

8 Bestimmungen ergaben als Mittelwert  $226,8 \pm 19$  (ber. 228,2). Nach Verdampfen des Lösungsmittels konnte das c-Tetraglycyl durch Kristallisation aus Wasser unverändert zurückgewonnen werden.

Partielle Verseifung mit  $n/15$  LiOH ergab Glycin + Diglycin, Triglycin und viel Tetraglycin (Papierchromatographie, Phenol-Wasser 75:25, Rf-Werte 0,41; 0,47; 0,55).

b) 360 mg N-Carbobenzyloxy-tetraglycyl-thioglykolsäure wurden in 5 ml Eisessig-HBr (ca. 1-n.) gelöst und 1 Std. bei  $30-40^{\circ}$  aufbewahrt. Nach Beendigung der  $\text{CO}_2$ -Entwicklung wurde das Lösungsmittel i. V. verdampft, der Rückstand mit Äther gewaschen und kurz bei  $60^{\circ}$  i. V. getrocknet. Er wurde in 8 ml Dimethylformamid gelöst, filtriert und während 4 Std. unter Rühren in 100 ml Pyridin + 0,1 ml Eisessig bei  $95^{\circ}$  eingetroppt. Zum Schluss wurde noch 1 Std. weiter erhitzt. Aufarbeitung wie sub a): 23 mg (12,7%) kristallisierte Substanz, identisch mit dem sub a) erhaltenen c-Tetraglycyl (IR.).

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Herrn Dr. H. Gysel durchgeführt. Die IR.-Spektren verdanken wir den Herren Drs. E. Ganz und H. Labhart in unseren physikalischen Laboratorien.

#### SUMMARY.

Naturally occurring cyclo-polypeptides may be subdivided into two groups, according to whether the rings contain only peptide linkages or not. The adjectives homodetic and heterodetic are proposed to differentiate these two types of cyclo-polypeptides.

c-Tetraglycyl has been prepared for the first time using activated O- and S-esters of tetraglycin. This synthesis, as well as the synthesis of c-hexaglycyl, demonstrates the special usefulness of the cyanomethyl ester method for the cyclisation of peptides.

Forschungslaboratorien der *CIBA-Aktiengesellschaft*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

## 106. Zur Mikrotitration organischer Verbindungen.

### Teil IV: Mikrobürette konstanter Ausflussgeschwindigkeit für automatische Titrationsanlagen

von W. Simon.

(14. III. 56.)

Die zunehmende Wichtigkeit der Mikrotitration in der qualitativen und quantitativen organischen Analyse<sup>1)</sup> hat zur Folge, dass ein Bedürfnis zur weitgehenden Automatisierung des Titrationsprozesses besteht. In der vorliegenden Arbeit soll über eine Bürette berichtet

<sup>1)</sup> T. V. Parke & W. W. Davis, *Anal. Chemistry* **26**, 642 (1954); J. A. Riddick, *ibid.* **26**, 77 (1954).

werden, die es erlaubt, automatische<sup>2)</sup> oder halbautomatische<sup>3)</sup> Mikrotitrationsen an Substanzmengen der Grössenordnung  $10^{-6}$  Äquivalente auszuführen. Die Anwendung einer ähnlichen Bürette bei der Mikrobestimmung scheinbarer Dissoziationskonstanten in nichtwässrigen Medien wurde früher beschrieben<sup>3)</sup>. Das Prinzip der Bürette besteht darin, dass Quecksilber unter konstantem Druck durch eine feine, thermostatierte Kapillare (Polarographenkapillare) in das Vorratsgefäss für Titrationsflüssigkeit fliesst und diese mit sehr konstanter Ausflussgeschwindigkeit aus dem Vorratsgefäss verdrängt. Ein Relais-Aggregat und ein Servomotor zur Öffnung und Schliessung der Bürette ermöglichen die Verwendung in automatisch gesteuerten Titrationsanlagen.

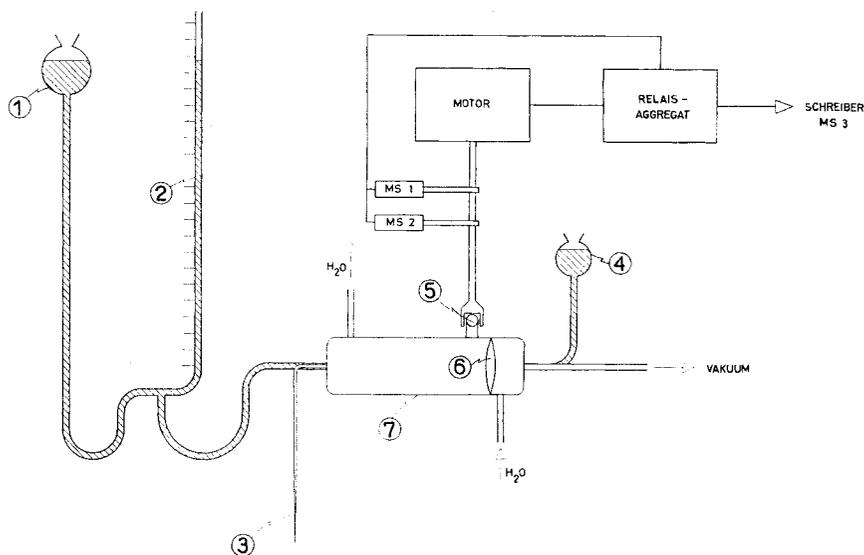


Fig. 1.

## Schema der Titrationsanlage.

- 1 Quecksilberreservoir.
  - 2 Niveaurohr.
  - 3 Bürettenspitze.
  - 4 Quecksilberreservoir.
  - 5 Hahn: Starten und Stoppen der Titration.
  - 6 Dreiweghahn: Füllung und Reinigung der Bürette.
  - 7 Thermostatierte Bürette.
- MS 1, MS 2 und MS 3: Mikroschalter.

<sup>2)</sup> In einer der folgenden Arbeiten soll über die Verwendung dieser Bürette in einer vollautomatischen Anlage zur Mikrobestimmung scheinbarer Dissoziationskonstanten in nichtwässrigen Medien berichtet werden.

<sup>3)</sup> Vgl. Teile I, II und III dieser Reihe von Veröffentlichungen: *W. Simon, E. Kováts, L. H. Chopard-dit-Jean & E. Heilbronner*, *Helv.* **37**, 1872 (1954); *W. Simon & E. Heilbronner*, *Helv.* **38**, 508 (1955); *W. Simon, Doris Meuche & E. Heilbronner*, *Helv.* **39**, 290 (1956).

**Apparatur.** In Fig. 1 ist die Titrationsanlage schematisch dargestellt. Das im vertikal verschiebbaren Reservoir 1 enthaltene Quecksilber strömt durch eine Polarographenkapillare (Fig. 3) in die thermostatierte Bürette 7. Eine genaue Einregulierung des Quecksilberdruckes kann mit Hilfe des in cm und mm eingeteilten Niveaurohres 2 erreicht werden. Der Hahn 5 (vgl. 1 in Fig. 2), der durch einen Servomotor (vier Umdrehungen/Min.) bedient wird, ermöglicht ein Starten und Stoppen des Quecksilberflusses durch die Kapillare und somit auch des Ausfließens der Titrationsflüssigkeit aus der Bürette.

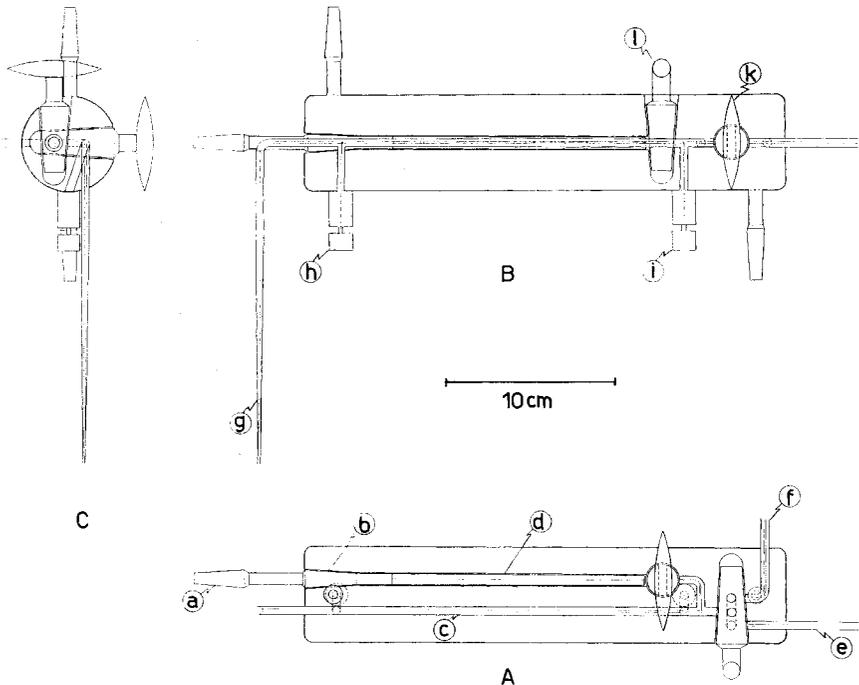


Fig. 2.  
Bürette.

- A Ansicht von oben.
- B Ansicht von vorne.
- C Ansicht von der Seite.
- a Normalschliff Nr. 7 (Verbindung der Polarographenkapillare mit dem Quecksilberreservoir 1 [siehe Fig. 1]).
- b Normalschliff Nr. 7 (Einfügung der Polarographenkapillare in den Glasmantel der Bürette).
- c Kapillare für die Titrationsflüssigkeit.
- d Polarographenkapillare.
- e Verbindung zum Wasserstrahlvakuum.
- f Verbindung zum Quecksilberreservoir 4 (siehe Fig. 1).
- g Spitze der Bürette.
- h Platinkontakt.
- i Platinkontakt.
- k Dreiweghahn: Füllung und Reinigung der Bürette.
- l Hahn: Starten und Stoppen der Titration.

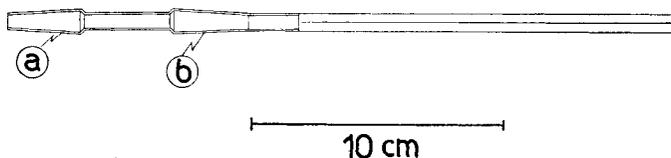


Fig. 3.

## Polarographenkapillare.

- a Normalschliff Nr. 7 (Verbindung der Kapillare mit dem Quecksilberreservoir 1 (siehe Fig. 1)).  
 b Normalschliff Nr. 7 (Einfügung der Kapillare in den Glasmantel der Bürette).

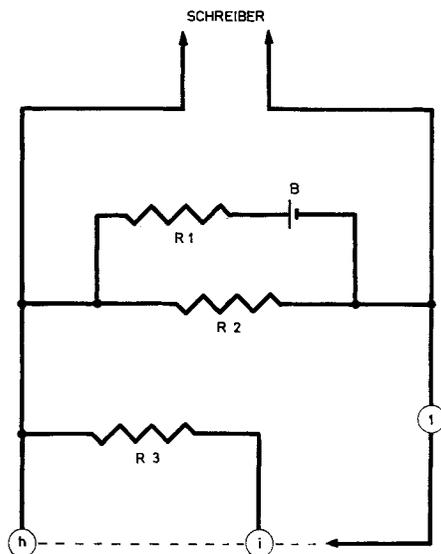


Fig. 4.

## Eichung der Ausflussgeschwindigkeit.

- B Batterie 1,5 Volt.  
 R 1 Widerstand 15 K  $\Omega$ .  
 R 2 Widerstand 100  $\Omega$ .  
 R 3 Widerstand 40  $\Omega$ .  
 1 Quecksilberreservoir (vgl. 1 in Fig. 1).  
 h, i Platinkontakte (vgl. h und i in Fig. 2).

(R 1, R 2 und R 3 wurden für die Verwendung eines 10-mV-Schreibers gewählt. Bei der Verwendung anderer Schreiber müssen diese Widerstände entsprechend geändert werden.)

Der Ablauf des Titrationsvorganges wird über ein Relais-Aggregat (Fig. 5) durch die Mikroschalter MS 1, MS 2 und einen dritten Mikroschalter MS 3, der sich im Schreiber befindet, gesteuert. Die Mikroschalter MS 1 und MS 2 werden durch Nocken auf der Antriebswelle zum Hahn 5 betätigt.

Durch den Dreiweghahn 6 kann die Bürette in kurzer Zeit aus dem Reservoir 4 mit Quecksilber gefüllt werden. Nach dem Eintauchen der Spitze 3 der Bürette in die Titrationsflüssigkeit wird der Dreiweghahn 6 so gestellt, dass die Bürette mit dem Vakuum

verbunden wird. Die Titrationsflüssigkeit kann auf diese Weise in die Bürette gesogen werden. Während der Titration taucht die Bürettenspitze in das Messgut ein<sup>4)</sup>.

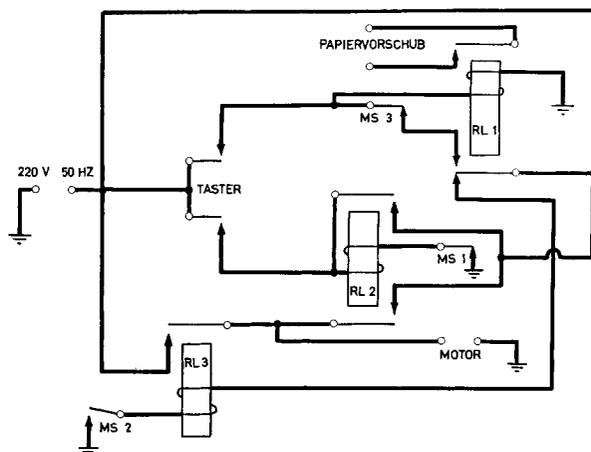


Fig. 5.

#### Relais-Aggregat zur Steuerung der Titrationsanlage.

- Taster** Druckknopf-Taster, zwei Arbeitskontakte (nicht haltend).
- MS 1 und MS 2** Mikroschalter, die durch Nocken der Antriebswelle zu Hahn 5 (vgl. Fig. 1) betätigt werden. Je ein Ruhekontakt.  
Hahn 5 offen: MS 1 offen, MS 2 geschlossen.  
Hahn 5 geschlossen: MS 1 geschlossen, MS 2 offen.
- MS 3** Mikroschalter, der durch den Federschlitten des Schreibers betätigt wird. Ruhekontakt.
- RL 1, RL 2 und RL 3** 220 Volt Wechselstromrelais:  
RL 1: Ein Arbeitskontakt, ein Umschaltkontakt.  
RL 2: Zwei Arbeitskontakte.  
RL 3: Ein Arbeitskontakt.  
(RL 2 kann mit einem zusätzlichen Arbeitskontakt ausgerüstet werden, so dass die Möglichkeit besteht, mit Hilfe dieses Kontaktes eine Markierung auf dem Papier des Schreibers bei Titrationsstart auszulösen.)

*Bürette*<sup>4a)</sup>: Die Fig. 2 zeigt die Einzelheiten der Bürette. Die Polarographenkapillare die die Strömungsgeschwindigkeit des Quecksilbers bestimmt, hat einen inneren Durchmesser von ca.  $50 \mu$  und ist mittels des Glasschliffes b (siehe Fig. 2 und 3) in das restliche System eingefügt<sup>5)</sup>. Mit einer einzigen Kapillare kann die Titrationsgeschwindigkeit ohne

<sup>4)</sup> Zur Reinigung der Bürette wird diese über den Dreiweghahn 6 mit dem Wasserstrahlvakuum verbunden, dann werden der Reihe nach destilliertes Wasser, Methanol, Äther und filtrierte, trockene Luft hindurchgesogen.

<sup>4a)</sup> Die Bürette wurde von der Firma *Gebr. Möller*, Glasbläserei, Zürich, hergestellt.

<sup>5)</sup> Um eine Verunreinigung der Polarographenkapillare zu vermeiden, ist es notwendig, stets frisch destilliertes Quecksilber zu verwenden. Bei der Installation der Bürette muss der Raum zwischen der Polarographenkapillare und dem Mantel der Bürette unbedingt vollständig mit Quecksilber gefüllt werden. Dies wird dadurch erreicht, dass die Bürettenspitze mit Schlauch und Quetschhahn abgeschlossen wird und bei geöffnetem Hahn l (Fig. 2) das Bürettensystem durch Hahn k (Fig. 2) abwechslungsweise evakuiert und aus dem Reservoir 4 (Fig. 1) mit Quecksilber gefüllt wird.

weiteres von 70 bis 400 mm<sup>3</sup> Titrationsflüssigkeit pro Std. durch Änderung des Quecksilberdruckes variiert werden. Der Einsatz verschiedener Kapillaren gibt ausserdem die Möglichkeit, ein noch grösseres Gebiet von Titrationsgeschwindigkeiten zu erfassen. Die Reproduzierbarkeit der Titrationsgeschwindigkeiten ist von der Grössenordnung 0,001 und besser. Zur Konstanthaltung der Viskosität des Quecksilbers und zur Elimination von Thermometereffekten muss das ganze Bürettensystem auf  $\pm 0,1^{\circ}$  thermostatiert werden.

Das Volumen der Kapillare c (Fig. 2A), die die Titrationsflüssigkeit enthält, beträgt ca. 100 mm<sup>3</sup> (gemessen zwischen den Platinkontakten h und i). Eine Bestimmung dieses Volumens wird am besten mit Hilfe einer Wägemethode<sup>6)</sup> vorgenommen. Die Ausflussgeschwindigkeit der Titrationsflüssigkeit in mm<sup>3</sup>/min kann dann durch eine Messung derjenigen Zeit erhalten werden, die das Quecksilber bei konstantem Druck benötigt, um von Kontakt i zu Kontakt h zu fließen (Fig. 2B)<sup>7)</sup><sup>8)</sup>. Meistens ist es praktischer, die Ausflussgeschwindigkeit mit der Papiervorschubgeschwindigkeit des verwendeten Schreibers zu verknüpfen. Unter Verwendung des einfachen Schemas der Fig. 4 ist es möglich, den Durchgang des Quecksilbers bei den Kontakten i und h auf dem Papier des Schreibers zu markieren. Die Ausflussgeschwindigkeit der Bürette kann folglich direkt in mm<sup>3</sup>/cm Papier oder bei Kenntnis des Titers der Titrationsflüssigkeit in Äquivalenten Titrationsflüssigkeit pro cm Papier angegeben werden. Aus Sicherheitsgründen sollte diese Eichung mindestens einmal pro Monat kontrolliert werden. Wenn die Kapillare (Fig. 3) nicht verunreinigt wird, so bleibt die Ausflussgeschwindigkeit während mehreren Monaten konstant.

*Relais-Aggregat:* Die Fig. 5 zeigt das Schema des Relais-Aggregates, das zur Steuerung der Titrationsanlage verwendet werden kann. Die Betätigung des Tasters bei Titrationsstart schaltet den Papiervorschub des Schreibers sowie den Motor zur Öffnung der Bürette ein. Bei beendeter Titration öffnet der Federschlitten des Schreibers den Mikroschalter MS 3, wodurch der Papiervorschub des Schreibers ausgeschaltet wird und der Servomotor die Bürette abschliesst.

#### SUMMARY.

A buret is described, with which automatic or semi-automatic microtitrations using about 10<sup>-6</sup> equivalents of substance may be performed. Details for the construction of an automatic microtitrator are given.

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

---

<sup>6)</sup> P. L. Kirk, Quantitative Ultramicro Analysis, p. 36, New York 1950.

<sup>7)</sup> Im Teil I wurde gezeigt, dass eine strenge Linearität zwischen Ausflusszeit und Ausflussmenge besteht.

<sup>8)</sup> Bei der Bestimmung der Ausflusszeit muss unbedingt beachtet werden, dass die Messbedingungen möglichst analog denjenigen sind, die während der Titration vorliegen. Die Kapillare c (Fig. 2A) sollte also vor Messbeginn mit der Titrationsflüssigkeit, mindestens jedoch mit Wasser gefüllt werden. Die Kapillare c muss stets horizontal liegen.