

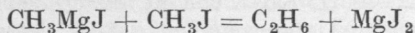
Bestimmung von aktivem Wasserstoff nach Tschugaeff und Zerewittinof.

Mikromethode für Hydroxylgruppen nach B. Flaschenträger.¹⁾

Die Methode zur Bestimmung des aktiven Wasserstoffes (Wasserstoffatome der Hydroxylgruppen, tautomeren Hydroxylgruppen, Sulfhydrylgruppen, Amino- und Iminogruppen) beruht auf der Umsetzung der aktiven Wasserstoffatome mit Methylmagnesiumjodid (Grignardsches Reagens) unter Bildung von Methan, welches in einer Gasbürette gemessen wird. Die Umsetzung kann nur in absolut wasserfreien und indifferenten Medien (Anisol, Mesitylen, Pyridin) erfolgen.

Die von Flaschenträger geschaffene Mikroapparatur stellt ungefähr die 10fache Verkleinerung der Makroapparatur dar und bedarf zur Ausführung der Bestimmung einer Substanzeinwaage von 3 bis 10 mg. Die Gasbürette faßt 4 ccm und ist in $\frac{1}{100}$ ccm geteilt. Prinzipiell neu ist die Anwendung der Gasbürette in Form eines U-Rohres, so daß neben dem Schenkel der Gasbürette parallel ein zweiter, oben geöffneter Schenkel (Vergleichsschenkel) sich befindet, welcher die Ablesung erleichtert.

Die in der Makroanalyse beobachteten Fehlermöglichkeiten kommen in der Mikromethodik stärker zum Ausdruck. Es handelt sich um Fehler, die einerseits zu einer fälschlichen Vermehrung, andererseits zu einer Verminderung des Methanvolumens führen. Die Ursachen fälschlicher Volumszunahme sind: 1. Der Feuchtigkeitsgehalt der Reagentien und der Apparatur. 2. Der Gehalt des Grignardschen Reagens an Methyljodid, welches sich mit dem Reagens selbst nach der Gleichung



bei erhöhter Temperatur umgesetzt. Volumsabnahme wird bedingt durch den Sauerstoffgehalt der Luft, welcher vom Grignardschen Reagens aufgenommen wird.

In der ursprünglichen Ausarbeitung der Methode von B. Flaschenträger wurden diese entgegengesetzt wirkenden Fehlerquellen nicht berücksichtigt und für die Berechnung der Analyse der im Mittel von 3 Blindversuchen gefundene Wert in Abzug gebracht. Später berücksichtigt B. Flaschenträger die

¹⁾ Ztschr. f. physiol. Chem. **146**, 219 (1925); Mikrochemie, Pregl-Festschrift S. 87 (1929).

Fehlerquelle durch den Jodmethylgehalt des Grignardschen Reagens und beseitigt den Fehler durch weitere Reinigung desselben (Erhitzen bei Wasserbadtemperatur im Vakuum).

Durch die in letzter Zeit veröffentlichten eingehenden Untersuchungen von H. Roth¹⁾ über die Mikrobestimmung des aktiven Wasserstoffes erfährt die Methode von Flaschenträger eine Abänderung. Der Autor fordert für die Durchführung der Mikrobestimmung die Anwendung von reiner Stickstoffatmosphäre (wie dies bereits durch Ph. und G. Marrian²⁾ erfolgte, um die durch den Luftsauerstoff bedingten Fehler vollkommen auszuschalten. Die Anwendung der Stickstoffatmosphäre bedingt eine Abänderung des Reaktionsgefäßes, welches mit Gaseinleitungsrohr und Schliff versehen wird.

Ferner wird der Verwendung von Anisol als Lösungsmittel der Vorzug gegeben, da dieses durch Behandlung mit Phosphorperoxyd absolut trocken erhalten werden kann, während die Trocknung des Pyridins (welches Flaschenträger verwendet) sehr schwer gelingt. Um den Anwendungsbereich der Methode nicht allzu sehr zu beeinträchtigen, schlägt Roth vor, bei Substanzen, die in Anisol nicht löslich sind, durch Zusatz von Pyridin die Lösung zu ermöglichen und den kleinen Blindwert zu berücksichtigen. Bei manchen Substanzen ist die Durchführung der Bestimmung bei erhöhter Temperatur (95 Grad) erforderlich, was zu einer Abänderung der Gasburette führte.

Die von Roth gefundenen Analysenwerte sind gleich denen von Flaschenträger vorzüglich ($\pm 3\%$ der theoretischen Wasserstoffmenge). Weitergehende Erfahrungen über den Zusatz von Pyridin zu Anisol liegen noch nicht vor, desgleichen über die Anwendung der Methode auf Sulfhydryl-Amino-Iminogruppen sowie tautomeren Hydroxylgruppen, deren Untersuchung in Aussicht gestellt ist.

Infolge der von H. Roth erst in letzter Zeit erfolgten Veröffentlichung seiner Untersuchungen ist es derzeit noch nicht möglich, zu entscheiden, welche Methode für die Praxis vorteilhafter ist. Es wird daher von der näheren Besprechung beider Methoden Abstand genommen und auf die angegebene Originalliteratur verwiesen.

1) Mikrochemie XI, 140 (1932).

2) Journ. biol. 24, 746 (1930).