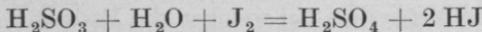


Essigsäure im Vakuum abdestilliert und in n/100 Natronlauge aufgefangen. Unter diesen Bedingungen kommt es zur Bildung von Schwefeldioxyd aus der Toluolsulfosäure. Um die schwefelige Säure zu binden, befindet sich zwischen dem Verseifungskolben und dem Kühler ein U-Rohr, welches eine gesättigte Lösung von primärem Natriumphosphat enthält, das die schwefelige Säure aufnimmt, während die Essigsäure daraus wieder abdestilliert werden kann. Die Durchführung der Bestimmung bereitet Schwierigkeiten, da das primäre Natriumphosphat, welches staubfein auftritt, im Vakuum spurenweise mitgerissen wird, in den Kühler und somit zur Titration gelangt. Dadurch ergeben sich ständig Störungen in den Analysen, so daß man sich auf die Resultate nie verlassen kann. Aus diesem Grunde wird von einer näheren Beschreibung der Methode Abstand genommen.

Methode von A. Friedrich und S. Rapoport.¹⁾

Bei dieser Bestimmung wird die Verseifung der Acetylverbindung analog der Methode von Pregl und Soltys mit 25%iger p-Toluolsulfosäure durchgeführt, die gebildete Essigsäure im Vakuum abdestilliert. Als Vorlage dient eine n/100 Jodlösung, in welcher die bei der Verseifung entstandene schwefelige Säure zu Schwefelsäure oxydiert wird. Durch Titration der Jodlösung mit n/100 Thiosulfat ergibt sich die Menge der übergegangenen schwefeligen Säure. Nach Aufkochen der Lösung zur Entfernung der Kohlensäure und vollständigem Abkühlen unter Verschuß eines Natronkalkrohres wird Natriumjodid und Natriumjodat zugefügt, nach 20 Minuten das ausgeschiedene Jod titriert. Die der Jodausscheidung zugrundeliegende Säuremenge ist nicht nur Essigsäure, sondern auch Schwefelsäure und Jodwasserstoffsäure, welche bei der Oxydation der schwefeligen Säure durch die vorgelegte Jodlösung, nach der Gleichung



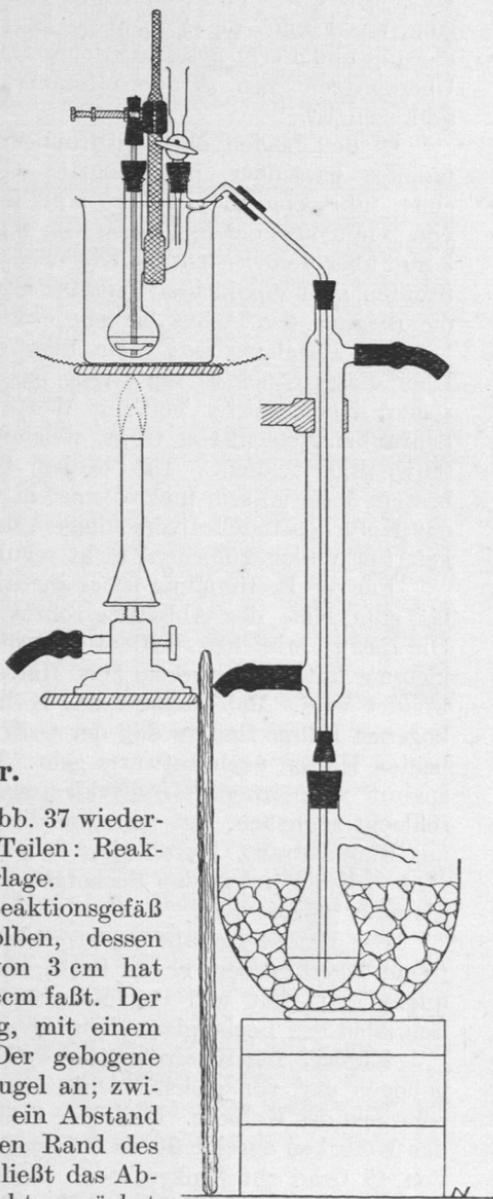
gebildet wurden.

Da der Jodverbrauch durch die schwefelige Säure bekannt ist, braucht man diesen nur mit 2 zu multiplizieren und vom Ergebnis der Schlußtitration abzuziehen; der Rest entspricht der Essigsäure.

Die Methode hat den Vorzug, daß sie eine sehr einfache Apparatur erfordert und die Titration der geringen Essigsäuremengen auf jodometrischem Wege gestattet.

¹⁾ Biochem. Ztschr. 251, 432, 1932.

Die Mikroacetylbestimmung auf jodometrischem Wege ist für alle Substanzen anwendbar, bei denen das entstehende Verseifungsprodukt nicht flüchtig ist. In diesen Bereich gehören die gesamten Verbindungen mit Acetyl am Stickstoff, da die entstehenden Verseifungsprodukte durch die Toluolsulfosäure salzartig zurückgehalten werden. Ferner die Acetylverbindungen der Kohlehydrate bzw. ihre Derivate und alle übrigen Verbindungen mit Acetyl am Sauerstoff, bei denen das Verseifungsprodukt bei Wasserbadtemperatur und dem durch eine Wasserstrahlpumpe erreichbaren Vakuum noch nicht flüchtig ist.



Die Apparatur.

Die Apparatur ist in Abb. 37 wiedergegeben. Sie besteht aus 3 Teilen: Reaktionsgefäß, Kühler und Vorlage.

Reaktionsgefäß. Das Reaktionsgefäß ist ein kleiner Claisen-Kolben, dessen Kugel einen Durchmesser von 3 cm hat und bis zum Hals rund 12 ccm faßt. Der gerade Hals ist 7,5 cm lang, mit einem Durchmesser von 1 cm. Der gebogene Hals setzt 2cm über der Kugel an; zwischen beiden Hälsen bleibt ein Abstand von 2 cm. Unter dem oberen Rand des gebogenen Halses (1 cm) schließt das Ableitungsröhrchen an. Es geht zunächst 1 cm horizontal, dann in einem Winkel von 45 Grad aufwärts und bildet ein

Abb. 37.

Knie von 90 Grad. Die beiden Schenkel des Knies sind 2 cm lang, das Lumen des Röhrchens ist rund 3 mm. Die Dimensionierung und Form des Reaktionsgefäßes ist so gewählt, daß ein Überspritzen von Toluolsulfosäure in den Kühler ausgeschlossen ist.

In den beiden oberen Öffnungen des Kolbens sitzt je ein tadellos passender, durchbohrter Gummistopfen. Durch den einen führt eine dickwandige Kapillare mit einem Durchmesser von 3 mm und einem Lumen von 0,2 bis 0,3 mm, welche 2 bis 3 mm über dem Boden des Kölbchens endet. Durch den zweiten Stopfen geht ein kleiner Trichter mit Hahn, dessen Ablaufrohr die Biegung des Halses beinahe erreicht.

Die Kapillare ragt 1 cm über den Gummistopfen hervor. Über dieses Stück ist ein streng passender Vakuumschlauch gezogen, dessen oberer Teil mit Watte vollgestopft ist und einen Schraubenquetschhahn trägt, welcher zur Regulierung der Geschwindigkeit dient. Die beiden Gummistopfen müssen aus bestem Material sein (nach längerem Gebrauch austauschen) und das Kölbchen tadellos verschließen, da sonst die Gasgeschwindigkeit (im Vorlagekölbchen) nicht regulierbar ist.

Für die Bestimmung ist es wichtig, daß das ganze Kölbchen bis zum Knie des Ableitungsrohres in das Wasserbad taucht. Um dies zu erreichen, bedient man sich einer gewöhnlichen Holzklammer mit Griff, wie sie zum Halten von Reagenzgläsern verwendet wird. Man klemmt das Kölbchen beim Ansatz des gebogenen Halses fest, so daß der Griff der Holzklammer zwischen beiden Hälsen nach aufwärts geht. Den Griff der Holzklammer spannt man in eine Stativklammer. Sollte die Holzklammer schlecht schließen, legt man um die beiden Hälse eine Schlinge aus Blumendraht. Durch diese Einrichtung kann man das Kölbchen beliebig tief in das Becherglas setzen, ohne mit der Metallklammer anzustoßen.

Das Becherglas faßt 500 ccm und ist in der Form so gewählt, (8 cm Durchmesser, 11 cm hoch), daß das ganze Kölbchen bequem Platz hat und das Kniestück des Ableitungsrohres am Schnabel des Becherglases beinahe aufliegt.

Kühler. Das Kühlrohr ist aus einem Stück Jenaer Geräteglas gebogen und von gleicher Dimensionierung wie das Ableitungsrohrchen des Kolbens. Der obere Teil des Kühlrohres, welcher an das Kölbchen anschließt, ist 7,5 cm lang und bildet einen Winkel von 45 Grad zur Senkrechten. Der senkrechte Teil richtet sich nach der Länge des Kühlmantels, welcher 20 bis 25 cm betragen soll. Der unter dem Kühlmantel vorstehende Teil des Kühlrohres wird zweckmäßig so lang gewählt, daß er mit seinem

unteren Ende vom Boden des Vorlagekölbchens einige Millimeter entfernt ist, wenn der Gummistopfen der Vorlage beim Gummistopfen des Kühlmantels anstößt. Dies hat den Vorteil, daß man zu Beginn der Destillation die Schale mit Eiswasser nicht zu entfernen braucht, um zu sehen, wie tief das Kühlrohr in die Flüssigkeit eintaucht, sondern einfach das Kölbchen hinaufschiebt bis der Gummistopfen anstößt.

Vorlage. Das Vorlagekölbchen hat die in der Zeichnung wiedergegebene Form, ist 11 bis 12 cm lang und faßt 50 bis 70 ccm. Wir verwendeten solche aus durchsichtigem Quarz und auch solche aus Jenaer Geräteglas. Für die jodometrische Bestimmung ist das Quarzkölbchen nicht erforderlich. Zum Kölbchen gehört ein tadellos sitzender, durchbohrter Gummistopfen, welcher ein Natronkalkrohr trägt, ferner ein einseitig abgeklebtes Schlauchstück, welches das Ansatzröhrchen verschließt.

Die gesamte Apparatur muß so hoch aufgestellt werden, daß das Vorlagekölbchen 15 bis 20 cm von der Tischplatte entfernt ist. Die Schale mit dem Eiswasser stellt man auf mehrere Holzplatten, um die Höhe derselben verändern zu können.

Heber. Zum Ablassen des Wassers aus dem Becherglas bedient man sich eines Hebers, welchen man aus einem zweimal rechtwinkelig gebogenen Glasrohr von nicht zu engem Lumen selbst herstellt. Der eine Schenkel soll 15 cm, der andere 25 cm lang sein, der Abstand der beiden Schenkel voneinander 10 cm. Über den längeren Schenkel gibt man ein Stück Gummischlauch als Wärmeisolierung.

Die Ausführung der Bestimmung.

Vorbereitung zur Analyse. Zur Vorbereitung wird zunächst das Reaktionskölbchen gereinigt. Man wäscht wiederholt mit Wasser, füllt dann das Kölbchen bis zum Kniestück des Ableitungsröhrchens mit Schwefelchromsäure und stellt es für 10 Minuten in ein siedendes Wasserbad. Beim Entleeren der heißen Säure soll hauptsächlich das Ableitungsröhrchen gut ausgespült werden. Das Kölbchen wird nach gründlichem Auswaschen mit Wasser unter Durchleiten eines Luftstromes über freier Flamme getrocknet. *In das Ableitungsröhrchen des Kölbchens (horizontaler Teil) schiebt man ein lockeres Wattebüschchen, welches eine weitere Sicherung gegen Überspritzen oder Überkriechen der Toluolsulfosäure darstellt.*

Ist der Kühler neu oder längere Zeit nicht in Gebrauch gewesen, so muß er ebenfalls mit heißer Schwefelchromsäure ausgespült und mit heißem Wasser gründlichst nachgewaschen werden.

Die Einwaage. Die Einwaage der Substanz (4 bis 7 mg) kann in einem Mikroporzellanschiffchen erfolgen, welches man in das horizontal liegende Kölbchen legt und mit einem Glasstab langsam hineinschiebt bis es in die Kugel gleitet. Dann stellt man das Kölbchen aufrecht und klopft mit dem Finger an die Wand, bis das Schiffchen umkippt und die Substanz auf den Boden des Gefäßes zu liegen kommt. Die Substanz kann auch sehr bequem mittels des Wägeröhrchens von H. Lieb direkt in das Kölbchen überleert werden (s. S. 77).

Zusammenstellung der Apparatur. Nach erfolgter Einfüllung der Substanz läßt man mit Hilfe einer Pipette, welche bis in die Kugel reicht, 1 ccm einer 25%igen wäßrigen Lösung von p-Toluolsulfosäure in das Kölbchen fließen, ohne den Hals zu benetzen.

Bei Analyse halogenhaltiger Acetylverbindungen gibt man nach Freudenberg¹⁾ bis zu 30 mg toluolsulfosaures Silber zu.

Dann führt man den Gummistopfen mit der Kapillare ein, wobei man bei Verwendung des Substanzschiffchens dieses beiseite schiebt, so daß es neben der senkrecht stehenden Kapillare zu liegen kommt. Wie früher erwähnt, reicht die Kapillare bis auf einige Millimeter über den Boden. Der Quetschhahn zur Gasregulierung ist vollkommen geschlossen. In die Öffnung des gebogenen Halses bringt man den Gummistopfen mit dem Trichter, dessen Hahn mit Vaseline gefettet ist. Beide Gummistopfen müssen dicht schließen. Über den äußeren Schenkel des Ableitungsröhrchens schiebt man ein 3 cm langes, mit Wasser gut gewaschenes Gummischlauchstück.

Das Kölbchen wird in die Holzklemme gespannt (eventuell mit einer Drahtschlinge versehen) und diese in der Stativklammer befestigt. Nun schiebt man den gut ausgewaschenen Kühler so an das Kölbchen, daß die beiden Röhren sich geradlinig Glas an Glas berühren, fixiert diese Stellung und schiebt das Gummistück über die Verbindungsstelle.

Als nächstes bereitet man das Eiswasser vor. Die Schale wird mit klein geschlagenem Eis beinahe vollgefüllt, dann mit Wasser versetzt, bis dasselbe die halbe Schalenhöhe erreicht.

In das gereinigte, getrocknete Vorlagekölbchen bringt man 1 g Jodkali und läßt dann aus der Mikrobürette genau 5 ccm einer annähernd n/100 Jodlösung zufließen, schwenkt um, bis sich das Jodkalium gelöst hat und schließt das Kölbchen an den Kühler. Man schiebt es so hoch, daß das Ende des Kühlrohres 1 cm von der Oberfläche der Jodlösung entfernt ist. Nun stellt man das vorbereitete Eiswasser zurecht, in welchem die Vorlage

¹⁾ l. c.

während der ganzen Bestimmung verbleibt. Anschließend dreht man den Kühler auf und läßt das Wasser lebhaft laufen.

Schließlich stellt man das Becherglas unter das Reaktionskölbchen, und zwar so, daß letzteres mit dem Kniestück des Ableitungsrohres am Schnabel des Becherglases beinahe aufsitzt (s. S. 164). Man füllt das Becherglas bis $\frac{2}{3}$ seines Volumens mit Wasser und erhitzt mit kräftiger Flamme (Drahtnetz ohne Asbest).

Die Verseifung. Sobald das Wasser aufkocht, dreht man die Flamme kleiner, um es in ruhigem Sieden zu erhalten. Bei der Bestimmung von Acetyl am Sauerstoff läßt man 20 Minuten kochen; bei Bestimmung von Acetyl am Stickstoff $1\frac{1}{2}$ Stunden.

Erste Destillation. Nach Ablauf der Verseifungszeit entfernt man die Gasflamme, nimmt den Heber, füllt ihn mit Wasser, verschließt den längeren Schenkel mit dem Daumen, taucht den kürzeren Schenkel in das Becherglas ein und läßt das ganze heiße Wasser abfließen. Dann füllt man das Becherglas bis knapp unter den Rand mit kaltem Wasser voll. Nun verbindet man das Vorlegkölbchen mit der Wasserstrahlpumpe (schaltet eventuell eine Waschflasche als Sicherung dazwischen) und dreht die Wasserstrahlpumpe langsam auf. *Man wartet einige Minuten bis sich das erreichbare Vakuum eingestellt hat. Erst dann schiebt man die Vorlage hoch, so daß das Kühlrohr bis auf wenige Millimeter vom Boden entfernt in die Jodlösung eintaucht.* Die Eiswasserschale erhöht man ebenfalls um das gleiche Stück.

Die nun folgende Regulierung des Gasstromes ist von größter Wichtigkeit. Man erfaßt den Schraubenquetschhahn an der Kapillare und öffnet langsam, bis einzelne Gasblasen durch die Toluolsulfosäure gehen. Nun beobachtet man genau die Gasgeschwindigkeit in der vorgelegten Jodlösung (eventuell senkt man für einige Sekunden die Eiswasserschale).

Der Gasstrom wird so einreguliert, daß nur eine Blase in 1 bis 2 Sekunden durch die Jodlösung geht. Man kontrolliert denselben durch einige Minuten. Ergeben sich hier Schwierigkeiten, so ist die Apparatur irgendwo undicht (Gummistopfen, Quetschhahnregulierung oder Glashahn des Trichters).

Ist die Gasgeschwindigkeit eingestellt, beginnt man wieder unter dem Becherglas zu heizen. In der Regel ist die Flüssigkeit im Reaktionskolben schon vollkommen abdestilliert, ehe das Wasser zu sieden beginnt. *Man wartet das Kochen des Wassers ab und läßt genau 5 Minuten lang sieden.* Dann entfernt man wieder den Brenner und hebert das heiße Wasser ab.

Zweite Destillation. Zur quantitativen Überführung der Essigsäure ist, wie bei der Methode von Pregl und Soltz¹⁾,

¹⁾ l. c.

eine zweite Destillation erforderlich. Zum Unterschied von der ersten Destillation ist jetzt das Vakuum bereits vorhanden und das Kühlrohr taucht in die Jodlösung. *Das Einfüllen von kaltem Wasser in das Becherglas ist daher vorsichtig durchzuführen, damit die Jodlösung nicht in das Kühlrohr zu weit zurücksteigt.*

Man läßt zunächst das kalte Wasser längs der Wandung des Becherglases zufließen, bis es den Boden des Kölbchens erreicht. Dann füllt man nach und nach höher, während man ständig die Jodlösung beobachtet. Zeigt sich ein Zurücksteigen, *öffnet man eventuell vorübergehend* etwas mehr den Quetschhahn an der Kapillare, um die Lösung in die Vorlage zurückzubringen. Ist schließlich das Becherglas bis knapp unter dem Rande mit kaltem Wasser gefüllt, läßt man aus dem Trichter tropfenweise rund 1 cm Wasser in das Kölbchen zufließen. Dann kontrolliert man wieder durch einige Minuten die Gasgeschwindigkeit im Vorlagekölbchen und reguliert sie eventuell von neuem wieder ein.

Ist alles in Ordnung, beginnt man wieder unter dem Becherglas zu heizen und läßt schließlich, wie bei der ersten Destillation, *das Wasserbad 5 Minuten kochen.*

Abschluß der Bestimmung. Nach Abschluß der zweiten Destillation geht man folgendermaßen vor:

1. Man stellt die Eiswasserschale auf den Boden des Tisches und schiebt die Vorlage so tief herab, daß das Kühlerende 3 cm über der Jodlösung steht. Nachher läßt man die Vorlage wieder in Eiswasser eintauchen.

2. Man klemmt den Vakuumschlauch in unmittelbarer Nähe des Vorlagekölbchens ab.

3. Man entfernt den Brenner und hebert das heiße Wasser aus dem Becherglas ab. Dann füllt man das Becherglas wieder mit kaltem Wasser voll und läßt neuerlich aus dem Trichter Wasser in das Reaktionskölbchen langsam zutropfen. Der Hahn des Trichters verbleibt in seiner Stellung, damit nach Ablauf des Wassers langsam Luft nachströmen kann.

4. Sobald das Vakuum aufgefüllt ist und im Reaktionskolben keine Luftblasen mehr durchgehen, zieht man den Druckschlauch vom Vorlagekölbchen ab.

5. Man schiebt das Schlauchverbindungsstück zwischen Reaktionskolben und Kühler zur Seite und dreht das Kühlerende nach vorne.

6. Das Kühlrohr wird mit destilliertem Wasser einige Male ausgespritzt, dann das Vorlagekölbchen vom Stopfen abgenommen (Eiswasserschale wegstellen) und das untere Ende des Kühlrohres

außen gut abgespritzt. Das Ausspülen des Kühlrohres innen, desgleichen das Abspritzen außen soll gründlichst geschehen, jedoch so, daß die Vorlage höchstens halb voll wird.

Die Titrationen.

Die vorgelegte Jodlösung wird sogleich nach der Abnahme vom Kühler mit $n/100$ Thiosulfatlösung zunächst auf helle Gelbfärbung, dann unter Zusatz von etwas Stärkelösung zu Ende titriert. Mit Erreichung der hellblauen Farbe titriert man nur mehr mit kleinsten Tröpfchen ($1/100$ ccm). Nach jedem Zusatz wartet man ein paar Sekunden (unter ständigem Schwenken), da die Umsetzung bei den geringen Mengen Jod die noch vorhanden sind, langsamer vor sich geht. Die Jodlösung läßt sich ohne jede Schwierigkeit auf $1/100$ ccm genau titrieren.

Nach Beendigung der Titration verschließt man das Ansatzröhrchen des Kölbchens mit einem abgequetschten Schlauchstück, legt das Natronkalkröhrchen zurecht und beginnt auf freier Bunsenflamme (nicht zu groß, ohne Kegel) bei schräggehaltenem Kölbchen zu erhitzen. *Sobald die Lösung kocht und die Oberfläche zu wallen beginnt, zählt man 5 Sekunden aus, verschließt dann sofort mit dem Natronkalkröhrchen und kühlt unter dem Wasserstrahl vollkommen ab.*

Zur abgekühlten Lösung, die nun frei von Kohlensäure ist, gibt man 1 bis 2 ccm einer 4%igen Kaliumjodatlösung, verschließt wieder mit dem Natronkalkrohr und läßt unter gelegentlichem, leichtem Umschwenken 20 Minuten stehen. Zweckmäßig stellt man das Kölbchen in eine passende Reibschale.

Während der Wartezeit prüft man den Titer der Jodlösung. Man läßt genau 5 ccm Jodlösung in ein 50 ccm fassendes, reines Erlenmeyerkölbchen abfließen, versetzt mit 1 g Kaliumjodid und fügt nach dem Auflösen *2 bis 3 Tropfen verdünnte Essigsäure* zu. Das Kölbchen wird 15 Minuten zugedeckt stehen gelassen und dann mit $n/100$ Thiosulfatlösung genau zurücktitriert.

Vom Thiosulfatverbrauch dieser 5 ccm Jodlösung subtrahiert man den Thiosulfatverbrauch der bei der Bestimmung vorgelegten Jodlösung. Die Differenz ergibt das Äquivalent der schwefeligen Säure. Die gefundene Differenz wird mit 2 multipliziert und vom Ergebnis der folgenden Endtitration abgezogen.

Nach Ablauf von 20 Minuten titriert man das im Vorlagekölbchen ausgeschiedene Jod (welches die Flüssigkeit infolge der anwesenden Stärke schmutziggrün färbt) zunächst auf blauen Farbton, dann sehr vorsichtig auf Entfärbung. Von dem Ver-

brauch der $n/100$ Thiosulfatlösung wird das früher berechnete doppelte Äquivalent der schwefeligen Säure in Abzug gebracht.

Nach Abschluß der Bestimmung wird die Apparatur zerlegt, der Vakuumschlauch samt dem Quetschhahn von der Kapillare abgenommen und diese durch Durchsaugen von Wasser gereinigt. Desgleichen muß auch der Trichter mit destilliertem Wasser gewaschen werden. Die Reinigung des Kölbchens erfolgt wie früher beschrieben.

Berechnung: $\log. \% \text{CH}_3\text{CO} = 63370 + \log. (\text{ccm } n/100 \text{ Thio- sulfat}) + (1 - \log. \text{Einwaage}).$

Fehlergrenze der Methode: $\pm 0,3\%$.

Bemerkungen zur Methode.

1. Der Verbrauch an Jod durch die schwefelige Säure ist minimal. Er beträgt 0,01 bis 0,1 ccm $n/100$ Jodlösung, in der Regel 0,04 bis 0,08 ccm. Ein größerer Verbrauch an Jod deutet auf eine fehlerhafte Durchführung der Bestimmung.

2. Der Zusatz von 1 g Jodkalium zur vorgelegten Jodlösung, die Kühlung der Lösung mit Eiswasser und ein mit Wasser gut durchströmter Kühler sind unerlässlich. Wird auf einem der drei Punkte nicht geachtet, ist ein verlässliches Analysenresultat nicht mehr zu gewärtigen.

3. Die vorgeschriebene Gasgeschwindigkeit während der Vakuumdestillation ist von ausschlaggebender Bedeutung. Das Eintauchen des Kühlerrohres in die Jodlösung darf immer erst dann erfolgen, wenn das Vakuum bereits vorhanden ist und der rasche Luftstrom aufhört.

4. Auch die vollkommene Reinigung des Absorptionskölbchens ist eine nicht zu umgehende Notwendigkeit. Wird das Kölbchen nach der Bestimmung nur mit Wasser gründlich gewaschen und getrocknet, so hinterbleibt eine nicht sichtbare, dünne fettige Schicht, welche die ganze Innenwandung samt Ansatzröhrchen klebrig macht und bei der folgenden Bestimmung einen erhöhten Acetylwert bedingt. Die Behandlung mit heißer Schwefelchromsäure muß daher vor jeder Bestimmung erfolgen.

5. Für Bestimmungen von Acetyl am Sauerstoff genügt die von F. Pregl und A. Soltys angegebene Verseifungsdauer von 20 Minuten. Bei Acetyl am Stickstoff ist die Verseifung erst nach einer Stunde quantitativ und muß der Sicherheit halber auf $1\frac{1}{2}$ Stunden ausgedehnt werden.