

Zur Bestimmung kleiner Mengen Fluor-Ion in pflanzlichem Material

Von Dr. Ing. H. v. ZEHMEN, Tharandt, Chem. Abt. der Sächs. Forstl. Versuchsanstalt

Unter den bisher im Schrifttum angegebenen Verfahren¹⁾ kamen für die Bestimmung von Fluor-Spuren zur Erörterung von Rauchgasschäden in Betracht 1. das von früheren Forschern benutzte und von Kraft u. May²⁾ zur Bestimmung von Fluor-Spuren in Blut und Wässern spezialisierte Verfahren, das auf der Bildung von Farblacken aus Zirkon-Salzen und organischen Farbstoffen und Zersetzung durch Fluor beruht, 2. das „Einheitsverfahren“ der Fachgruppe für Wasserchemie des V. D. Ch., bei dem sich der Endpunkt der Farbtonänderung, da in verd. wässriger Lösung, nur langsam einstellt. Die vorgeschriebene Zeit von 4 h genügt nicht immer; als Substanzmenge benötigt man in der Regel 5–10 g. Bei dem Verfahren nach Kraft u. May genügen je nach dem Fluor-Gehalt 0,2–2 g, und der Endpunkt stellt sich, da in stark saurer Lösung, schon beim langsamen Titrieren ein. Die Genauigkeit ist bei beiden Verfahren annähernd gleich. Beim „Einheitsverfahren“ lassen sich Lösungen etwa mit der Lösung, die 0,3 cm³ Vergleichslösung = 30 γ F enthält, einstufen, bei dem Verfahren nach Kraft u. May lassen sich bei nur einiger Übung und gutem Tageslicht Fluorid-Mengen bestimmen, die etwa 0,5 cm³ Standardlösung verbrauchen, also 10 γ enthalten; das letztere ist also etwas genauer, es wurde deshalb und aus obigen Gründen im Folgenden benutzt.

Die Art, wie Kraft u. May den F-Gehalt der benutzten Salzsäure in Abzug bringen, und warum sie zur Testlösung 6 n HCl und zur Standardlösung 8 n HCl verwenden, ist nicht klar. Im Vorliegenden wurde folgendermaßen verfahren:

Zwei gleichgroße Reagensgläser wurden jedes für sich mit undurchsichtigem Papier umwickelt, so daß der Boden für die Durchsicht von oben frei blieb, und beide nebeneinander gebunden. Test- und Standardlösung wurden mit 6 n HCl angesetzt. Der Rückstand der eingedampften Destillatmenge wurde mit 10 cm³ Testlösung aufgenommen und in das außen mit „A“ bezeichnete Reagensglas gebracht, in das andere, mit „T“ gekennzeichnete Glas wurden 10 cm³ Testlösung allein gebracht. Letzteres, T, wurde nun durch Zulaufenlassen von Standard-Fluorid-Lösung aus einer Bürette auf Farbgleichheit „titriert“, die verbrauchten cm³ abgelesen und ebensoviel einer 6 n Salzsäure (bereitet aus derselben Säure, die zum Ansatz der beiden genannten Lösungen gedient hatte) zu A gegeben, und zuletzt durch Zulaufenlassen von weiterer Standardlösung wieder auf Farbgleichheit gebracht. Die gesamten cm³ benötigter Standardlösung, mit 20 multipliziert, geben die in der eingedampften Analysenlösung vorhanden gewesene Menge F in γ an.

Die so erhaltenen Werte lagen bei der F-Bestimmung in einer bekannten wässrigen Fluorid-Lösung bei Anwendung

¹⁾ Folgende 2 Methoden: Die potentiometrische nach Flatt, diese Ztschr. 50, 829 [1937], und die nephelometrische nach Hersfeld, Z. analyt. Chem. 115, 127 [1938/39], die für vorliegende Zwecke vielleicht besonders geeignet ist, konnten wegen Fehlens der nötigen Apparaturen hier nicht ausgeführt werden.

²⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 246, 233 [1937], ref. von Hinsberg u. Lang in: Mediz. u. Chem. 1938, S. 43.

Vorschläge

zur rationellen Durchführung der chemischen Bestimmung von Vitamin C

Von Dr. HERMANN M. RAUEN und Dr. MARIA DEVESCOVI.

Aus dem chemisch-biologischen Laboratorium der Soc. An. Prodotti alimentari G. Arrigoni & Co., Triest, im Hauptwerk Cesena (Forlì)

I.

Das als Überwachungs- und Kontrollorgan in die laufende Produktion eingeschaltete chemische Laboratorium einer Konservenfabrik hat eine große Anzahl von periodischen Analysengängen durchzuführen, an Hand deren Ergebnisse dann die „Güteziffer“ der Produktionen und somit deren Gleichmäßigkeit und Qualität bestimmt bzw. die Herstellungsgänge entsprechend ausgerichtet werden können. Dies bedingt nicht nur einen größeren Stab an fachlich vorgebildeten Arbeitskräften, sondern auch, soweit irgend möglich, eine Vereinfachung bzw. rationelle Gestaltung sämtlicher gebrauchten Untersuchungsverfahren, seien sie chemischer, physikalischer oder organoleptischer Natur. Wir haben immer wieder festgestellt, daß fast alle Analysenverfahren bei gleicher Genauigkeit in viel kürzerer Zeit durchgeführt werden können, z. B. dadurch, daß man besondere Apparate und Geräte konstruiert, stets das gleiche Gerät an seinem dafür vorbestimmten Platz bereit hält, und schließlich dadurch, daß einzelne Arbeitsläufe eines Analysenganges auf verschiedene Personen verteilt

von solchen Mengen, die 10, 20, 30 usw. bis 80 γ F entsprachen, im Koordinatensystem auf der Titrationsgeraden.

Schwankungen treten dagegen auf, sobald keine reine Fluorid-Lösung vorliegt sondern ein wässriges Destillat, das sich ergibt aus pflanzlicher Substanz (Coniferennadeln oder Laubblätter), deren Asche mit Schwefelsäure destilliert worden war. Der Erfolg hängt hier wesentlich von der Art der Veraschung ab. Ist diese nicht vollständig, so erhält man zu hohe Werte, erhitzt man zu hoch beim Veraschen, so tritt Verlust an Fluor ein.

Das Veraschen erfolgt in einer Platin-Schale, in der man die Substanz nach Zugabe von etwas Wasser mit nur soviel reinstem Kalkhydrat versetzt (etwa 0,1 g), daß in dem meist grünen Pflanzenmaterial mit Phenolphthalein gerade die alkalische Reaktion erkennbar ist, gut verrührt und zur Trockne verdampft. Ein Mehr an Kalk ist entgegen der Voraussetzung schädlich, da dann die Veraschung länger dauert und nur bei höherer Temperatur möglich ist, wodurch wesentliche F-Verluste eintreten. Man stellt die Schale 5–8 cm über einen so klein gestellten Pilzbrenner, daß sie auf keinen Fall zur, auch nur schwachen, Rotglut kommt, die Substanz zuerst nur verschwelt und danach langsam verglimmt. Um die Entzündung der Gase zu vermeiden, stellt man die Schale auf das entsprechend große Loch einer Asbestplatte. Die nun noch vorhandenen Kohleteilchen werden durch vorsichtige Zugabe von jedes Mal einigen Tropfen von unverdünntem Perhydrol Merck und darauffolgendes langsam steigendes Erhitzen über dem zuerst klein gestellten Pilzbrenner zersetzt — auch hier unter peinlichem Vermeiden der beginnenden Rotglut. Auf diese Weise ist die Oxydation der Kohleteilchen bis zur hellen Asche bei so niedriger Temperatur möglich, daß F-Verluste weitgehend vermieden werden, was bei Benutzung von z. B. Ammonitrat nicht möglich wäre. Die Asche wird nun mit insgesamt etwa 30 cm³ Wasser in einen 150 cm³-Claisen-Kolben gespült und dieser sowie auch die zuzusetzende Schwefelsäure mit Eis gekühlt. Es sind genau 200 cm³ überzudestillieren in eine durch verd. Natronlauge eben alkalisch zu haltende Vorlage, von der dann solche aliquoten Teile eingedampft werden, daß bei der folgenden colorimetrischen Bestimmung zwischen etwa 1,5 und 4 cm³ Standardlösung verbraucht werden.

Als Blindwert ergab sich bei den hier benutzten Chemikalien 30 γ in 200 cm³ Destillat.

Ergebnis von 5 so durchgeführten Bestimmungen:

2,00 2,30 2,25 2,05 2,10 cm³ Standardlösung für 25 cm³ Destillat verbraucht.

Berechnung:

$$\begin{aligned} \text{z. B.: } 2,00 \text{ cm}^3 &= 40 \gamma / 25 \text{ cm}^3 = 320 \gamma / 200 \\ &\quad - 35 \gamma \text{ Blindwert} \\ &\quad \hline &\quad 285 \gamma \end{aligned}$$

Der so errechnete Mittelwert aus den 5 Bestimmungen ist 307 γ oder 0,000307 g gefunden statt 0,000300 g angewandt.

Eingeg. 2. März 1944. [A. 20.]

werden; falls diese nur stets wiederkehrende Handgriffe auszuführen haben, werden sie so eingearbeitet sein, daß die mechanischen Abläufe immer gleichmäßiger und infolgedessen individuelle Fehler seltener werden.

II.

Die Bestimmung des Vitamins C (Ascorbinsäure + Dehydroascorbinsäure) bei der Qualitätskontrolle von Konserven haben wir nach diesen allgemeinen Richtlinien modifiziert. Zunächst übten wir das Verfahren vorwiegend an Frischtomaten, Tomatensaft und Tomatenkonzentraten¹⁾ und dehnten es dann versuchsweise auch auf andere Naturprodukte bzw. Konserven aus, so insbes. auf Orangen, Orangenpulpen und Mehl aus getrockneten Orangenschalen²⁾. Uns erschien das alte Verfahren von Tillmans³⁾, d. h. Titration eines Ex-

¹⁾ H. M. Rauen, Schweiz. Med. Wschr. 72, 987 [1942], vgl. auch die demnächst in der Chem. Technik erscheinende ausführliche Arbeit.

²⁾ H. M. Rauen, M. Devescovi u. N. Magnani, Z. Unters. Lebensmittel 85, 257 [1943].

³⁾ Vgl. hierzu die Zusammenstellung der gebräuchlichsten chemisch-physikalischen Vitaminbestimmungsmethoden in F. Gstirner: Chemisch-physikalische Vitaminbestimmungsmethoden, Stuttgart 1939.

traktes mit einer $\frac{1}{1000}$ Lösung von 2,6-Dichlorphenol-Indophenol unter besonderen Bedingungen am geeignetsten. Es ist unerlässlich, neben der hydrierten Form des Vitamins C (l-Ascorbinsäure) auch die dehydrierte Form (Dehydro-ascorbinsäure) mitzubestimmen, da diese ebenfalls vitaminwirksam ist⁴). Alle Arbeiten, die nur Ascorbinsäure berücksichtigen, sollten durch neuerliche Bestimmung beider Formen des Vitamins C überprüft und erweitert werden. Wie wir gefunden haben, wird in manchen Fällen (z. B. Tomatenkonzentrate u. a.) mehr als 30% des insges. vorhandenen Vitamins C außer acht gelassen, falls Dehydroascorbinsäure nicht erfaßt wird.

Das zeigt ein Versuch aus dem Erntejahr 1941.

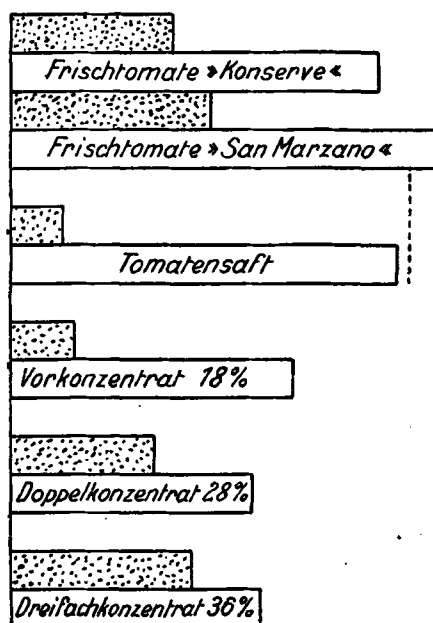


Abb. 1.

Endprodukt durchläuft der Fabrikationsgang alle hier bestimmten Zwischenstufen: Tomatensaft — Vorkonzentrat — Doppelkonzentrat — Dreifachkonzentrat. Wir sehen schon hier, daß mehr als die Hälfte des Gesamtvitamins C in der Dehydro-Form vorliegt (Gesamtvitamin C — Ascorbinsäure). Wir deuten den Mittelwert aus „Konserve“ und „San Marzano“ durch die punktierte Linie an. Im Arbeitsgang: Frischtomaten → Tomatensaft geht also, wie der Vergleich zeigt, nur ein geringer Prozentsatz (2,8%) Gesamtvitamin C verloren. Hätten wir nur die Ascorbinsäure bestimmt, so wären wir zu einem falschen Bild gekommen. Man müßte dann ablesen, daß sehr viel mehr Vitamin C zerstört worden wäre als den Tatsachen entspricht. Während des Arbeitsganges wird also die Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure oxydiert (Dehydrierung). Im darauffolgenden Arbeitsgang: Tomatensaft → Vorkonzentrat (18% Tr.) gehen nunmehr 26,4% Gesamtvitamin C verloren, während der Prozentsatz an Ascorbinsäure auf Kosten der Dehydroascorbinsäure, zunimmt. In den beiden letzten Arbeitsgängen: Tomatensaft → Doppelkonzentrat und Tomatensaft → Dreifachkonzentrat finden wir jeweils einen etwa gleichen Schwund an Gesamtvitamin C. Das bedeutet, daß von Konzentrationsstufe 28% Tr. zu derjenigen 36% Tr. nahezu kein Vitamin C-Verlust mehr eintritt. Wahrscheinlich ist die Tomatenmasse nunmehr ausreichend pastös geworden, und die vorhandenen natürlichen Schutzstoffe haben eine genügend hohe Konzentration erreicht, um das Vitamin C zu schützen. Wie man sieht, steigt der Ascorbinsäure-Anteil am Gesamtvitamin C stetig an. Würden wir also nur diese bestimmt haben, so wären wir zu absurden Ergebnissen gelangt.

III.

Unser Analysengang entspricht in seinen Grundzügen den bekannten Verfahren, weicht jedoch in seiner technischen Ausführungsform ab. Es müssen jeweils Doppelbestimmungen vorgenommen werden. Von gewissen Produkten, die z. Zt. noch stärker streuende Einzelwerte ergeben, weil ein völlig eindeutiges Extraktionsverfahren noch nicht gefunden ist, um alle störenden Begleitstoffe abzusondern, empfiehlt es sich, drei gleiche Einzelextraktionen vorzunehmen, oder besser,

solche mit verschiedenen Mengen an Ausgangssubstanz (z. B. Einwaage von 3—6 und 10 g). Homogene Produkte von breiiger oder flüssiger Konsistenz können ohne weiteres zur Extraktion gegeben werden. Feste Produkte (Trockengemüse, dieses vorerst jedoch noch mit großem Vorbehalt! — Obst- und Frischgemüsesorten u. a.) müssen entweder zunächst in geeigneter Mühle zermahlen oder, was aber durchaus kein befriedigendes Verfahren darstellt, mit einem rostfreien Messer mit der Hand zerschnitten werden. Bei Trockengemüse bedient man sich einer Mühle mit auswechselbaren Mahl-scheiben für das Zerkleinern von trockenerem oder feuchterem Produkt.

Während homogene flüssige (Säfte) und breiige (Tomatenkonzentrate, Pulpen usw.) Produkte direkt in Erlenmeyerkolben eingewogen werden können, müssen andere inhomogene Materialien zunächst in einer Porzellanmühle (Kugelmühle nach Bloch-Rosetti) zusammen mit Extraktionsflüssigkeit und Quarzsand zermahlen werden. Trockengemüse (2—5 g) läßt man zunächst im bedeckten Becherglas 1 h mit 50 cm³ Extraktionsflüssigkeit, möglichst unter Beigabe eines erbsengroßen Stückchens Trockeneis, aufquellen und spült dann das Ganze in den Mahlbecher über. Frischobst oder -gemüse wird vorher zerkleinert und in den Mahlbecher eingewogen, u. zw. möglichst rasch, sonst treten während des Zerkleinerns Oxydasen in Tätigkeit, welche einen empfindlichen Verlust an Vitamin C bewirken können. Dann werden jeweils 2—3 g gewaschener Quarzsand mittlerer Korngröße zugefügt, zur Verdrängung der Luft ein bohngroßes Stückchen Trockeneis beigegeben und (unter Verschuß mit einem Begasungsdeckel) solange zermahlen, bis das Mahlprodukt vollkommen homogen ist. Dann wird direkt in die 200-cm³-Meßkolben übergespült.

Als Extraktionsflüssigkeit erwies sich eine Lösung von 2% Metaphosphorsäure und 3% Trichloressigsäure als für uns am geeignetsten. Wir nutzen hierbei einmal die bekannte Schutzwirkung⁵) der Metaphosphorsäure gegenüber dem Vitamin C aus, dann auch ihre Fähigkeit, mit Eiweißstoffen schwerlösliche Niederschläge zu bilden⁶). Hierdurch erreichen wir eine leichtere Ausflockung der Trubstoffe, insbes. der Proteine, welche durch Zusatz der Trichloressigsäure als einem spezifischen Eiweißfällungsmittel noch verstärkt wird.⁷)

Von flüssigen, breiigen oder homogenen, leichtquellenden Materialien (Tomatenmehl, Gemüsemehle) wiegen wir, je nach dem zu erwartenden Vitamingehalt, 2,5—5 oder 10 g in einen 250-cm³-Erlenmeyerkolben ein, fügen sofort 70—80 cm³ Extraktionsflüssigkeit hinzu und lassen $\frac{1}{2}$ h unter Einleiten von N₂ extrahieren. Fruchtpulpen, die mit SO₂ konserviert sind, werden ebenso behandelt, nur wird unter langsamem Kochen (unter Stickstoff-Einleitung) während $\frac{1}{4}$ h extrahiert. Dann wird filtriert bzw. vorher unter N₂-Durchleiten unter fließendem Wasser schnell abgekühlt.

Wir trennen die das Vitamin C enthaltende Flüssigkeit von den Trubstoffen und dem Quarzsand nach dem alten Verfahren von Tillmans, indem wir durch ein Nesseltuch geeigneter Maschengröße filtrieren. Auf besonders konstruierten Filtriergestellen werden 200-cm³-Meßkolben aufgestellt, die zur Verdrängung der Luft mit 5 cm³ Normalbenzin versetzt sind. Auf diesen befinden sich Jenaer Spezialtrichter mit angefeuchteten Nesseltüchern. Der Inhalt der Mahlbecher wird nun quantitativ mit Extraktionsflüssigkeit auf den Trichter gespült, wobei der Extrakt i. allg. glatt durchläuft. Das gleiche geschieht mit dem Inhalt der Erlenmeyerkolben. Breiige Produkte lassen sich etwas schwerer filtrieren. Die Masse auf den Tüchern wird so lange mit Extraktionsflüssigkeit nachgewaschen, bis die Meßkolben zur Marke gebracht worden sind. Wie wir feststellten, war dann das gesamte Vitamin C extrahiert. Nunmehr werden die Kolben mit Normalbenzin angefüllt, um die Luft restlos zu verdrängen, mit Glasstopfen verschlossen und gut umgeschüttelt.

Viele Produkte liefern einen völlig klaren oder nur leicht getrübbten Extrakt (Frischtomaten, Tomatensaft, Einfachkonzentrat, Orangen u. a.), während andere schon stärker getrübt sind (Dreifachkonzentrat, Tomatenmehl). Im allg. stört eine leichte Trübung bei der Titration nicht. Stark gefärbte Säfte müssen nach dem bekannten einfachen Verfahren unter Zuhilfenahme von Nitrobenzol oder Chloroform titriert werden.

⁴) Tillmans u. Mitarb., Z. Unters. Lebensmittel 63, 276 [1932]; 65, 45 [1933]. Johnson u. Mitarb., Biochemic. J. 27, 287 [1933]; Zilva, Nature 131, 363 [1933]; Hirst u. Zilva, Biochemic. J. 27, 127 [1933]; Fox u. Levy, ebenda 30, 211 [1936]; Strohecker u. Vauel diese Ztschr. 40, 666 [1936]; Vendrami u. Olivetti, Quad. Nutriz. 6, 394 [1939].

⁵) Fujita u. Iwatake, Biochem. Z. 277, 293 [1935]; Jamamoto u. Mitarb., Osaka Igakkar Zasshi 33, 8529 [1934]; Farmer, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 34, 146 [1936].

⁶) G. Perlmann, J. biol. Chemistry 137, 707 [1941].

⁷) Birch, Harris u. Ray, Biochemic. J. 27, 590 [1933]; Fujita u. Ebihara, Biochem. Z. 290, 172 [1936].

Aus dem 200-cm³-Kolben werden nun zunächst die zur Titration der Ascorbinsäure benötigten Mengen, meist 10 bis 20 cm³, herauspipettiert und in 50-cm³-Erlenmeyerkölbchen gefüllt. Man titriert am besten in gleichmäßigem, künstlichem Tageslicht, um von allen Schwankungen in der optischen Zusammensetzung des natürlichen Tageslichtes und seiner Intensität unabhängig zu sein. Wir gebrauchen eine Blauglas-Stablampe, welche so abgeschirmt ist, daß sie nur eine unter der Bürette befindliche weiße Porzellanplatte beleuchtet. Das Titriergefäß wird also nur durch Reflektion von dieser weißen Unterlage aus illuminiert. Bürette und Beleuchtungseinrichtung befinden sich in einem schwarz ausgeschlagenen Abschirmkasten. *OH*⁹⁾ hat zwecks besserer Feststellung des Farbumschlages ein *Vitaminometer* ausgearbeitet, das von *Hellige* in Freiburg hergestellt wird. Jedoch kann in den meisten Fällen der Farbumschlag hinreichend genau auch mit bloßem Auge gesehen werden. Die Lösung von 2,6-Dichlorphenol-Indophenol¹⁰⁾ soll nicht zu alt sein, weil sich mit der Zeit braune Zersetzungsprodukte bilden, die die Titration empfindlich stören. Bei fortlaufenden Massenbestimmungen wird man die Lösung jedoch schon frühzeitig verbrauchen. Wir benutzen eine automatische 25-cm³-Bürette mit 1/10-cm³-Einteilung. Die Bürette sowie das Vorratsgefäß befinden sich ständig in Stickstoff-Atmosphäre. Aus einem Gasometer wird mit Hilfe eines Gummiballes Stickstoff in das Vorratsgefäß der Titrierlösung gepumpt und diese dadurch in die Bürette gedrückt. Der obere Raum der Bürette steht mit dem Gasometer zum Druckausgleich in Verbindung. In die mit der zu titrierenden Flüssigkeit gefüllten Erlenmeyerkölbchen wird ebenfalls mit Hilfe eines dünnen gebogenen Röhrchens Stickstoff eingeleitet. Hierdurch wird einerseits die Luft verdrängt, andererseits eine ständige Durchmischung beider Lösungen erreicht. Wir halten das Entfernen des in der Titrierlösung gelösten Luft-Sauerstoffes sowie die Titration in N₂-Atmosphäre — neben der Einstellung des zu titrierenden Extraktes auf p_{H^+} — für die wichtigsten Punkte zur Erreichung eines exakten Umschlagspunktes bei der Titration.

Zur Bestimmung des Gesamtvitamins C werden jeweils 100 cm³ der Extraktionsflüssigkeit in 200-cm³-Meßkolben pipettiert und nunmehr nach dem Vorschlag von *Emmerie* u. *van Eekelen*¹⁰⁾ 20 cm³ einer Lösung von 125 g Bleiacetat und 500 g Natriumacetat in 1000 cm³ Wasser und 20 cm³ einer Lösung von 125 g Quecksilberacetat in 1000 cm³ Wasser mit Hilfe von automatischen Pipetten zugefügt.

⁹⁾ *M. OH*, diese Ztschr. 51, 537 [1938]; Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. 1939, 10.
¹⁰⁾ Die Lösung von 2,6-Dichlorphenol-Indophenol wird nach den bekannten Vorschriften bereitet und mit n/100-Lösung von Mohrschem Salz eingestellt.
¹¹⁾ *Biochemic. J.* 28, 1151 [1934]; 30, 25 [1936]; *Z. Vitaminforsch.* 8, 150 [1937]; 7, 254 [1938].

Durch das Quecksilberacetat wird Ascorbinsäure neben der bereits vorhandenen Dehydroform zu Dehydro-ascorbinsäure oxydiert, diese wird durch anschließend eingeleitetes H₂S¹¹⁾ vollständig zu Ascorbinsäure reduziert. Nach den genannten Autoren genügt zur Reduktion der Dehydroascorbinsäure eine etwa 12-stündige Einwirkung von H₂S bei p_{H^+} 2; nach neueren Feststellungen von *Fujita* u. *Ebihara*¹²⁾ soll die Reduktion in saurer Lösung jedoch unvollständig sein.

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Kolben werden nun mit Gummistopfen verschlossen, durch deren Bohrung ein gebogenes, bis auf den Boden reichendes Glasrohr geht. Um die H₂S-Einleitung zu beschleunigen, wurde eine Schüttelmaschine mit hoher Frequenz und kleinem Hub konstruiert. Jeweils 4 Kolben werden auf diese Maschine aufgespannt, die Glasröhrchen mit Gummischläuchen verbunden, die mit dem H₂S-Kipp in Verbindung stehen und mit dem Einleiten begonnen. Vor Inbetriebnahme der Schüttelmaschine müssen die Gummistopfen nur lose aufgesetzt werden, um die Luft aus den Gefäßen zu verdrängen. Es wird so lange unter Schütteln H₂S eingeleitet, bis der schwere Sulfid-Niederschlag sich gut absetzt. Nunmehr wird unterbrochen, die Kolben zur Marke mit Wasser aufgefüllt und mit ihren Glasstopfen verschlossen. Man schüttelt gut um und läßt über Nacht stehen.

Am anderen Morgen wird durch ein Faltenfilter filtriert und das völlig klare und meistens auch ungefärbte Filtrat vom H₂S befreit. Dieser Vorgang dauert erfahrungsgemäß lange. Um ihn wesentlich abzukürzen, gebrauchen wir Jenaer Gaswaschflaschen mit Glasfrittenplatte. Wir füllen jeweils 60—70 cm³ in eine Waschflasche, verbinden je 6 Waschflaschen auf der Absaugseite, jeweils unter Zwischenschaltung eines Dreiweghahnes mit einer Wasserstrahlpumpe und auf der Einsaugseite direkt mit dem Reduzierventil einer Stickstoff-Bombe. Nachdem die Wasserstrahlpumpe in Betrieb gesetzt wurde, wird die Stickstoff-Bombe vorsichtig geöffnet, so daß ein nicht zu heftiger Gasstrom nachströmt. Um nach beendeter Einleitung auf H₂S-Freiheit prüfen zu können, wird zunächst die Stickstoff-Bombe stärker aufgedreht, dann das u. U. noch bestehende geringe Vakuum im System durch Öffnen eines Dreiweghahnes nach dem freien Schenkel hin aufgehoben. Nach Schließen der Wasserstrahlpumpe kann dann an den freien Schenkeln der Dreiweghähne mit einem angefeuchteten Bleiacetat-Papier auf Abwesenheit von H₂S geprüft werden. Die das nunmehr völlig in der hydrierten Stufe vorliegende Vitamin C enthaltende Flüssigkeit wird titriert, wie oben beschrieben.

Eingeg. 22. Mai 1943. [A. 45.]

¹¹⁾ *Borsock, Davenport, Jeffreys* u. *Warner*, *J. biol. Chemistry* 117, 287 [1937].
¹²⁾ *Biochem. Z.* 300, 136 [1939].

ZUSCHRIFTEN

Verschiebung und Aufspaltung der SO₄-Normalfrequenzen in Alkalisulfat-Kristallen und ihre theoretische Deutung.

Von J. Goubeau, R. Heerdt und Klaus Schäfer, Vierjahresplan-Institut für Molekülspektroskopie und Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen.

Es wurden nach der Kristallpulver-Methode die Ramanlinien des SO₄-Ions in den wasserfreien Alkalisulfat-Kristallen — einschließlich des Ammonsulfats — gemessen mit dem Ziele der Auffindung der Verschiebung der Einzellinien und der Aufspaltung der entarteten Schwingungen des regulären Tetraeders durch das innere Kristallfeld¹⁾. Wie gewöhnlich heben sich die

Knickschwingungen auf den Aufnahmen nur schwach von dem kontinuierlichen Untergrund ab. Ihre Festlegung geschah deshalb durch zahlreiche Einzelaufnahmen und mehrmalige Wiederholung ihrer Auswertung. Dadurch konnte die zentralsymmetrische Schwingung I mit einer Genauigkeit von ± 3 cm⁻¹ vermessen werden, während bei den übrigen Linien die Genauigkeit ungefähr ± 10 cm⁻¹ beträgt. Weiter gestützt wird der experimentelle Befund dadurch, daß es nachträglich gelang, die gefundene Linienverschiebung und Aufspaltung absolut zu berechnen. Diese

¹⁾ Einzelne Linien einiger dieser Kristalle waren schon früher von *H. Nisi*, *Proc. physico-math. Soc. Japan* 14, 214 [1932], 15, 463 [1933]; *P. Krishnamurti*, *Indian J. Physics Proc. Indian Assoc. Cultivat. Sci.* 5, 1, 183, 633 [1930]; *N. Embrikos*, *Z. Physik* 65, 266 [1930] vermessen worden.

Schwingung	Li ₂ SO ₄		Na ₂ SO ₄		K ₂ SO ₄		Rb ₂ SO ₄		(NH ₄) ₂ SO ₄		Cs ₂ SO ₄	
	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.
2 _g	518 (s)	517 (2)	455 (sss) (495 (s))	465 484	444 457		435 447		435 446		428 437	
3 _g	722 (s)	656 690 (2)	625 (s)	625 642 (2)	608 620 (2)		601 611 (2)		601 611 (2)		594 608	
1 _g	1017 (m)	1020	994 (sst)	995	984 (sst)	981	976 (st)	975	975 (st)	975	972 (st)	970
3 _g	1110 (sss)	1120 1112 (2)	1108 (s)	1111 1107 (2)	1108 (s)	1107 1104 (2)	1102 (s)	1105 1102 (2)	1105 (m)	1105 1102 (2)	1102 (ss)	1108 1100 (2)

Intensitäten: sss = äußerst schwach, ss = sehr schwach, s = schwach, m = mittel, st = stark, sst = sehr stark, (2) doppelt entartet.