

des Globins bedingt sein. Durch Aufnahme von Sauerstoff entsteht dann in alkalischer Lösung aus dem Hämochromogen das als Hämatin bezeichnete Gemisch.

Es war nun wichtig, die Möglichkeit einer Porphyrin-Bildung an diesem Stoff zu prüfen, da ein positiver Verlauf darüber orientieren konnte, ob und in welcher Weise die ungesättigten Seitenketten des Hämins an der Hämochromogen- resp. der Hämatin-Bildung beteiligt sind. In der Tat scheinen sie betroffen worden zu sein, doch verbietet mir das Mißtrauen, das ich nun auch in diese Versuche des Hrn. Clement setze, auf die Resultate derselben näher einzugehen. Ich möchte daher nur bemerken, daß bei der Einwirkung von Bromwasserstoff-Eisessig (spez. Gew. 1.46) auf Hämatin zwei krystallisierte Porphyrine erhalten wurden. Das eine ist in Äther nicht löslich, enthält kein Methoxyl, trotzdem bei der Aufarbeitung ähnlich wie bei der Herstellung des Hämatoporphyrin-dimethyläthers aus Hämin eine Behandlung mit Methylalkohol vorgenommen wurde, und ist durch die Formel $C_{34}H_{34}O_5N_4$ wiederzugeben. Das zweite Porphyrin ist ätherlöslich, enthält ein Methoxyl und Brom und stellt eine einbasische Säure von der Formel $C_{34}H_{35}O_3N_4Br$ vor, wonach bei seinem Entstehen eine Abspaltung von Kohlendioxyd eingetreten ist. Ich gedenke, über diese Porphyrine eingehender zu berichten, sobald die nun notwendig gewordene Nachprüfung abgeschlossen ist.

210. Heinrich Jörg: Mikro-Molekulargewichts-Bestimmung.

[Aus d. II. Physikal. Institut d. Universität Wien.]

(Eingegangen am 19. März 1927.)

In letzter Zeit wurden mehrfach kryoskopische und ebullioskopische Methoden zur Bestimmung des Molekulargewichtes unter Verwendung kleiner Substanzmengen beschrieben. Die Methode von Rast¹⁾ (Schmelzpunkts-Depression in Campher) ist wegen des hohen Schmelzpunktes des Camphers nur für solche campher-lösliche Substanzen mit hohem Siede- oder Sublimationspunkt, die sich bei 170—180° nicht zersetzen, anwendbar. Die ebullioskopischen Methoden von Pregl²⁾ und Rieche³⁾ sind von äußeren Einflüssen, wie Flammengröße, Gasdruck, Geschicklichkeit des Experimentators, stark abhängig und liefern leicht zu niedere Werte, da sich stets ein Teil des Lösungsmittels im Gasraum, an den Gefäßwänden und am Thermometer befindet, somit die Lösung konzentrierter und die Siedepunkts-Erhöhung größer wird.

Die kryoskopische Halb-mikromethode von Fromm und Friedrich⁴⁾ liefert ebenfalls leicht zu niedere Werte. Bei der Ausführung der Bestimmung in 3 g Naphthalin und bei einer Unterkühlung um 1° werden zur Wiederwärmung des Thermometers, der Gefäße und der Schmelze folgende Wärmemengen benötigt:

¹⁾ B. 55, 1051 [1922].

²⁾ Pregl: Die quantitative organische Mikro-analyse, 2. Aufl., S. 194 [1923].

³⁾ B. 59, 2181 [1926].

⁴⁾ Ztschr. angew. Chem. 39, 824 [1926].

Für	22 g Hg	(spez. Wärme 0.033 ⁵)	0.73 cal.
"	3.5 g Glas	(„ „ 0.19 ⁵)	0.66 cal.
„ mindestens	0.9 g Wasser	(„ „ 1.0)	0.9 cal.
„	3.0 g Naphthalin	(„ „ 0.442 ⁶)	1.33 cal.
Zusammen:			3.62 cal.,

wobei Verluste durch Wärmestrahlung und Wärmeleitung nicht berücksichtigt sind. Damit diese Wärmemengen verfügbar werden, müssen mindestens 0.1 g Naphthalin (= 3.5 %) (Schmelzwärme 34.69 cal.⁶) auskristallisieren. Die Lösung wird konzentriert, und ihr Schmelzpunkt, nicht aber der des reinen Lösungsmittels, sinkt. Daher wird das Molekulargewicht um mindestens 3.5 % zu niedrig gefunden.

Eine weitere Fehlerquelle kann dadurch entstehen, daß bei der Verwendung zu weiter Reagensgläser das Quecksilbergefäß des Thermometers nicht vollständig vom Lösungsmittel bedeckt wird⁷). Keinesfalls kann bei dieser Bestimmung mit kleineren Substanzmengen das Auslangen gefunden werden.

Ein Großteil der Wärmeverluste und Fehlerquellen kann bei Verwendung eines Thermo-elementes vermieden und die Methode als exakte Mikromethode ausgebildet werden. Es wird die Schmelzpunkts-Depression aus der Spannung ermittelt, die ein Thermo-element liefert, dessen eine Lötstelle sich im erstarrenden reinen Lösungsmittel, dessen zweite Lötstelle sich in der erstarrenden Lösung befindet.

Als Thermo-element findet bei Temperaturen bis zu 100° ein Kupfer-Konstantan-Kupfer-Element Anwendung, dessen elektromotorische Kraft pro Grad Temperaturdifferenz der Lötstellen 41×10^{-6} Volt beträgt. Bei Temperaturen über 100° ist ein System Silber-Konstantan-Silber vorzuziehen⁵). Das Thermo-element wird durch Verlöten von Kupfer- bzw. Konstantan-Drähten von etwa 0.5 mm Querschnitt hergestellt.

Als Meßinstrument wurde ein Schleifen-Galvanometer der Firma Zeiß verwendet. Dieses besteht aus einem in Schleifenform zwischen den Polen von 2 permanenten Magneten aufgehängten Metallband aus leichter Metallfolie. Die beiden Magneten stehen einander mit den ungleichnamigen Polen gegenüber, so daß bei Stromdurchgang durch die Schleife deren beide Arme nach der gleichen Seite ausschlagen, somit der Ausschlag der Schleife doppelt so groß wird als bei nur einem Magneten. Die Schleifen-Ausschläge werden durch ein Mikroskop betrachtet, in dessen Okular-Gesichtsfeld eine 100-teilige Skala angeordnet ist. Die Vergrößerung dieses Mikroskopes ist 80-fach, kann jedoch durch Aufsetzen eines Zusatz-Mikroskopes auf das 640-fache gesteigert werden. Die Steigerung der Vergrößerung auf das 8-fache hat auch eine Erhöhung der Empfindlichkeit auf das 8-fache zur Folge. Da bei der 640-fachen Vergrößerung der Rand, der mit einer Nitralampen-Einrichtung direkt beleuchteten Schleife zu unscharf würde, erzeugt man durch Einschalten einer Schlitzblende zwischen Schleife und Beleuchtungs-

⁵) Kohlrausch: Leitfaden der praktischen Physik. ⁶) C. 1905, II 946.

⁷) Fromm und Friedrich führen als Beispiel einer Molekulargewichts-Bestimmung u. a. eine Bestimmung an Veronal in Naphthalin aus. Veronal, $C_8H_{12}O_3N_2$ (nicht $C_6H_{12}O_3N_2$) hat das Mol.-Gew. 184 (nicht 160) und ist in Naphthalin schwer löslich. Es ist, nach privater Mitteilung, ein Irrtum unterlaufen. Die Bestimmung wurde in Phenol ausgeführt und ergab das Mol.-Gew. 176.

linsen ein Interferenzbild der Schleife, dessen scharf begrenzte Streifen sich zur Abbildung auf der Skala des Okulars gut eignen.

Das Galvanometer-Gehäuse ist in einer Gabel um eine horizontale Achse drehbar angeordnet, so daß die Schleife einmal in hängender, stabiler Lage, für die geringere Empfindlichkeit oder nach Drehung des Gehäuses um 180° stehend, in labiler Lage für eine ca. 5—6-mal größere Empfindlichkeit verwendet werden kann. Der innere Widerstand des Galvanometers beträgt ca. 6—10 Ohm. Die Ausschläge der Schleife lassen sich auch objektiv durch Projektion auf eine Mattscheibe oder einen Projektionsschirm darstellen. In letzterem Falle ist als Lichtquelle eine Bogenlampe nötig.

Die Empfindlichkeit des Galvanometers⁸⁾ beträgt im Durchschnitt für je einen Skalenteil des Okular-Mikrometers:

bei hängender Schleife und 80-facher Vergrößerung etwa

3×10^{-7} Amp., entspr.	2.4×10^{-6} V., etwa 0.057 ⁰ ,
bei hängender Schleife und 640-facher Vergrößerung	etwa
3.7×10^{-8} Amp., entspr.	3×10^{-7} V., etwa 0.007 ⁰ ,
bei stehender Schleife und 80-facher Vergrößerung	etwa
6×10^{-8} Atm., entspr.	4.8×10^{-7} V., etwa 0.012 ⁰ ,
bei stehender Schleife und 640-facher Vergrößerung	etwa
7.5×10^{-9} Amp., entspr.	6×10^{-8} V., etwa 0.0015 ⁰ ,

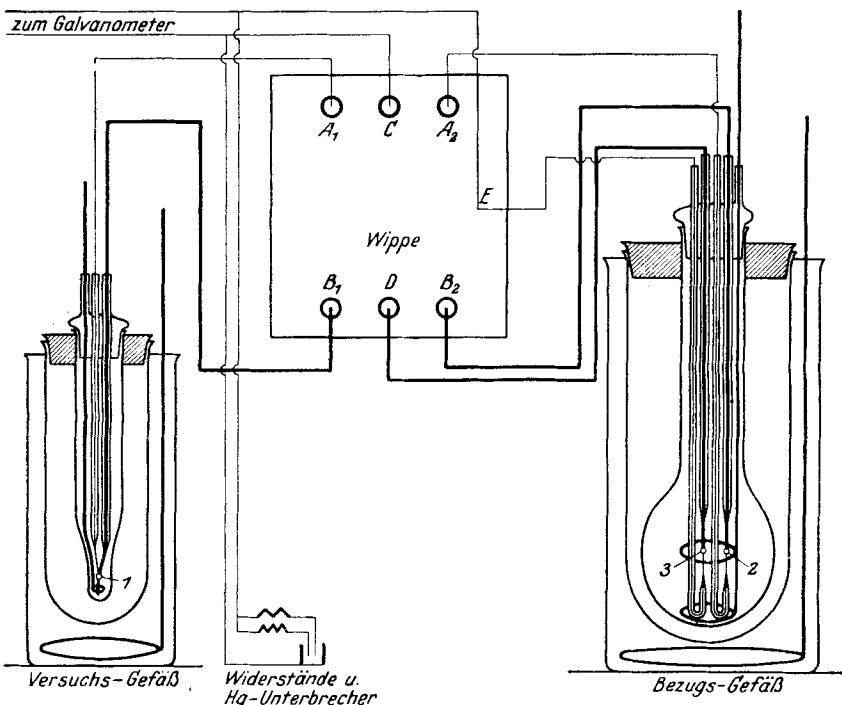
bei einem angenommenen Gesamtwiderstand der Apparatur von 8 Ohm.

Als Versuchsgefäß dient eine dünnwandige Zentrifugen-Eprouvette, die sich, von einem Luftmantel umgeben, in einem Bad befindet. (Für Bestimmungen mit größeren Substanzmengen verwendet man gewöhnliche Reagensgläser. Bei höheren Temperaturen ist ein Ölbad geeigneter als ein Wasserbad.) Auf die Eprouvette ist ein Stopfen aufgeschliffen, durch welchen 2 Glasröhren bis etwa 2 cm über den Boden führen und ein kurzes, etwas weiteres, drittes Glasrohr Platz für den Rührer gibt. Durch die beiden längeren Glasröhren werden ein Kupfer- und ein Konstantan-Draht eingeführt und die Röhren am Ende abgeschmolzen. Die Verlötzung der Drähte erfolgt derart, daß sich die Lötstelle etwa 5 mm über den Eprouvetten-Boden befindet und einer der Drähte bis nahe zum Boden reicht. Dieser Draht dient als Führung für den Rührer, der aus einem dünnen Glassstäbchen gebogen wird. Das Rühren kann auch elektromagnetisch erfolgen. Im Luftmantel können einige Windungen eines Heizdrahtes eingebaut werden, mittels dessen das Auftauen der Lösung erfolgen kann, falls man es nicht vorzieht, die Eprouvette herauszuheben und das Auftauen durch Eintauchen in ein entsprechend warmes Bad vorzunehmen.

Als Bezugsgefäß verwendet man einen Kjeldahl-Kolben mit ca. 50–60 g Inhalt, der gleichfalls mit einem Luftmantel umgeben und in ein Bad eingetaucht wird. Durch den aufgeschliffenen Stopfen führen 2 Glasröhren bis unter den Kolbenhals, in die 2 Konstantan-Drähte eingeschmolzen werden; 2 Glasröhren führen bis nahe zum Boden und werden hier umgebogen; sie dienen zur Aufnahme der eingeschmolzenen Kupferdrähte und zur Führung des Rührers, der durch ein 5. Glasrohr herausragt. Je ein Kupfer- und ein Konstantan-Draht werden derart aneinander gelötet, daß sich die Lötstellen in der Mitte der Kugel befinden. Das Rühren kann auch hier elektromagnetisch erfolgen.

⁸⁾ Die Empfindlichkeiten des verwendeten Galvanometers waren geringer.

Statt der aufgeschliffenen Stopfen können auch gut passende Kautschukstopfen mit der entsprechenden Zahl von Bohrungen verwendet werden. Bei hygrokopischem oder veränderlichem Lösungsmittel werden die Glasrohre, die zur Aufnahme der Rührer dienen, mit einer Kautschukblase verschlossen. Bei Lösungsmitteln, die dissoziierend wirken oder die Metalle angreifen, sind zur Vermeidung galvanischer Ströme die Lötstellen und die Drähte bis zur Einschmelzstelle mit einem schützenden Lack zu überziehen. Zumeist wird sich hierzu Bakelit-Lack eignen. In letzterem Falle wird auch im Versuchsgefäß ein Röhrchen zur Führung der Rührer, wie im Bezugsgefäß, auszubilden sein, um ein Abschaben des Lackes zu verhindern.



Die Wippe wird auf Korkfüße gestellt und im Innern einer geräumigen Pappschachtel untergebracht, um die verschiedene Erwärmung der Klemmen und Verbindungen hintanzuhalten. Die Umschaltung der Wippe erfolgt durch Bindfäden, die am Griff der Wippe befestigt und durch kleine Löcher der Pappschachtel gezogen werden. Die Schaltung der Wippe ist folgende: Die beiden Zuführungen zum Galvanometer werden in den Klemmen C und E (letztere Doppelklemme wird separat auf dem Boden der Wippe aufgekittet) angeschlossen; zu E führt noch der Kupferdraht einer Lötstelle (3) des Bezugsgefäßes, während der entsprechende Konstantan-Draht zu Klemme D führt. Der Kupferdraht aus dem Versuchsgefäß wird in A¹, der Konstantan-Draht in B¹ festgeschraubt, während in A² (Kupfer) und B² (Konstantan) die Drähte der zweiten Lötstelle des Bezugsgefäßes angeschlossen sind.

Es sind somit mit der Wippe zwei Stromkreise zu schließen. Bei der Stellung 2 der Wippe ist der Stromkreis:

Lötstelle 2-A²C-Galvanometer-E-Lötstelle 3-DB²-Lötstelle 2 geschlossen und dient zur Ermittlung des Schmelzpunktes des reinen Lösungsmittels. Der andere Stromkreis:

Lötstelle 1-A¹C-Galvanometer-E-Lötstelle 3-DB¹-Lötstelle 1 ermöglicht die Schmelzpunkts-Bestimmung an der zu untersuchenden Lösung.

Statt der Wippe kann auch ein einfacher Quecksilber-Umschalter verwendet werden; es müssen dann die drei Konstanten-Drähte in deren Nähe gut leitend verbunden sein.

Ein kleiner Quecksilber-Unterbrecher ermöglicht es, einen oder mehrere Widerstände zum Galvanometer parallel zu schalten. Diese haben $\frac{1}{10} - \frac{1}{50}$ des Galvanometer-Widerstandes und setzen die Empfindlichkeit des Galvanometers auf $\frac{1}{10} - \frac{1}{50}$ herab; sie sollen bei großen Temperaturschwankungen ein Ankleben der Schleife am Gehäuse verhindern. Die Zuleitungen zum Galvanometer und zum Unterbrecher müssen gut verdrillt sein. Sämtliche in Quecksilber tauchende Metallteile sind sorgfältig zu amalgamieren und die Drähte der Thermo-elemente, soweit sie aus den Glaskörpern herausragen, mit Isolierschlüuchen zu überziehen⁹⁾.

Zur Ausführung der Bestimmung füllt man das Bezugsgefäß bis zum Hals mit reinem Lösungsmittel, taut dieses, wenn nötig, auf, unterkühlt es um wenige Grade und bringt es durch kräftiges Röhren zum teilweisen Erstarren. Die Temperatur des Bades stellt man auf die Erstarrungs-Temperatur des Lösungsmittels oder wenig darunter ein. So kann man es erreichen, daß im Bezugsgefäß stundenlang die Temperatur konstant bleibt; es ist nur nötig, während des Versuches öfters umzuröhren. Während dieser Operationen hält man den Nebenschluß-Stromkreis geschlossen.

Man schaltet nun die Wippe wie zur Bestimmung des Schmelzpunktes des Lösungsmittels erforderlich, öffnet den Nebenschluß-Schalter und schaltet das Galvanometer so, daß sich dessen Marke, je nachdem diese bei Abkühlung des Versuchsgefäßes steigt oder fällt, etwa auf 30 oder 70 befindet.

In das Versuchsgefäß wägt man einige Milligramm der zu untersuchenden Substanz und die entsprechende Menge Lösungsmittel ein, tant auf, mischt gut durch und setzt in den Luftmantel ein. Die Badtemperatur des Versuchsgefäßes hält man $1 - 2^{\circ}$ unter der Erstarrungs-Temperatur des Lösungsmittels.

Der Nebenschluß-Stromkreis wird wieder geschlossen, die Wippe umgelegt und, sobald die Marke am Galvanometer sich dem eingestellten Nullpunkt nähert, der Nebenschluß wieder geöffnet. Nun wartet man, bis die Schmelze um einige Zehntelgrade unterkühlt ist, und bringt sie dann durch gleichmäßiges Röhren zum Erstarren.

Im Galvanometer-Mikroskop beobachtet man hierbei das Ansteigen der Temperatur. Am höchsten Punkt, dem Erstarrungspunkt, bleibt sie einige Zeit konstant, um dann allmählich wieder zu sinken. Ist das Maximum erreicht, liest man ab, schlägt die Wippe um und liest den Erstarrungspunkt des reinen Lösungsmittels ab.

Letzteres ist nötig, da der Nullpunkt beim Galvanometer, namentlich wenn dieses abwechselnd mit stehender und hängender Schleife verwendet wird, sich während der Versuchsdauer etwas verschiebt.

Nun schließt man wieder den Nebenschluß und wiederholt die Bestimmung einige Male.

Nach der Ausführung der Bestimmung entfernt man die Versuchslösung, spült die Drähte und den Rührer des Versuchsgefäßes mit reinem Lösungsmittel ab und bestimmt dann den Erstarrungspunkt des reinen Lösungsmittels, wie soeben den der

⁹⁾ Die beschriebene Apparatur kann von der Präzisionsglasbläserei Hans Stepan, Wien IX., bezogen werden.

Lösung. Es kann vorkommen, daß dieser nun mit dem aus dem Bezugsgefäß ermittelten nicht identisch ist. Dies röhrt von Verunreinigungen des Quecksilbers in der Wippe her, und man korrigiert mit dem so bestimmten Wert die ermittelte Depression. Es ist nicht notwendig, diese Korrektur nach jedem Versuche zu ermitteln, da sie sich längere Zeit nicht ändert.

Die Ausführung der Molekulargewichts-Bestimmung ist einfacher als sie sich mit Worten beschreiben läßt. Sie kann auch von mit der Apparatur nicht vertrauten Personen in wenigen Minuten durchgeführt werden. In nachstehender Tabelle I sind Mittelwerte von Bestimmungen angeführt, die im Laufe eines Nachmittags, bei hängender Schleife und bei 640-facher Vergrößerung ausgeführt wurden. Das Thermo-element war aus Drähten von 0.50 mm Querschnitt hergestellt. Die Versuche in Tabelle II wurden mit einer Apparatur unter Fortlassung der Wippe, gleichfalls bei hängender Schleife und 640-facher Vergrößerung, ausgeführt. Im Bezugsgefäß war nur eine Lötstelle; die Erstarrungspunkte des reinen Lösungsmittels wurden vor und nach jedem Versuch ebenso bestimmt wie der der Lösung. Augewendet wurde ein Thermo-element aus 0.20 mm starken Drähten.

Die Spalte Δ gibt die theoretisch errechnete Schmelzpunkts-Depression in Graden Celsius, die Spalte ϑ die abgelesene Depression in Teilstrichen des Galvanometers an. In der letzten Spalte Δ/ϑ sind die Temperaturen angegeben, wie sie sich für einen Teilstrich des Galvanometers aus der gefundenen Depression ermitteln lassen.

Tabelle I.

mg	Substanz	vom Mol.-Gew.	in mg Naphthalin	Δ	ϑ	Δ/ϑ
4.99	Anthracen	178	484	0.376	11.6	0.032
5.02	Kaffein	194	438	0.409	13.5	0.030
8.66	Diphenylamin	169	557	0.633	21.1	0.030
5.03	Guajacol-carbonat ...	274	468	0.278	9.3	0.030
2.52	p-Nitranilin	138	403	0.313	10.3	0.030

Tabelle II.

mg	Substanz	vom Mol.-Gew.	in mg Naphthalin	Δ	ϑ	Δ/ϑ
402.0	Salol	214	7845	1.652	35.5	0.046
100.0	Anthracen	178	7000	0.554	12.3	0.044
21.13	"	178	639	1.282	28.2	0.045
3.45	"	178	312	0.429	9.6	0.045
7.69	"	178	502	0.594	14.1	0.042
3.78	p- Nitranilin	138	564	0.335	8.5	0.040

Zum Schluß möchte ich Hrn. Prof. Dr. Eduard Haschek, Wien, für die Überlassung von Instrumenten zu den Versuchen, sowie für seine wertvollen Ratschläge bestens danken.