

Die vorstehend unter I—IV beschriebenen Versuche führen für die praktische Hefegewinnung zu dem Schlusse, daß eine Verwertung des aufgenommenen Ammoniakstickstoffs für den Stoffwechsel der Hefe nur unter allmählicher Verkümmern wichtiger Lebesseigenschaften, insbesondere der Vermehrungsfähigkeit (Gewichtszunahme) wie Gärkraft erfolgt, wenn nicht zugleich in ausreichender, und zwar in erheblicher Menge organisch-chemische Stickstoffnahrung zur Verfügung steht. Ist aber dieser Bedingung genügt, werden also organische und anorganische Stickstoffnahrung in passender Mischung der Hefe dargeboten, so erweist sich die Ammoniaknahrung als vollkommen gleichwertig und kann somit innerhalb wirtschaftlich vorteilhafter Grenzen als billigerer aber vollwertiger Ersatz für die entsprechende Menge organischen Stickstoffs eintreten. Am deutlichsten treten natürlich diese Beziehungen hervor bei Verwendung von Lösungen, die nur den für das Wachstum optimalen Gehalt an Gesamtstickstoff enthalten und bei Verwendung stickstoffarmer Hefe. Geht man von großen Mengen stickstoffreicher Aussaathefe aus, so wird der Mangel an organischer Stickstoffnahrung wohl etwas ausgeglichen durch Abgabe aus dem mitgebrachten Vorrat der Mutterhefe an die zuwachsende Hefe und so die Verkümmern durch reine Ammoniaknahrung verlangsamt. Aber auch unter diesen Umständen reicht der mitgebrachte N-Gehalt der Mutterhefe nicht aus, um nun eine vollständige oder annähernd vollständige Ammoniakernährung für die Anforderungen der Praxis zu ermöglichen. Das zeigen gerade die oben wiedergegebenen Kurvenbilder, deren Zahlenergebnisse ja zur scharfen Prüfung dieser Möglichkeit aus Versuchen mit besonders hoher Aussaat (1% auf Lösung) an normaler stickstoffreicher Hefe abgeleitet sind.

Im Anschluß an die vorstehend beschriebenen Versuche, die der grundsätzlichen Klarstellung der Sachlage galten, sind dann eine Reihe weiterer Versuche angestellt worden, die sich auf die Hefegewinnung unter den betriebsmäßigen Arbeitsbedingungen der Praxis bezogen und insbesondere auch mit Erfolg darauf gerichtet waren, unter ausschließlicher Verwendung von anorganischen Salzen und Melasse, als Zucker- und organische Stickstoffquelle, eine Hefe von der vollkommen normalen Farbe und Haltbarkeit bester Preßhefe zu erzielen. Über diese Ergebnisse soll in einer folgenden Arbeit berichtet werden.

[A. 10.]

## Studien zur quantitativen Bestimmung des Anilins und seine titrimetrische Diazotierung.

Von TH. SABALITSCHKA und H. SCHRADER.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin.)

(Eing. 14./I. 1921.)

Der eine von uns (Sabalitschka) studiert seit längerem die Umsetzung saurer Salze in wässriger Lösung.<sup>1)</sup> Bei der Ausdehnung dieser Versuche auf die sauren Salze des Anilins war es nötig, eine nicht zu umständliche und doch möglichst genaue quantitative Bestimmung des freien Anilins und der Anilinsalze in wässriger Lösung zu ermitteln. Zuerst versuchten wir die von Allen<sup>2)</sup> angegebene Methode der quantitativen Fällung des dreiwertigen Eisens durch überschüssiges Anilin umgekehrt zur quantitativen Anilinbestimmung zu verwenden, indem wir Anilin mit Ferrisalz im Überschuß behandelten. Die Versuche führten zu keinem brauchbaren Ergebnis. Wellington und Tollens,<sup>3)</sup> ferner Pratesi<sup>4)</sup> beschreiben ein in Wasser unlösliches Reaktionsprodukt von Anilin und Formaldehyd. Auch dieses erwies sich nicht geeignet für eine quantitative Bestimmung des Anilins. Der Formaldehyd-Anilin-Niederschlag war keine einheitliche Substanz, seine Gewichtsmengen waren nicht gleichmäßig. Behandelten wir den Niederschlag mit heißem Benzol bis zur vollkommenen Lösung und ließen ihn dann erkalten, so schied sich ein kleiner Teil wieder kristallinisch ab. Eine weitere reichliche Kristallisation erhielt man beim Konzentrieren des Filtrates durch Eindampfen. Letztere schmolz bei 140° und entsprach somit dem von Tollens beschriebenen Anhydroformaldehydanilin. Die erste Kristallisation zersetzte sich von 175° an, ohne eigentlich zu schmelzen. Sie entsprach dem von Pratesi und von Miller und Plöchl<sup>5)</sup> als Polymerisationsprodukt erkannten Stoff. Nach Lunge,<sup>6)</sup> Sabalitschka und Daniel<sup>7)</sup> läßt sich Anilin nicht mit Hilfe der Indikatoren Phenolphthalein, Lackmus, Kurkuma, Jodeosin, Kongorot und Methylorange, nach unseren Versuchen auch nicht mit Alizarin und Cochenille scharf titrieren. Eine Notiz im Beilstein (II, 3. Aufl. [1896] 310) besagt, daß der violette Farbstoff von Dahlienblüten durch Anilin grün gefärbt würde. Beilstein teilt die Quelle dieser Angabe nicht mit. Sie scheint aber in den Lehrbüchern verbreitet zu sein.

So finden wir sie auch z. B. in dem bekannten Lehrbuch für pharmazeutische Chemie von E. Schmidt (II, 954, 4. Aufl., Braunschweig). Wir erhofften nun in dem Dahlienfarbstoff einen Indikator für die titrimetrische Anilinbestimmung. Den Herren Professor Dr. Diels und Garteninspektor Peters vom Botanischen Garten zu Berlin verdanken wir dunkelrote Dahlienblüten. Der wässrige Auszug der Blumenblätter war rot-violett. Er färbte sich aber im Gegensatz zu den vorstehenden Literatur-Angaben beim Schütteln mit Anilin nicht grün, die rot-violette Färbung ging nur ins Gelbliche über; erst nach Zusatz eines Tropfens Ammoniaklösung trat eine schöne grüne Farbe auf. Bei der Titration des Anilindisulfats mit Kalilauge (Indikator: Dahlienfarbstoff, durch Säure feuerrot) geht die rote Farbe allmählich ins Gelbliche über, bis die ganze Säure durch die Kalilauge gebunden ist. Die Angabe, daß Dahlienfarbstoff durch Anilin grün gefärbt wird, hat sich also nicht bestätigt und bedarf der Richtigstellung in den Hand- und Lehrbüchern. Eine dunkelblaurote Lösung des Rotkohlfarbstoffes wird beim Schütteln mit Anilin gelblichgrün. Auf Zusatz von einem Tropfen Säure schlug die Farbe trotz Gegenwart des überschüssigen freien Anilins wieder in Rot um. Auch der Farbstoff der dunkelroten Malven erwies sich als Indikator für die Anilintitration nicht brauchbar.

Lunge berichtet in den „Chemisch-technischen Untersuchungsmethoden“ (6. Aufl., IV, 693), daß zur Wertbestimmung von Natriumnitrit in den Farbenfabriken vielfach eine Methode üblich sei, mit der man den Diazotierungsprozeß im kleinen nachmache. Bei den Prüfungsmethoden von Anilin weist Lunge auf diese beim Natriumnitrit gemachte Mitteilung hin. Wie uns bekannt ist, wird in der Technik auch die Diazotierung zur quantitativen Bestimmung des Anilins zum Teil benutzt. Die Technik arbeitet zwar nicht selten mit Methoden, die für genaue Bestimmungen im Laboratorium nicht brauchbar sind. Wir konnten aber feststellen, daß dieses für die titrimetrische Diazotierung nicht zutrifft.

Zur Diazotierung dient Normal-Natriumnitritlösung; deren Gehalt an  $\text{NaNO}_2$  wird durch Einstellen gegen reines sulfanilsaures Natrium ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2\text{SO}_3\text{Na} + 2\text{H}_2\text{O}$ ) ermittelt, dessen Gewinnung Lunge beschreibt.<sup>8)</sup> Die Natriumsulfanillösung wird mit drei- bis vier Mol Schwefelsäure (berechnet auf das Sulfanilsalz) versetzt, der entstehende Niederschlag durch Erwärmen gelöst, das Gemisch abgekühlt und unter Kühlung tropfenweise Natriumnitritlösung zugegeben. Nach jedem Tropfen ist das Reaktionsgemisch gut durchzuschütteln. Anfangs verläuft die Diazotierung ziemlich rasch, gegen Ende der Reaktion aber immer langsamer. Dann ist die Tüpfelprobe auf Jodkaliumstärkepapier immer erst mehrere Minuten nach dem Zusatz des Natriumnitrittropfens auszuführen. Die Diazotierung halten wir für beendet, wenn die Lösung das Jodkaliumstärkepapier sofort blau färbt, obwohl seit dem Zusatz des letzten Tropfens des Nitritlösung bereits eine Viertelstunde vergangen ist. Natürlich soll das Reaktionsgemisch vor Zusatz des letzten Tropfens freie salpetrige Säure nicht mehr enthalten haben.

Wir stellten die Natriumnitritlösung, die ja zur quantitativen Bestimmung von Anilin dienen sollte, meist direkt gegen reines Anilin ein anstatt gegen das Natriumsalz der Sulfanilsäure. Bei der Diazotierung von Anilin sind mindestens zwei- bis drei Mol Schwefelsäure auf ein Mol des Anilins zuzusetzen. Hat man keinen Anhaltspunkt für die Anilinmenge, so ist eben soviel Schwefelsäure hinzuzugeben, daß dieser Überschuß von Schwefelsäure sicher erreicht wird. Die Titration des Anilins wird ebenso ausgeführt wie die eben für das sulfanilsaure Natrium beschriebene. Wir arbeiteten stets mit Lösungen die in 100 ccm weniger als 5 g, meist nur 1–2 g Anilin enthielten und erzielten dabei gutbrauchbare Resultate. So fanden wir durch die titrimetrische Diazotierung folgende Werte:

angew. Anilin g	$\frac{n}{1}$ $\text{NaNO}_2$ Lösung ccm	gefund. Anilin g
1,018	10,91	1,015
1,686	18,15	1,689

An der Schnelligkeit, mit der die salpetrige Säure nach dem jeweiligen Zusatz der Natriumnitritlösung verbraucht wird, kann man erkennen, wie weit man vom Endpunkt der Reaktion noch entfernt ist. Anfangs ist es gestattet, mehrere Tropfen auf einmal dem Reaktionsgemisch zuzusetzen. Wenn die salpetrige Säure aber nur noch langsam aufgenommen wird, darf der Zusatz nur mehr Tropfen für Tropfen erfolgen. Die Titration von 1–3 g Anilin erfordert ungefähr  $\frac{3}{4}$ – $\frac{5}{4}$  Stunden. Es ist — wenn überhaupt möglich — angezeigt, zuerst durch eine rohe Titration den Anilingehalt ungefähr zu ermitteln und durch eine zweite Titration genau festzustellen. Bei der zweiten Titration ist dann die Zahl der auszuführenden Tüpfelproben und somit auch der Verlust an Lösung wesentlich geringer. Wenn man gegen Ende der Diazotierung nur allmählich die Natriumnitritlösung zugibt und auch stets für Kühlung durch Eisstücke enthaltendes Wasser sorgt, gibt die titrimetrische Diazotierung des Anilins gute Resultate.

[A. 9.]

<sup>8)</sup> Chem. Zeit. 28, 501 [1904].

<sup>1)</sup> B. 50, 1227 [1917]; 52, 567, 1378 [1919]; 53, 1383 [1920]; B. d. Deutsch. Pharmazeut. Ges. 30, 481 [1920].

<sup>2)</sup> Jour. American. Chem. Soc. 25, 421 [1903].

<sup>3)</sup> B. 17, 657 [1884]; 18, 3309 [1885].

<sup>4)</sup> Gazz. chim. 14, 351 [1884]; B. 18, Ref. 71.

<sup>5)</sup> B. 25, 2028 [1892].

<sup>6)</sup> Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden.

<sup>7)</sup> B. d. Deutsch. Pharmazeut. Ges. 30, 481 [1920].