccm Äthylendiamin in das Kölbchen und steckt dieses sofort auf die Titrationsbürette auf. Zur Vermeidung von Kriechströmen müssen sodann die Glasteile in der Nähe der Elektrodenzuleitungen sorgfältig mit einem alkoholgetränkten Wattebausch gereinigt und abgetrocknet werden. Nach Erreichen einer konstanten Potentialeinstellung (1–5 Min.) beginnt die Titration. Nach jeder Reagenszugabe wird durchgerührt und nach Abschalten des Rührers konstante Potentialeinstellung abgewartet. Dauer einer potentiometrischen Titration etwa 20–40 Min. Die Ermittlung des Blindwertes und die Titerstellung mit Benzoesäure können wesentlich rascher mit Pikrinsäure als Indikator²⁰⁾ vorgenommen werden. Wird höchste Genauigkeit gewünscht, so empfiehlt sich die Reihenfolge: Blindwert — Titerstellung — Titration — Titerstellung — Blindwert.

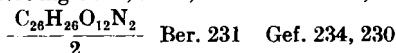
Andere Lösungsmittel: Titrationsen in Benzol-Methanol²¹⁾ konnten ebenfalls mit Platinelektroden durchgeführt werden; wegen der geringen spezifischen Leitfähigkeit der Lösung war hier jedoch, ähnlich wie bei Titrationsen in Butylamin, ein Faraday-Käfig aus Maschendraht unentbehrlich, der über die Bürette gesetzt wurde. Der Bürettenhahn wurde dabei von außen mit einem am Küken befestigten Cellonrohr und der Magnetrührer mit einem Schmerschalter bedient.

Platinelektroden bewährten sich ferner auch in Dimethylformamid, einem Lösungsmittel, das nicht so basisch ist wie Äthylendiamin und Butylamin, und das daher die Säurestärke (z. B. von Phenol) nicht so stark hervortreten läßt. Es dürfte deshalb, abgesehen von seinem guten Lösungsvermögen, für gewisse Differentialtitrationen besonders geeignet sein.

Für Eisessig-Perchlorsäure-Titrationsen waren die Platinelektroden nicht geeignet; hier leisteten Antimonelektroden gute Dienste. Ein Faraday-Käfig war nicht notwendig. Die Titerstellung erfolgte gegen Glycin oder Kaliumhydrogenphthalat mit Kristallviolett-Indikator; dabei empfiehlt sich eine potentiometrische Feststellung der Umschlagsfarbe, da diese stark vom Wassergehalt des Eisessigs abhängt.

Äquivalentgewichts-Bestimmungen

Limocrocine: 5.61, 5.70 mg Sbst., 0.609, 0.630 ccm 0.0392, 0.0394 *n* Natriumcolaminat.



Actinomycin: 35–45 mg Actinomycin C wurden in 3 ccm Eisessig gelöst und mit 0.1 *n* HClO₄ titriert. Die für die relativ starke Basizität überraschend große Breite des Umschlagsbereichs ist offenbar auf eine puffernde Wirkung des Peptidstickstoffs zurückzuführen.

42.7, 33.6 mg Sbst. 0.340, 0.271 ccm 0.0935, 0.0935 *n* HClO₄.

Mol.-Gew. aus Titration gef. 1342, 1325, aus Hydrierung gef. 1200.

Molekulargewichts-Bestimmungen

Resistomycin: Um die Bildung eines Niederschlages während der Titration zu vermeiden, wurden nur 2–3 mg Substanz eingewogen.

Einwaage	Nettoverbrauch		Na-Colaminat Titer	Mol.-Gew. *)
	I	II		
2.831 mg	0.38 ccm	0.560 ccm	0.0390 <i>n</i>	387
2.801 mg	0.41 ccm	0.610 ccm	0.0355 <i>n</i>	388
2.64 mg	0.39 ccm	0.595 ccm	0.0350 <i>n</i>	381

*) Berechnet aus dem zweiten Wendepunkt

Ber. für C₂₃H₁₈O₆: 390.4.

²⁰⁾ H. Brockmann u. E. Meyer, Naturwiss. 40, 242 [1953]; Chem. Ber., im Druck.

²¹⁾ J. S. Fritz u. N. M. Lisicki, Analytic. Chem. 23, 589 [1951].

Rhodomycin: Zur Verfügung standen ein reines, kristallines Präparat des Hydrochlorids und ein amorphes des freien, amphoteren Antibioticums.

Einwaage	Nettoverbrauch		Titer	Mol.-Gew.*)
	I	II		
Rhodomycin				
4.413 mg	0.25 ccm	0.39 ccm	0.0384 n	920
10.132 mg	0.58 ccm	0.90 ccm	0.0372 n	940
Rhodomycin-Hydrochlorid				
7.482 mg	0.89 ccm	1.13 ccm	0.0384 n	877
6.36 mg	0.73 ccm	0.95 ccm	0.0384 n	907

Ber. $C_{40}H_{58}O_{14}N_2$: 795; $C_{40}H_{58}O_{14}N_2 \cdot 2 HCl$: 864.

*) Berechnet aus der Lage des ersten Wendepunktes

Chemikalien

Äthylendiamin wurde aus handelsüblichem Monohydrat durch Entwässern mit Natriumhydroxyd und Natrium gewonnen²⁾. Aus einer Vorratsflasche mit gefettetem Schliffstopfen wurde die benötigte Menge mit einer Pipette entnommen.

n-Butylamin war über Natrium destilliert.

Eisessig wurde durch Destillation über eine Kolonne und durch Ausfrieren gereinigt. Der Wassergehalt lag unter 0.2%.

Benzol-Methanol und die Natriummethylat-Lösung wurden nach Fritz und Lisicki²¹⁾ bereitet.

Natriumcolaminat in Äthylendiamin: Etwa 120 mg Natrium wurden mit Alkohol und Colamin gewaschen, in einem mit Stickstoff gespülten 100-ccm-Kolben bei 35° in 2 ccm Aminoäthanol aufgelöst und mit Äthylendiamin aufgefüllt. Der Colaminüberschuß war notwendig, um die Lösung längere Zeit klar zu halten; ein höherer Überschuß begünstigte die Haltbarkeit, beeinträchtigte jedoch bereits die Titration extrem schwacher Säuren.

Der Titer mußte täglich mit Benzoesäure gestellt werden. Die am Licht leicht gelb werdende Lösung wurde im Dunkeln aufbewahrt. Bürette und Vorratsbirne wurden vor dem Füllen mit Stickstoff gespült.

0.1 n Eisessig-Perchlorsäure wurde wie üblich durch Versetzen der mit etwas Eisessig verdünnten Perchlorsäure mit der ber. Menge Acetanhydrid unter Kühlung und Auffüllen mit Eisessig hergestellt. Längeres Erwärmen dieser Lösung auf 70° kann zur Explosion führen! Die Titerkonstanz war sehr gut.

Benzoesäure, Salicylsäure und Kaliumhydrogenphthalat waren handelsübliche p.a. Präparate.