

bei Zimmertemperatur hydriert, wobei 2 Mol Wasserstoff aufgenommen wurden. Man filtrierte hierauf vom Katalysator ab und arbeitete, wie beim 17-Vinyl-3-trans,17-dioxy-androsten beschrieben wurde, auf. Das Diol krystallisiert aus Methanol in prismatischen Nadeln, die nach dem Trocknen bei 200—202° schmolzen. Die Substanz gibt mit Tetranitromethan deutliche Gelbfärbung.

3,715 mg Subst. gaben 10,77 mg CO₂ und 3,56 mg H₂O
 $C_{21}H_{34}O_2$ Ber. C 79,19 H 10,76%
 Gef. „ 79,06 „ 10,72%

Lösungsmittel absoluter Alkohol; $l = 1$ dm, $c = 1,162$, $\alpha_D = -0,79^\circ$, $[\alpha]_D = -68,4^\circ$

Bereitung des 17-Äthyl-testosterons (IV)¹⁾.

200 mg obigen Diols vom Smp. 200—202° wurden mit tertiärem Aluminium-butylat, wie beim Vinyl-testosteron angegeben wurde, oxydiert. Man gewann nach der chromatographischen Trennung 140 mg reines Äthyl-testosteron, das zur Analyse mehrmals aus Äther-Pentan umkrystallisiert wurde. Der Schmelzpunkt des reinen Präparates lag bei 143—144°. Gemischt mit Vinyl-testosteron trat eine deutliche Depression des Schmelzpunktes auf.

3,803 mg Subst. gaben 11,14 mg CO₂ und 3,50 mg H₂O
 $C_{21}H_{32}O_2$ Ber. C 79,70 H 10,19%
 Gef. „ 79,88 „ 10,30%

Lösungsmittel absoluter Alkohol, $l = 1$ dm, $c = 0,955$, $\alpha_D = +0,68^\circ$, $[\alpha]_D = +71,2^\circ$

Die Analysen wurden in unserer mikrochemischen Abteilung (Leitung Privatdoz. Dr. M. Furter) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
 Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

76. Die Mikrobestimmung der Verseifungszahl

von M. Furter.

(2. IV. 38.)

Die massanalytische Verfolgung der Verseifungsreaktion hat für die wissenschaftliche Analyse insofern Wert, als sie zur Erkennung der Molekelgrösse, zur Bestimmung des Esteranteils in einem Gemisch oder zur Feststellung der Bindungsfestigkeit der Estergruppe durch Beobachtung der Verseifungsgeschwindigkeit herangezogen werden kann. Methoden zur Bestimmung der Verseifungszahl mit kleinen Substanzmengen, z. B. weniger als 30 mg Einwaage sind bis-

¹⁾ Helv. 19, 357 (1936), B. 69, 449 (1936).

her, wenigstens für allgemeine Anwendung nicht bekannt geworden¹⁾. Ein diesbezügliches Bedürfnis ist aber sicher vorhanden.

Die bekannten und zu diesem Zwecke benützten Makroverfahren beruhen z. B. darauf, dass eine eingewogene Menge Ester mit einer gemessenen Menge wässeriger oder alkoholischer Lauge zusammen erhitzt und die unverbrauchte Lauge durch Titration mit Säure festgestellt wird. Die Differenz zwischen eingemessener und zurücktitrierter Alkalimenge steht in direkter Beziehung zur Einwaage und zum Äquivalentgewicht des verseiften Esters.

Wir unternahmen es schon vor mehreren Jahren, eine entsprechende Mikromethode nach dem erwähnten Reaktionsprinzip auszuarbeiten. Die im folgenden beschriebene Methodik hat sich in allen Teilen, auch in den Händen von weniger geübtem Laboratoriumspersonal bewährt.

Theoretische Überlegungen zeigen, welche Forderungen an die Methode, besonders in apparativer Beziehung, zu stellen sind, um eine Bestimmungsgenauigkeit zu erreichen, wie sie etwa bei der allgemein üblichen Mikrotitration gegeben ist. Es sei allerdings hier beigefügt, dass unter besondern Vorsichtsmassregeln Mikrotitrationen mit Sicherheit auf weniger als $\pm 1\%$ genau (bezogen auf das Äquivalentgewicht) ausgeführt werden können²⁾. Im allgemeinen wird man aber mit einer Fehlergrenze von $\pm 5\%$ zu rechnen haben. Diese Fehlerbreite kann bei der weitaus schwieriger auszuführenden und heikleren Verseifungszahlbestimmung als günstig angenommen werden. Sie wird auch selten überschritten und dürfte den Ansprüchen vollauf genügen.

Die Fehlermöglichkeiten der einzelnen Operationen seien systematisch erörtert und in Prozenten, bezogen auf das Äquivalentgewicht, angegeben.

Die Einwaage der Substanz wird auf der Mikrowaage vorgenommen und kann mit einer Genauigkeit von $\pm 0,002$ mg erfolgen. Bei 10 mg mittlerer Einwaage bedingt ein Wägefehler von $\pm 0,01$ mg einen Resultatfehler von $\pm 0,1\%$. Fehler durch die Einwaage fallen demnach ausser Betracht. Weiter ergibt diese Überlegung, dass es keinen Sinn hat, die Einwaage genauer als auf $\pm 0,01$ mg auszuführen.

Volumina-Fehler der durch Büretten eingemessenen Lauge, oder der zur Rücktitration notwendigen Säure, bewirken theoretisch folgende Resultatabweichungen (Tabelle 1).

¹⁾ *A. J. Bailey* und *R. J. Robinson*, *Mikrochem.* **15**, 233 (1934), haben eine Methode zur Bestimmung von Acetylgruppen angegeben, der das Prinzip der titrimetrischen Verfolgung der alkalischen Verseifung zu Grunde liegt. Abgesehen vom einseitigen Verwendungszweck, dürften dem Verfahren verschiedene Mängel nachzuweisen sein. Jedenfalls hat es die bewährten Methoden für die Acetylbestimmung nicht verdrängen können.

²⁾ *L. Ruzicka* und *M. Furter*, *Helv.* **15**, 472 (1932).

Tabelle 1.

Konzentration d. Säure oder Lauge	Einwaage	Vol.-Fehler ca. $\frac{1}{2}$ Tropfen	Prozent-Fehler des Äquivalentgewichtes bei		
			100	250	400
0,1-n.	10 mg	0,01 cm ³	1%	2,5%	4%
0,5-n.	10 mg	0,01 cm ³	5%	11,0%	17%
1,0-n.	10 mg	0,01 cm ³	9%	20,0%	29%

Es geht aus der Tabelle hervor, dass auf jeden Fall nur Mikrobüretten zur Bestimmung verwendet werden können, die eine Ablesegenauigkeit von 0,01 cm³ gestatten. Andererseits darf diese Teilungsgenauigkeit nicht in einem Missverhältnis stehen zur Tropfen-grösse, bedingt durch die Dimensionen der Auslaufspitze. Dies gilt sowohl für das Einmessen der Lauge als für die Rücktitration mit Säure.

Weiter vermittelt uns die Tabelle ein Bild über die Anwendungsmöglichkeit von verschiedenen Laugekonzentrationen. Um die oben gestellte Forderung, die Fehlergrenze von $\pm 5\%$ nicht zu überschreiten, zu erfüllen, und unter Voraussetzung der durch die Büretten bedingten praktischen Verhältnisse, könnten Laugekonzentrationen von über 0,1-n. zur Verseifung nicht herangezogen werden, soll wenigstens die Methode über einen allgemein in Betracht kommenden Molekelgrösse-Bereich anwendbar sein.

In diesen Bedingungen sind zur Hauptsache zwei den praktischen Wünschen entgegenstehende Tatsachen festzustellen. Einerseits sollte, um der Methode allgemeine Anwendbarkeit zu sichern, stärkere Lauge, bis mindestens 1,0-n., verwendet werden können, da nur dadurch die glatte und rasche Verseifung einer Grosszahl von Estern gewährleistet wird. Andererseits wäre zu verlangen, dass alkoholische Alkalilösungen verwendet werden können, um die meist in Wasser unlöslichen, in Alkohol in der Wärme mehr oder weniger löslichen Untersuchungs-Substanzen schon von Anfang an mit dem Alkali in innigeren Kontakt zu bringen. Die Praxis zeigt aber, dass es unmöglich ist alkoholische Flüssigkeiten aus Büretten einzumessen, da durch die ausgeprägte Netzfähigkeit des Alkohols der Nachfluss an den Wandungen entlang sehr langsam und ungleichmässig erfolgt und zudem während dieser Zeit starke Verdunstungsverluste eintreten, die eine so weitgehende Ungenauigkeit in der Titer-Konstanz bedingen, dass diese Ausführungsform wegfallen muss. Damit ist gesagt, dass zum Einmessen mit Büretten nur wässrige Laugen in Frage kommen. Um trotzdem die Löslichkeit der Ester zu fördern, wäre unter Umständen eine nachträgliche Zugabe von neutralem Alkohol zu erwägen. Diese Möglichkeit widerspricht aber ihrerseits der ersten Forderung nach grosser Alkalikonzentration, die an sich

im Hinblick auf die theoretischen Überlegungen beschränkt bleiben muss.

Trotz dieser bewussten Schwierigkeiten wurden die ersten Verseifungsversuche in der Art ausgeführt, dass zu der eingewogenen Substanz in ein geeignetes, später zu beschreibendes Gefäss, ein mehrfacher Überschuss von 0,1-n. wässriger Lauge zugemessen und nachträglich ein gleiches Quantum neutraler Alkohol zugegeben wurde. Nach einigen Stunden Kochdauer wurde die überschüssige Lauge mit 0,1-n. Salzsäure unter Zuhilfenahme eines geeigneten Indikators zurücktitriert und aus dem Alkaliverbrauch das Äquivalentgewicht des verseiften Esters errechnet.

Diese Versuche zeigten zweierlei. Erstens als positives Ergebnis, dass es möglich ist, unter den geschilderten Bedingungen und bei Beachtung einiger Vorsichtsmassregeln, durch Mikro-Verseifung von Estern deren Äquivalentgewicht mit der oben gewünschten Genauigkeit zu bestimmen. Als negatives Resultat, dass diese Möglichkeit auf relativ nur sehr leicht verseifbare Ester beschränkt wird, einerseits durch die kleine Alkalikonzentration und andererseits wegen der schlechten Lösungseigenschaften der 50% Wasser enthaltenden Lauge, wodurch unter Umständen die Verseifungsgeschwindigkeit unverhältnismässig stark herabgesetzt wird.

Aus diesen Betrachtungen geht hervor, dass vor allem das Einmessen der Lauge auf eine günstigere Art zu erfolgen hat, so dass sowohl in der Alkohol-, als in der Alkalikonzentration hochprozentige Lösungen zur Verwendung gelangen können. — Es fand sich ein Weg, der zu vollem Erfolg führte. Theoretische Überlegungen zeigen, dass durch Einwaage der Alkalilösungen eine weitgehende Befreiung von den oben erwähnten Fehlerquellen erreicht werden kann. In welcher günstiger Weise sich diese Arbeitsart auf die Methode auswirkt, ergibt sich aus der Tabelle 2.

Tabelle 2.

Konzentration d. alkohol. Lauge	Einwaagefehler d. Lauge	entspricht cm^3 0,1-n.KOH	Prozent-Fehler des Äquivalentgewichtes bei		
			100	250	400
0,1-n.	± 1 mg	0,001	0,1%	0,25%	0,4%
0,5-n.	± 1 mg	0,005	0,5%	1,1 %	1,7%
1,0-n.	± 1 mg	0,01	0,9%	2,0 %	2,9%

Es ist klar, dass bei der Wahl von geeigneten Wägepipetten und später zu beschreibenden zweckmässigen Bedingungen eine Wägegenauigkeit von weniger als ± 1 mg erreicht und damit die Fehlergrenze noch wesentlich enger gezogen werden kann. Wobei besonders zu bemerken ist, dass stark-alkoholische und relativ konzentrierte Alkalilösungen verwendet werden können, die der Methode eine allgemeine Anwendbarkeit sichern.

Die auf Grund dieser vorstehenden Erwägungen aufgebaute Mikro-Verseifungsmethode ist in mehreren hundert Versuchen eingehend erprobt worden und hat sich als nützlich erwiesen.

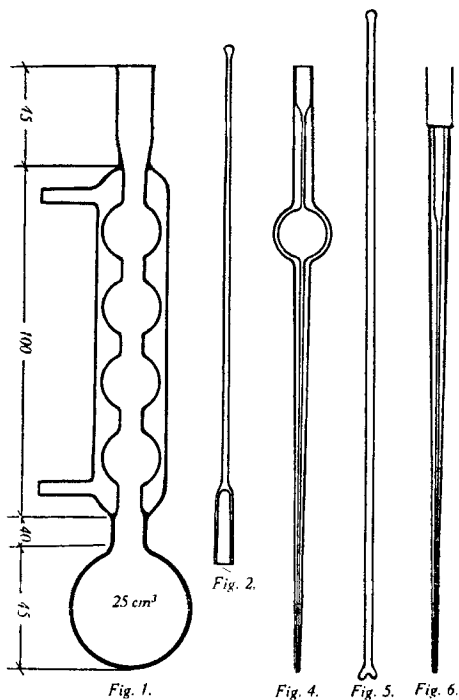
Stärkere Laugen als 1,0-n. wurden nie verwendet. Ester, die sich mit dieser Alkalikonzentration durch mehrstündiges Kochen

nicht verseifen lassen, fallen für diese Untersuchungsmethode ausser Betracht. Erfahrungsgemäss ist dann meist eine Spaltung erst im Rohr unter Bedingungen möglich, die an sich so roh sind, dass an eine massanalytische Verfolgung der Reaktion nicht zu denken ist.

Die Ausführung der Bestimmung.

Die Bestimmung beginnt mit der gründlichen Reinigung des in Fig. 1 dargestellten Verseifungskölbchens. Zu diesem Zwecke wird ein passendes Glasröhrchen durch den Rückflusskühler bis auf den Grund des Kölbchens geführt und mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Nun werden der Reihe nach mindestens 300 cm³ destilliertes Wasser und 50 cm³ Alkohol durch den Kühler und das Kölbchen durchgesaugt und das Apparätchen während fortdauerndem Luftdurchtritt über der Flamme getrocknet.

Anschliessend erfolgt die Einwaage des zu untersuchenden Esters, je nach dem erwarteten Äquivalentgewicht 10 bis 30 mg. Feste Körper werden mit Hilfe eines langstieligen Wägeröhrchens, Fig. 2¹⁾, durch den Kühler in das Kölbchen direkt eingebracht, Flüssigkeiten in einer an zwei Stellen bauchig aufgeblasenen, dünnwandigen Phiolen eingewogen, Fig. 3, und diese zugeschmolzen²⁾. Letztere muss später



Masse in mm
Natürliches Grössen-
verhältnis.

Fig. 3. Bauchige Ausblasungen

Zugeschmolzen nach der
Einwaage.

1) Vgl. auch H. Lieb und H. G. Krainick, Mikrochemie 9, 381 (1931).

2) Herstellung der Phiolen nach F. Pregl, Die quantitat. org. Mikroanalyse, S. 78, III. Aufl. (1930). (Siehe auch weiter unten.)

mittels spezieller Hilfsmittel im Kölbchen zertrümmert werden, damit die eingewogene Substanz mit dem Verseifungsmittel in Berührung kommt.

Um Fehlerquellen, wie sie hervorgerufen werden können durch Veränderung des Titers der verwendeten Alkalilösung (Verdunsten von Lösungsmittel, Aufnahme von Säuren aus der Laboratoriumsluft usw.) oder durch Einwirkung der Lauge auf das Glas der Verseifungskölbchen, zum vornherein auszuschliessen, ist es unumgänglich, zu jeder Verseifung einen Leerversuch unter genau gleichen Bedingungen auszuführen. Das heisst, in einem, wie vorstehend beschrieben vorbehandelten, aber keine Substanz enthaltenden Kölbchen wird eine gleiche Menge Alkalilösung von derselben Konzentration wie im Hauptversuch gleich lang gekocht und nachher zurücktitriert. Diese Leerbestimmung hat in jedem einzelnen Falle als Titerstellung der Lauge zu gelten. Natürlich werden in eine Reihe von Verseifungen, die unter gleichen Bedingungen ausgeführt werden, nur ein bis zwei Leerversuche eingeschaltet.

Nun erfolgt die Einwaage der alkoholischen Alkalilösung. Für diese Operation haben wir eine geeignete, in Fig. 4 dargestellte Wägepipette ausgebildet. Es hat sich gezeigt, dass es für die Genauigkeit von Vorteil ist, den ganzen Vorgang mit Hilfe einer Stoppuhr nach bestimmten Zeiten auszuführen, die bei jedem Versuch genau einzuhalten sind. — Die gründlich gereinigte, trockene Pipette wird mit der feinen Auslaufspitze wenig in die vorher gut durchgeschüttete Vorrats-Alkalilösung eingetaucht und vorsichtig so viel Lauge mittels eines übergestülpten, gereinigten und trockenen Gummischlauchstücks aufgesaugt, bis die Pipette luftblasenfrei gefüllt ist. Jetzt wird die Stoppuhr in Gang gesetzt, die Pipette — in waagrechter Haltung — mit einem Rehllederlappen abgewischt und auf der Mikrowaage in die für die Absorptionsröhrchen der Kohlenwasserstoff-Bestimmung vorgesehenen Hacken eingelegt. Nach Auslösung kann bei aperiodischen Waagen die durch Alkoholverdunstung hervorgerufene stetige Abnahme des Gewichts direkt verfolgt werden. Diese Abnahme ist der Grund, warum nach Zeit gewogen werden soll, um für Haupt- und Leerversuch möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen. Jedoch ist der Gewichtsverlust pro Zeiteinheit nicht so gross, dass nicht noch mit der gewünschten Genauigkeit eine Gewichtsablesung erfolgen könnte!

Nach z. B. vier Minuten wird das Gewicht auf 0,5 mg genau festgestellt, die Pipette mit der dazu bestimmten langen Auslaufspitze — in waagrechter Lage — bis zur kugeligen Erweiterung ins Verseifungskölbchen eingeführt und unter Zuhilfenahme des erwähnten Schlauchstückes die Lauge ins Kölbchen ausgeblasen. An der Pipette haftende Laugetröpfchen werden im unteren Teil des Kühlers abgestreift und die leere Pipette in der siebenten Minute zurückgewogen.

Auf diese Weise gelingt es, die Alkalilösung mit solcher Genauigkeit einzumessen, dass auch bei Verwendung von 1,0-n. Lauge mehrere nacheinander ausgeführte Leerbestimmungen hervorragend übereinstimmende Titrations-Resultate ergeben. (Siehe Tabelle am Schluss dieser Arbeit.)

Hierauf werden die Kölbchen einzeln über freier, kleingestellter Bunsenflamme so stark erwärmt, dass der Alkohol gerade zum Kochen kommt und durch Kondensation und Rückfluss im Kühler abgestreifte Reste der Lauge ins Kölbchen hinunter spült. Zur nun, je nach Löslichkeit, Verseifungsgeschwindigkeit etc., eine bis mehrere Stunden dauernden Erwärmung der Kölbchen, werden diese vorteilhaft so weit in ein elektrisch auf etwa 110° erhitztes Paraffinbad eingetaucht, dass Paraffin- und Flüssigkeitsniveau im Kölbchen auf gleicher Höhe stehen.

Versuchen mit sieverzugverhindernden Mitteln und Erwärmen über freier Flamme oder Asbestdrahtnetz war wenig Erfolg beschieden. Als „Siedesteinchen“ eigneten sich einzig die von *F. Pregl* für seine ebullioskopische Molekulargewichtsbestimmung empfohlenen Platin-Tetraeder, insbesondere wegen der leichten Reinigungsmöglichkeit. Hingegen wurde bald beobachtet, dass die Stellen in der Kölbchenwandung, wo die Tetraeder aufliegen, einer besonderen Erwärmung und Erosion ausgesetzt und in kurzer Zeit durchgefressen sind. Dieselbe Erscheinung konnte festgestellt werden beim direkten Erhitzen der Kölbchen auf elektrischen Heizplatten. Die punktförmige Wandstelle, wo die Wärmeübertragung zur Hauptsache stattfindet, wurde zu stark in Mitleidenschaft gezogen. — Im Paraffinbad ist dagegen eine gleichmässige Erwärmung des ganzen Kölbcheninhalts gewährleistet. Die Flüssigkeit kann in leichtem Sieden erhalten werden ohne Zuhilfenahme von „Siedesteinchen“.

Hier ist auf die spezielle Behandlung von Flüssigkeits-Einwaagen in Phiolen hinzuweisen. Da auch dünnwandige Phiolen von 1—2 mm Durchmesser erfahrungsgemäss der Zertrümmerung durch einfachen Druck, z. B. mittels eines Glasstabes, einen erheblichen Widerstand entgegensetzen, wurden die oben erwähnten bauchigen Ausblähungen vorgesehen (Fig. 3). Das Zerdrücken der Phiolen im Kölbchen geschieht auf einfache Weise durch Einführen eines dünnen, im Gebläse am einen Ende mit einer Rille versehenen Glasstabes (Fig. 5) durch den Rückflusskühler. Nach erfolgter Zertrümmerung der Phiolen wird der Glasstab soweit zurückgezogen, dass sein unteres Ende gerade noch ins Kölbchen hineinragt und bleibt nun festgeklemmt durch einen Quetschhahn während der ganzen Versuchsdauer in dieser Stellung, damit anhaftende Lauge durch den kondensierenden Alkohol abgewaschen werden kann.

Nach Abbruch des Kochens erfolgt die Titration der un-verbrauchten Lauge mit auf Soda eingestellter 0,1-n. Schwefelsäure. Da die Reaktionsflüssigkeit durch die untersuchten Substanzen sehr oft gelb bis hellbraun gefärbt wird, kann nur ein Indikator verwendet werden, dessen Umschlagsfarbe von gelb stark kontrastiert. Als sehr geeignet hat sich α -Naphtholphthalein erwiesen. Umschlagsfarbe: alkalisch tiefblau/sauer hellrosa, Inter-

vall in p_H 7,3—8,7. Der Übergang blau-schmutzig-grün-rosa, bzw. -gelb bis hellbraun ist leicht zu erkennen. — Zur Titration lässt man mit einem ausgezogenen Glasröhrchen 1—2 Tropfen der alkoholischen einprozentigen Indikatorlösung ins Kölbchen fliessen. Die 0,1-n. Säure wird einer Mikro-Bürette mit 0,01 cm³-Teilung von 10 cm³ Fassungsvermögen entnommen. Als Ausfluss-Spitze eignet sich am besten eine in Fig. 6 dargestellte, mit der Bürette durch Schlauch und Quetschhahn verbundene, fein ausgezogene Kapillare, die durch den Kühler bis ins Verseifungskölbchen reicht.

Die Titration bietet an sich keine Schwierigkeiten. Titriert man von alkalisch nach sauer, so zeigt sie aber eine Abweichung vom Normalen, die nicht übersehen werden darf. Nach Erreichen des ersten scheinbar beständigen Umschlages ist das Ende der Titration noch nicht ermittelt. Wird der Kölbcheninhalt jetzt zum Kochen gebracht (über freier Flamme unter stetigem Umschwenken) so zeigt sich, dass noch erhebliche Mengen Alkali frei werden. Wahrscheinlich spielen dabei gelöste Kohlensäure und Alkali, das sich in der Glaswandung festgesetzt hat, eine Rolle. — Man kann nun nach Abkühlen des Gefässes im fliessenden Wasser (es soll prinzipiell immer kalt titriert werden) wieder bis zum Umschlag titrieren und diesen Vorgang so oft wiederholen, bis beim Aufkochen kein alkalischer Effekt mehr auftritt. Es ist jedoch von dieser Art der Rücktitration abzuraten, da so der Endpunkt nur mit grosser Geduld genau erfasst werden kann. — Viel zweckmässiger wird der Kölbcheninhalt mit einem Säureüberschuss versetzt, kurze Zeit (etwa 5 Minuten) über freier Flamme aufgeköcht und nachher mit 0,1-n. KOH bis zur neutralen Reaktion zurücktitriert. So erreicht man den Endpunkt viel rascher und auch genauer. Es ist unbedingt darauf zu achten, dass mit grösster Sorgfalt gearbeitet wird, denn ein Tropfen Titrationsflüssigkeit entspricht einer Menge von etwa 0,02 cm³ und kann nach Tabelle 1 das Verseifungsergebnis erheblich beeinflussen. Fehler, die durch die Tropfengrösse bei der Titration verursacht werden, lassen sich dadurch vermeiden, dass die Ausflussöffnung der Büretten-Auslaufkapillare kurz vor dem Umschlag so weit ins Kölbchen hinein gebracht wird, dass sie die Flüssigkeitsoberfläche beinahe berührt. Ist dies der Fall, so fliesst die Titrationsflüssigkeit ohne Tropfenbildung kontinuierlich in beliebig kleinen Mengen ab.

Zur Berechnung des Resultates bezogen auf das Äquivalentgewicht der verseiften Substanz kann die folgende Formel verwendet werden.

$$\text{Äquiv.-Gew.} = \frac{10 \times s \times a_1}{a \times v_1 - a_1 \times v}$$

s = mg Substanz, a_1 = mg Alkalilösung im Leerversuch,

a = mg Alkalilösung im Hauptversuch,

v = cm³ verbrauchte 0,1-n. Säure im Hauptversuch,

v_1 = cm³ verbrauchte Säure im Leerversuch.

Reagenzien und Apparate.

Es soll im folgenden auf die einzelnen Apparate und Reagenzien nur soweit eingegangen werden, als dies im allgemeinen Teil unvollständig oder nicht geschehen ist und für das Gelingen der Analyse notwendig erscheint.

Die alkoholische Alkalilösung.

Die Herstellung der zur Verwendung kommenden Lauge bietet keine besonderen Schwierigkeiten. Da im Hinblick auf gutes Lösungsvermögen möglichst grosse Alkoholkonzentration erwünscht ist, wird das Ätzalkali in sehr wenig destilliertem Wasser gelöst und nachher mit 96-proz. Alkohol auf das berechnete Volumen verdünnt. Tritt dabei eine leichte Trübung auf, so muss etwas mehr Wasser mitverwendet werden. So gelingt es beispielsweise, eine klare 0,5-n. Lösung folgender Zusammensetzung herzustellen:

2,8 g KOH, 12 cm³ H₂O, 88 cm³ 96-proz. Alkohol.

Es hat sich als unzweckmässig erwiesen, die alkoholischen Alkalilösungen auf Vorrat herzustellen, da sie einer stetigen Veränderung, insbesondere einer Gelbbraunfärbung unterworfen sind. Wir bereiten deshalb für jede Versuchsreihe eine kleinere Menge frischer Lauge in der gewünschten Konzentration.

Die 0,1-n. Schwefelsäure und Kalilauge.

Wir verwenden zur Titration die im Handel erhältlichen Produkte. Die Einstellung des Titors erfolgt auf Soda mit Methylorange bzw. auf Bernsteinsäure mit α -Naphtholphtalein als Indikatoren. Diese Lösungen sind sehr haltbar und ändern den Titer über längere Zeiträume nur unmerklich.

Die Verseifungskölbchen.

Es wurde oben schon darauf hingewiesen, dass die Wandung der Verseifungskölbchen durch die Lauge relativ rasch erodiert wird. Naturgemäss ist dieser Effekt stark von der Alkalikonzentration abhängig. Eine 1,0-n. Lauge verursacht bei längerer Einwirkung (über 24 Stunden) schon eine respektable Ätzung des Kölbchens, wogegen 0,1-n. Alkalilösungen auch in tagelangen Versuchen kaum feststellbare Erosionen hervorrufen. Wir haben verschiedene Gläser auf ihre Widerstandsfähigkeit in dieser Beziehung geprüft und gefunden, dass sich für unsere Zwecke am besten Kölbchen aus Jenaer Geräteglas eignen. Auf die Genauigkeit der Verseifungsmethode ist diese Ätzung kaum von Einfluss, da ja durch den Leerversuch, der allein für die Titerstellung der Alkalilösung massgebend ist, für weitgehende Kompensation eines diesbezüglichen Fehlers gesorgt wird. — Hingegen gibt dieser Glaseffekt Anlass zur kontinuierlichen Auswechslung der Kölbchen. Da der Kühler nicht in Mitleidenschaft gezogen wird, liegt der Gedanke nahe, zwischen Kühler und Kölbchen eine Normal-Schliffverbindung vorzusehen. Die Praxis hat jedoch gezeigt, dass diese Ausführungsform unge-

eignet ist, da der Schliff entweder schon beim Verseifungsprozess Alkaliverluste verursacht („Kriechen“ der Verseifungslösung) oder bei der Rücktitration erheblich hindert. Als einzig zweckmässige Lösung hat sich das am Kühler angeschmolzene Kölbchen erwiesen. Ein Ersatz, den wir übrigens vorsichtshalber nach jeder Bestimmung vornehmen, ist trotzdem gut möglich und kann mit etwas Übung im Glasblasen vom Experimentierenden in wenigen Minuten selber durchgeführt werden¹⁾.

Die Phiolen für die Flüssigkeitseinwaage.

Die Grundform der Flüssigkeitsphiolen ist die in der Mikroanalyse seit langem gebräuchliche. Um die in diesem Fall unumgängliche Zertrümmerung zu erleichtern, bedarf die Wandung des etwa 2 mm dicken und 15 mm langen Füllraumes einiger bauchiger Aufblasungen (Fig. 3). Die Anfertigung derselben ist nicht so sehr einfach und gelingt erst nach einiger Übung zufriedenstellend. Als Ausgangsmaterial sind Jenaer Reagensgläschen zu empfehlen. Die nach *Pregl* hergestellte Phiole wird am äussersten Ende der Einsaugkapillare zugeschmolzen und bei dauerndem Quirlen zwischen Daumen und Zeigefinger der Rohrteil sehr rasch in einer Mikroflamme (Dackelbrenner) erhitzt. Dabei wird durch die sich ausdehnende Innenluft die erweichte Glasmasse ausgestülpt. Es ist darauf zu achten, dass man nicht zu lange in der Flamme verweilt (Bruchteile von Sekunden), sonst ist ein Aufplatzen der Phiole unvermeidlich. Nach erfolgter Einwaage, zu welchem Zwecke die Einsaugkapillare geöffnet werden muss, wird letztere ganz nahe am Flüssigkeitsraum zugeschmolzen und Substanzreste im vorderen offenen Teil durch Erwärmen in der Mikroflamme entfernt.

Allgemeine Bemerkungen und Resultate.

Obschon eingangs erwähnt wurde, dass die vorstehend beschriebene Methodik sich auch in den Händen von weniger geübtem Personal bewährt hat, muss doch darauf hingewiesen werden, dass nur bei aufmerksamer Vermeidung der verschiedenen Fehlermöglichkeiten und sorgfältigster Arbeitsweise gute Resultate erzielt werden können. Ist dies aber der Fall, so füllt die Methode in der organischen Analysentechnik eine Lücke aus und kann unter Umständen sich als wertvolle Hilfe bei wissenschaftlichen Untersuchungen erweisen.

Die für eine Bestimmung aufzuwendende Zeit bleibt in den Grenzen derjenigen anderer Mikroverfahren. Mit den Vorbereitungen, Einwaage von Substanz und Alkalilösung und Titration, werden pro Bestimmung etwa 40 Minuten einzusetzen sein, natürlich nicht mitgerechnet die Kochzeit, während welcher keine spezielle Wartung notwendig ist.

¹⁾ Wir halten uns immer einen Vorrat von etwa 50—100 Stück Rundkölbchen, die mit einem etwa 3 cm langen Hals passend zu den Kühlern angefertigt werden.

Alle in dieser Abhandlung angegebenen Apparate sind in zweckmässiger Ausführung bei der Fa. *Carl Kirchner*, Glasbläserei, Freiestrasse, Bern, erhältlich.

Als Belegmaterial für die allgemeine Anwendbarkeit und die Genauigkeit der beschriebenen Methode wurde in der Tabelle 3 eine Reihe von Verseifungsergebnissen zusammengestellt. Es handelt sich dabei um eine willkürliche Auswahl unter mehreren hundert Bestimmungen, die zum grossen Teil schon im Laufe der letzten Jahre in Publikationen von *L. Ruzicka* und Mitarbeitern veröffentlicht worden sind. — Die verwendeten Substanzen wurden durch Kohlenwasserstoff-Bestimmungen auf ihre Reinheit geprüft. Soweit die Verbindungen nicht allgemein bekannt, z. B. nur mit der Formel angeführt sind, ist zu sagen, dass es sich um Produkte mit sicher gestellter Konstitution aus verschiedenen Arbeiten unseres Laboratoriums handelt.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass Einwaagen zwischen 5 und 32 mg verwendet wurden. Die Alkalikonzentration von 0,1-n. genügte bei leicht verseifbaren Estern, bei schwerer verseifbaren wurde mit Vorteil eine grössere Konzentration angewendet. Dies geht besonders aus den Beispielen 10 und 11 hervor, wo bei sonst gleichen Versuchsbedingungen Hemimellithsäure-ester mit 0,1-n. Lauge eine unvollständige Verseifung erlitt (Fehler 14%), während mit 0,5-n. Alkalilösung ein fast theoretisches Resultat erhalten wurde.

Bei andern, hier nicht aufgeführten Versuchen, war eine vollständige Verseifung nur mit sehr konzentrierten Laugen (1,0-n.) herbeizuführen. — In wieder andern Fällen ist es möglich, an Hand der Verseifungsgeschwindigkeit über die Konfiguration der Molekel, besonders über die sterischen Verhältnisse, bestimmte Aussagen zu machen, die oft wichtige Einblicke in den Aufbau von Naturprodukten zu tun gestatten¹).

Die Verseifungsdauer (Kochdauer) richtet sich nach der zu erwartenden Verseifbarkeit, natürlich unter Berücksichtigung der verwendeten Alkalikonzentration. Aus der Tabelle geht hervor, dass in den meisten Fällen eine Reaktionszeit von einigen Stunden genügt. Es ist immerhin aber nicht selten, dass bei sehr schwer spaltbaren Estern 50 und mehr Stunden verseift werden muss, bis der Endpunkt erreicht ist.

Bei Vorliegen von unbekanntem Verbindungen oder Gemischen, wo eine möglichst vollständige Verseifung angestrebt wird, ist daher

¹ In diesem Zusammenhang soll auf eine Arbeit von *W. Hüchel* (B. **67**, 129 (1934)) über Molekelbau und Reaktionsgeschwindigkeit hingewiesen werden. An Hand eines grösseren Versuchsmaterials, wobei er als Reaktion die alkalische Verseifung von Estern benützt, zeigt er, dass schon geringfügige Unterschiede im Molekelbau, wie z. B. cis- und trans-Stellung, unter Umständen zu erheblichen Unterschieden in der Verseifungs- bzw. Reaktionsgeschwindigkeit führen können. — Diese Versuche haben für uns insofern Interesse, als eine Reihe ähnlicher Untersuchungen aus unserem Laboratorium²) im Steringebiet im vorliegenden Heft dieser Zeitschrift publiziert werden und eigentlich direkt an die Untersuchungen von *Hüchel* anschliessen.

²) *L. Ruzicka, M. Furter* und *M. W. Goldberg*, *Helv.* **21**, 498 (1938).

Tabelle 3.

Substanz	Ein- waage mg	Alkali- Kon- zent.	Koch- dauer	Alkali- verbr. cm ³ 0,1-n.	Äquiv.- Gewicht		Fehler in %
					Gef.	Ber.	
Leicht verseifbare Ester.							
1. Amyl-benzoat	15,23	0,1-n.	1	0,804	189,5	192,2	-1,5
2. Amyl-propionat	12,47	0,1-n.	1	0,864	144,1	144,1	0
3. Butyl-acetat	9,87	0,1-n.	1,5	0,848	116,4	116,1	0,3
4. Butyl-acetat	16,03	0,3-n.	0,5	1,379	116,3	116,1	0,2
5. Tridecan-1,13-dicarbon-säure- di-methylester	21,71	0,1-n.	2	1,432	151,5	150,2	+0,8
6. Tridecan-1,13-dicarbon-säure- di-methylester	32,90	0,3-n.	1	2,261	145,5	150,2	-3,1
7. C ₇ H ₁₂ $\begin{matrix} \diagup \text{COOH} \\ \diagdown \text{COOCH}_3 \end{matrix}$	14,31	0,1-n.	2	1,454	98,5	100,1	-1,6
8. C ₇ H ₁₂ $\begin{matrix} \diagup \text{COOCH}_3 \\ \diagdown \text{COCl} \end{matrix}$	21,59	0,1-n.	2	2,983	72,3	72,8	-0,7
9. CH ₃ OOC·H ₄ C ₈ —C ₈ H ₃ : (COOCH ₃) ₂	18,86	0,3-n.	2	1,801	105,0	109,3	-4,0
Schwerer verseifbare Ester.							
10. Hemimellithsäure-methyl- ester	5,97	0,1-n.	3	0,620	96,0	84,0	+14,3
11. Hemimellithsäure-methyl- ester	8,26	0,5-n.	3	0,966	85,5	84,0	+1,8
12. Tetrahydro-agathendisäure- dimethylester	15,56	0,3-n.	5	0,430	362,0	366,3	-1,2
13. Elemisäure-methylester	10,91	0,3-n.	6	0,353	309,0	304,3	+1,6
14. Keto-ester C ₁₁ H ₁₆ O ₃	12,74	0,3-n.	3	0,640	199,1	198,1	+0,5
15. C ₇ H ₁₃ (COOCH ₃) ₃	15,22	0,3-n.	3	1,640	93,0	91,3	+1,8
16. Anlagerung von Maleinsäure- anhydrid an Iron	12,56	0,3-n.	4	0,720	174,3	175,2	-0,6
17. Pimanthrenchinon-oxya- dation: Methylester C ₂₀ H ₁₈ O ₈	5,47	0,3-n.	4	0,566	96,5	96,6	0
18. Methylester einer Säure aus Sumaresinol	5,82	0,3-n.	6	0,110	529,0	512,4	+3,3
19. Methylester einer Säure aus Sumaresinol	6,16	0,5-n.	15	0,118	522,0	512,4	+2,0
Lactone.							
20. Tetrahydro-alantolacton	6,34	0,3-n.	6	0,268	236,0	236,2	0
21. Dihydro-isophoron-lacton	15,84	0,3-n.	6	1,104	143,5	156,1	-8,0
22. Dihydro-iso-alantolacton	16,87	0,5-n.	4	0,716	235,0	234,2	+0,3
23. Tetrahydro-alantolacton	11,19	0,5-n.	3	0,476	235,0	236,2	-0,5
24. Ketolacton C ₁₄ H ₂₀ O ₃	18,18	0,3-n.	6	0,767	237,0	236,2	+0,3
Leerversuche							
	Ein- waage mg	Alkali- Kon- zent. ca.	Koch- dauer Stdn.	HCl cm ³ 0,1-n.	Alkali Gef. Ber. cm ³ cm ³		
1. Ohne Substanz	1358	0,5-n.	14	6,518	6,518	6,517	
2. " "	1357	0,5-n.	6	6,517	6,517	6,516	
3. " "	1356	0,5-n.	8	6,521	6,521	6,515	
4. " "	1404	0,5-n.	24	13,929	13,929	13,917	
5. " "	1408	1,0-n.	24	13,954	13,954	13,941	

anzuraten, zum vornherein mit einer Alkalikonzentration von 0,5-n. und einer Kochdauer von mindestens 12 Stunden zu arbeiten, sofern man nicht vorzieht, gleich mit 2 Konzentrationen zu verseifen, um eventuelle Unterschiede in der Verseifungsgeschwindigkeit festzustellen.

Beispiel 7 und 8 zeigen die Verseifung eines Halbesters und eines Halbesters-Säurechlorids. Weiter finden sich Doppelbestimmungen mit Variation der Bedingungen. Aus letztern ist ersichtlich, dass die Resultate bei geeigneten Bedingungen durch Änderung derselben nicht beeinflusst werden und dass allgemein eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse erreicht werden kann.

Die Fehlerkontrolle zeigt das gewünschte Resultat; die eingangs gesetzte Grenze von $\pm 5\%$ wird im allgemeinen nicht überschritten.

Mit sehr gutem Erfolg wurde die Methode auch an Lactonen erprobt. — Ungünstig waren dagegen Versuche mit Säureamiden wobei Störungen der Titration durch Ammoniak erfolgte.

Schwierigkeiten können der beschriebenen Methode nur durch die alkalische Reaktion des Glases erwachsen. Diese haben uns denn auch bewogen, Versuche mit Gefässen aus unempfindlicherem Material anzusetzen. *Hückel*, dessen früher erwähnte Messungen mit grosser Genauigkeit durchgeführt wurden¹⁾, verwendete wegen des gleichen störenden Effektes Kolben aus Silber. — Ähnliche Versuche mit Silberkölbchen sind gegenwärtig bei uns im Gang. Es ist aber vorauszusehen, dass solche Reaktionsgefässe nur bei extremen Bedingungen zur Anwendung gelangen werden, da für den Praktiker im analytischen Laboratorium nur eine Methodik in Betracht kommt, die mit verhältnismässig einfachen und billigen Mitteln zum Ziele gelangt.

Organisch-chemisches Laboratorium,
Mikroanalytische Abteilung, Eidg. Techn.
Hochschule, Zürich.

¹⁾ *H. Havekoss*, Diss. Freiburg im Br., 1929; *H. Kumetat*, Diss. Greifswald, 1932.