

In den Autoklaven wurde mittelst einer Mikrobürette die zur Herstellung des gewünschten Gemisches berechnete Menge Benzol eingefüllt und hierauf die entsprechende Luftmenge aufgespresst. Nach Durchmischung und Aufheizung wurde gezündet, wobei der hohe Überdruck bei Vorliegen explosiver Gemische knallartig durch das Sicherheitsventil entwich. Verpuffung oder unterbliebene Reaktion konnten gasanalytisch kontrolliert werden. Für die eindeutige Bestimmung und Bestätigung eines Grenzwertes waren normalerweise 8–15 Explosionsversuche notwendig.

Herrn *J. J. Peterli* danken wir für die Mithilfe bei den experimentellen Arbeiten.

Zusammenfassung.

Es wurde der Zündbereich von Benzoldampf/Luft-Gemischen bis zu Temperaturen von 400° und Drucken von 100 at experimentell bestimmt und in einem p-T-Raumdiagramm festgelegt.

Technisch-chemisches Laboratorium,
Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich.

61. Zur Mikrotitration organischer Verbindungen: Teil II: Messung scheinbarer Dissoziationskonstanten in den Systemen Methylcellosolv/Wasser und Dimethylformamid/Wasser

von **W. Simon** und **E. Heilbronner**.

(25. I. 55.)

1. Problemstellung.

Im vorliegenden Teil II sollen die Lösungsmittel-Systeme Methylcellosolv/Wasser und Dimethylformamid/Wasser im Hinblick auf ihre Anwendbarkeit bei der Mikrotitration organischer Verbindungen in der im Teil I¹⁾ beschriebenen halbautomatischen Apparatur (oder in einer analogen Apparatur) untersucht werden. Die Beschränkung auf diese beiden Lösungsmittel-Systeme findet ihren Grund darin, dass a) mit dem System Methylcellosolv/Wasser im hiesigen Laboratorium bereits bei der manuellen Mikrotitration organischer Verbindungen²⁾ gute Erfahrungen gemacht wurden und ein umfangreiches experimentelles Material zur Verfügung steht³⁾ und b) das System Dimethylformamid/Wasser anderenorts verschiedentlich zur Mikrobestimmung

¹⁾ *W. Simon, E. Kováts, L. H. Chopard-dit-Jean & E. Heilbronner, Helv. 37, 1872 (1954).*

²⁾ *W. Ingold, Helv. 29, 1929 (1946); Mikrochemie 36, 276 (1951).*

³⁾ Vgl. vor allem: *V. Prelog u. Mitarb., Helv. 31, 1325 (1948); 32, 1851 (1949); 33, 150, 365, 2021 (1950); 34, 1139, 1601 (1951); 36, 337 (1953); Coll. trav. chim. Czechoslov. 15, 900 (1951).* Die in diesen Arbeiten angeführten pK_{MCS}^* -Werte weisen eine Korrektur für das Flüssigkeitspotential auf. Zu den mit einer Glaselektrode/ges. Kalomelektrode gemessenen Werten wurden jeweils 0,29 pK_{MCS}^* -Einheiten addiert.

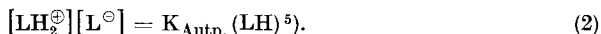
scheinbarer Dissoziationskonstanten mit Erfolg Verwendung fand¹⁾. Die spezielle Eignung dieser beiden Lösungsmittel-Systeme ist darauf zurückzuführen, dass beide eine hohe Dielektrizitätskonstante²⁾, gekoppelt mit einem guten Lösungsvermögen für organische Verbindungen und ihre Salze, aufweisen. Es sei bemerkt, dass die beiden zitierten Lösungsmittel-Systeme vor allem vom Standpunkt der Mikrobestimmung scheinbarer pK-Werte unter Verzicht auf hohe Genauigkeit in den Äquivalentgewichten untersucht wurden.

2. Umschreibung des scheinbaren pK-Wertes.

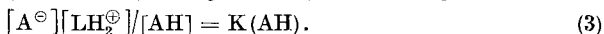
In fast allen Fällen der elektrometrischen Bestimmung von Dissoziationskonstanten können Säure-Basen-Gleichgewichte im Sinne einer Solvolyse und in Anlehnung an die Säure-Basen-Definition von *Bronsted*³⁾ und *Lowry*⁴⁾ entsprechend (1) formuliert werden:



In (1) bedeutet LH ein amphiprotisches Lösungsmittel der Autoprotolysen-Konstante $K_{\text{Autp. (LH)}}$:



Die Dissoziationskonstante $K(\text{AH})$ für das Gleichgewicht (1) wird wie folgt definiert:



Der obere Index \ominus des Symbols A^{\ominus} soll nichts über die absolute Ladung der zur Säure AH konjugaten Base A^{\ominus} aussagen, sondern lediglich darauf hinweisen, dass das Teilchen A^{\ominus} relativ zum Teilchen AH um eine Elementarladung negativer ist. Durch diese Festlegung ist es möglich, jedem beliebigen konjugaten Säure-Basen-Paar eindeutig eine Dissoziationskonstante $K(\text{AH})$ bzw. einen $\text{pK}(\text{AH}) = -\log K(\text{AH})$ zuzuordnen. Dabei soll, um Missverständnisse zu vermeiden, jeweils die Säure des Paares AH und A^{\ominus} explizit angegeben werden. So bedeute $\text{pK}(\text{Anilin } \text{H}^{\oplus})$ den pK des Gleichgewichtes Anilinium-Ion[⊕] + $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Anilin} + \text{H}_3\text{O}^{\oplus}$, während $\text{pK}(\text{HSO}_4^{\ominus})$ sich auf die zweite Dissoziationskonstante der Schwefelsäure im Wasser bezieht⁵⁾.

Missst man nun den scheinbaren pK für ein konjugates Säure-Basen-Paar nach der im Teil I beschriebenen oder einer analogen Methode, so verliert der nur noch formell einem Gleichgewicht vom Typus (1) zuzuordnende Wert seine thermodynamische Bedeutung als negativer Logarithmus der Konstante $K(\text{AH})$. Dies rührt davon her, dass dieser Wert, den wir in der Folge mit pK^* bezeichnen wollen⁷⁾, eine schwer zu überschende Funktion von Grössen wird, die z. B. in unserem Falle zur Hauptsache die folgenden sind:

$$\text{pK}^* = \text{pK}^*(\text{AH, Lsgm., T, H, n, G, Messk., App.}). \quad (4)$$

¹⁾ Vgl. z. B.: *E. H. Flynn, J. W. Hinman, E. L. Caron & D. O. Woolf*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5867 (1953); *N. J. Leonard, R. C. Fox & M. Öki*, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5708 (1954).

²⁾ Dielektrizitätskonstante: Dimethylformamid (25°) 36,7 (vgl. *G. R. Leader & J. F. Gormley*, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5731 (1951)). Methylcellosolv (25°) 14,4 (*T. Gäumann*, Diplomarbeit ETH. (1948)).

³⁾ *J. N. Bronsted*, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **42**, 718 (1923).

⁴⁾ *T. M. Lowry*, Chemistry & Ind. **42**, 43 (1923).

⁵⁾ Die eckigen Klammern sollen Aktivitäten oder Konzentrationen ideal verdünnter Lösungen bedeuten.

⁶⁾ Auf die Verwendung der sich auf die Gleichung



stützenden Grösse $K_{\text{B}}(\text{B}) = K_{\text{Autp. (LH)}}/K(\text{BH}^{\oplus})$ soll, um Missverständnisse zu vermeiden, in der Folge immer verzichtet werden.

⁷⁾ Es erweist sich als zweckmässig, die an der Messkette gemessenen Potentiale entsprechend der im Teil I beschriebenen Methodik in pH-Skaleneinheiten anzugeben. (Eine pH-Skaleneinheit = 59,1 mV bei 25°.)

Darin bedeuten:

- AH = Säure des konjugaten Säure-Basen-Paares AH, A[⊖].
 Lsgm. = Lösungsmittel-System (Komponenten und Zusammensetzung).
 T = Temperatur.
 H = Titrationsgeschwindigkeit.
 n = Grösse der Einwaage.
 G = Glaselektrode.
 Messk. = Messkette unter Ausschluss der Glaselektrode.
 App. = Potentialmessender und registrierender Teil der Apparatur.

Von den angegebenen Variablen werden in der Folge T, Messk. und App. konstant gehalten ($T = 25^\circ$). Dabei wird vorausgesetzt, dass der Ersatz einer Apparatur (App.) und/oder einer Messkette (Messk.) durch eine analoge Apparatur resp. Messkette keine signifikante Änderung des Messwertes sowie den gleichen Beitrag zur Reststreuung liefert. Die Erfahrungen im hiesigen Laboratorium mit Geräten verschiedener Provenienz haben gezeigt, dass diese Voraussetzungen stets erfüllt sind.

Da die pK^* -Werte stark vom Lösungsmittel-System (Lsgm.) abhängen, muss dessen Zusammensetzung selbstverständlich angegeben werden. Weil aus Stabilitätsgründen die Titrierflüssigkeiten vorzugsweise wässrige Lösungen sind, verändert sich die Zusammensetzung der Lösungsmittel-Systeme während der Messung. Dadurch erfahren die gemessenen pK^* -Werte bei konstanter Anfangszusammensetzung des Lösungsmittel-Systems je nach Einwaage n an Substanz kleine Verschiebungen. Diesem Sachverhalt wird dadurch Rechnung getragen, dass man bei expliziter Angabe der Anfangszusammensetzung des Lösungsmittel-Systems 1) entweder bei bekannter Abhängigkeit $pK^* = pK^*(\text{Lsgm.})$ und bekanntem Titer der Titrierflüssigkeit für die Einwaage n die entsprechenden Änderungen des pK^* korrigiert, oder 2), falls sich die Einwaage in bestimmten, festzulegenden Grenzen bewegt, die damit verknüpften Änderungen des pK^* in die Reststreuung nimmt. Typus und prozentuale Zusammensetzung des Lösungsmittel-Systems soll durch einen unteren Index charakterisiert werden. (pK_{LH}^* mit LH als Symbol für System und Zusammensetzung.)

Für die Berücksichtigung der Abhängigkeit des pK^* von der Konzentration an Substanz (gegeben durch n bei konstanter Lösungsmittel-Menge) und von der durch H charakterisierten Titrationsgeschwindigkeit ergeben sich (wie bereits weiter oben für die ebenfalls mit n verknüpfte Veränderung der Lösungsmittel-Zusammensetzung) zwei Möglichkeiten, nämlich 1) die Korrektur von pK^* für die vorher zu bestimmende Abhängigkeit dieser Grösse von H und n oder 2) die Konstanzhaltung von H und n innerhalb bestimmter Grenzen und Einbeziehung der dadurch hervorgerufenen Streuung in die Reststreuung.

Die Abhängigkeit des pK^* von der Glaselektrode G innerhalb einer Reihe von Glaselektroden des gleichen Typs kann nicht erfasst werden und muss in die Reststreuung mit einbezogen werden.

Die durch (4) charakterisierte komplizierte Abhängigkeit der gemessenen Grösse pK^* von den einzelnen Variablen bedingt, dass zur zahlenmässigen Begrenzung jener Messungen, die zur Untersuchung dieser Abhängigkeit notwendig sind, die statistische Versuchsplanung herangezogen werden muss. Ausserdem muss vor allem unter jeweiliger Berücksichtigung der oben zitierten Möglichkeiten 2) ein Parameterfeld so abgegrenzt werden, dass die erfassbare Streuung der in diesem Bereich gemessenen pK^* -Werte in nützlichen Grenzen gehalten wird.

3. Versuchsplanung.

A. Zur Abschätzung der Abhängigkeit der pK_{LH}^* -Werte von der Lösungsmittelzusammensetzung wurden fünf Säuren und fünf Basen in verschiedenen zusammengesetzten Dimethylformamid/Wasser-¹⁾ und

¹⁾ DMF = Dimethylformamid; MCS = Methylcellosolv.

Methylcellosolv/Wasser-¹⁾Gemischen titriert. Zur Begrenzung der Reststreuung wurden die Einwaagen n ($n = 3,7 \cdot 10^{-6}$ Mol bei $1,00 \text{ cm}^3$ Lösungsmittel) und die Titrationsgeschwindigkeit entsprechend $H = 160,0 \text{ mm}$ bei $1,79 \text{ mm}^3/\text{Min.}$ konstant gehalten (Titer der Base: $0,1\text{-}n$).

B. Die Abhängigkeit der pK_{LH}^* -Werte von der Grösse der Einwaage an Substanz (n), der Titrationsgeschwindigkeit (H), der verwendeten Glaselektrode (G) und der Stellung der Titration im Tag (ν) bei bestimmter Lösungsmittelzusammensetzung wurde mittels einer statistischen Versuchsplanung erfasst. Die vier Variablen n , H , G und ν wurden in einem zweimal orthogonalen lateinischen Quadrat²⁾ angeordnet. Für n lagen sieben linear äquidistante, für H sieben logarithmisch äquidistante Niveaus vor. Zur Stellung im Tag ν kann bemerkt werden, dass pro Tag sieben Titrationsen ausgeführt wurden. Es standen nur drei³⁾ bzw. vier Glaselektroden zur Verfügung, die auf sieben Niveaus zufällig verteilt wurden. Bei allen Titrationsen kam Benzoesäure zur Anwendung. Für das Lösungsmittelsystem 80 Gew.-Proz. Methylcellosolv/20 Gew.-Proz. Wasser wurde die oben angegebene statistische Analyse bereits im Teil I veröffentlicht. In Tab. 1 ist das Schema der getroffenen Versuchsplanung für das System 80 Vol.-Proz. Dimethylformamid/20 Vol.-Proz. Wasser dargestellt, wobei auch hier wieder Benzoesäure Verwendung fand.

Tabelle 1.

Statistische Versuchsplanung.

Erste Zahl: H ; zweite Zahl: n .

$G \setminus \nu$	1	2	3	4	5	6	7
1	13	54	31	45	72	27	66
1	47	76	23	64	11	55	32
4	65	12	57	36	43	74	21
3	34	41	75	22	67	16	53
4	26	63	14	51	35	42	77
2	52	37	46	73	24	61	15
3	71	25	62	17	56	33	44

H	1	2	3	4	5	6	7
	1,7099	1,7894	1,9425	2,2847	2,9471	4,2700	6,9236 (10^{-7} Äquiv./Min.)
n	1	2	3	4	5	6	7
	0,150	0,300	0,450	0,600	0,750	0,900	1,050 (mg)

¹⁾ DMF = Dimethylformamid; MCS = Methylcellosolv.

²⁾ Vgl. A. Linder, Planen und Auswerten von Versuchen, Basel 1953, S. 61.

³⁾ Vgl. Teil I.

4. Experimenteller Teil.

Alle Messungen wurden mit der im Teil I beschriebenen halbautomatischen Apparatur und nach der dort angegebenen Methodik durchgeführt. Die wichtigsten experimentellen Einzelheiten seien hier kurz rekapituliert:

Messkette: a) Glaselektrode: Typus Napfelektrode, Glasmembran aus *Corning*-015-Elektrodinglas. Thermostatiert auf $25^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$. Die Glaselektrode wurde zwischen den Messungen mit destilliertem Wasser gefüllt.

b) Referenzelektrode: Mit Kaliumchlorid gesättigte Kalomelektrode. Ein Keramikdiaphragma bildet den Übergang zwischen gesättigter Kaliumchloridlösung u. dem Messgut.

c) Eichung: Vor jeder Messung wurde die Glaselektrode mit Puffer von $\text{pH} = 4,00^{1)}$ geeicht. Täglich zweimal wurde die Steilheit in der Millivolt-pH-Darstellung der Messanordnung mit Hilfe eines Puffers vom $\text{pH} = 9,18^{2)}$ geprüft. Die Abweichungen vom Sollwert betrugen im Mittel 0,03 pH-Einheiten, wobei eine Abweichung von 0,04 pH-Einheiten nie überschritten wurde.

Methylcellosolv/Wasser-Gemische: Methylcellosolv (Handelsprodukt) wurde bei Atmosphärendruck über Calciumoxyd destilliert. Das so erhaltene Produkt wurde für die vorliegende Arbeit als 100-proz. definiert³⁾. Die entsprechenden Gemische erhielt man durch Zusatz von destilliertem kohlendioxidfreiem Wasser. Alle Prozent-Angaben beziehen sich auf Gewichtsprozent (Gew.-Proz.).

Dimethylformamid/Wasser-Gemische: Dimethylformamid (Handelsprodukt) wurde über Calciumoxyd und über Bariumoxyd am Wasserstrahlvakuum destilliert, wobei ein Vorlauf von 30 Proz. abgetrennt wurde. Das so erhaltene Produkt wurde als 100-proz. definiert⁴⁾. Die entsprechenden Gemische wurden durch Zusatz von destilliertem, kohlendioxidfreiem Wasser erhalten. Alle Prozent-Angaben beziehen sich auf Volumenprozent (Vol.-Proz.)⁵⁾.

Die zu titrierende Substanz wurde unmittelbar vor Messbeginn in der Glaselektrode in 1,00 cm³ Lösungsmittel-Gemisch gelöst. Die Substanzmengen betrugen jeweils, mit Ausnahme der für die statistische Versuchsplanung gewählten Mengen, ungefähr $3,7 \cdot 10^{-6}$ Mol. Alle Messungen wurden bei $25,0^{\circ} \pm 0,1^{\circ}$ ausgeführt.

In der Tab. 2 finden sich einige Angaben über die titrierten Verbindungen.

5. Zusammenstellung und Diskussion der Resultate.

A. pK_{LH}^* -Werte von fünf organischen Säuren und fünf organischen Basen:

Die Resultate der pK_{MCS}^* -Messungen an Benzoesäure, trans-Zimtsäure, p-Nitrophenol, o-Chlorbenzoesäure und Pikrinsäure⁶⁾ sind

¹⁾ 0,05-m. Lösung von Monokaliumphthalat in Wasser bei 25° : pH von 4,005. Vgl. *W. J. Hamer, G. D. Pinching & S. F. Acree, J. Res. Nat. Bur. Stand.* **36**, 47 (1946).

²⁾ 0,01-m. Lösung von Borax in Wasser bei 25° hat pH von 9,177. Vgl. *G. G. Manov, N. J. De Lollis, P. W. Lindvall & S. F. Acree, J. Res. Nat. Bur. Stand.* **36**, 543 (1946).

³⁾ Die *Karl-Fischer*-Titration einer drei Monate alten Probe dieses Lösungsmittels ergab einen Wassergehalt von 0,3%.

⁴⁾ Die *Karl-Fischer*-Titration ergab einen Wassergehalt von 0,05%. (Vgl. *T. G. Bonner, Analyst* **71**, 483 (1946); *K. Fischer, Angew. Chem.* **48**, 394 (1935).)

⁵⁾ Die Verwendung von Vol.-Proz. ist dadurch bedingt, dass infolge der Instabilität des Dimethylformamid/Wasser-Systems alle Lösungen jeweils kurz vor den Messungen hergestellt wurden, wobei sich die Verwendung von Vol.-Proz. als wesentlich zeitsparender erweist. Volumenkontraktionen wurden vernachlässigt.

⁶⁾ Die an einer starken Säure, wie z. B. Pikrinsäure, nach der beschriebenen Methodik gemessenen pK_{LH}^* -Werte dürfen nicht einem Säure-Basen-Gleichgewicht vom Typus (1) zugeordnet werden, da die zur Anwendung gelangenden Lösungsmittel-Gemische auf solche Säuren nivellierend wirken. Die hier angegebenen Werte sollen demzufolge als Hinweise auf diese nivellierende Wirkung des Lösungsmittels und nicht als für die Pikrinsäure charakteristische Grössen betrachtet werden.

Tabelle 2.

Substanz	M.-G.	Smp.	C; H berechnet %	C; H gefunden %	Reinigung, Herkunft
trans-Zimtsäure	148,15	133—133,5°	72,96; 5,44	72,85; 5,38	Handelsprodukt 2 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg getrocknet
Pikrinsäure	229,11	121,5°			Handelsprodukt 4mal aus Methanol umkristallisiert, dann 2 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg getrocknet
o-Chlorbenzoesäure.. . . .	156,57	140,2°	53,70; 3,22	53,56; 3,31	Handelsprodukt, Trocknung 2 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg
Benzoesäure	122,12	121,1°	68,84; 4,95	68,55; 5,11	Handelsprodukt, Trocknung 2 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg
p-Nitrophenol	139,11	113,5—113,7°			Handelsprodukt, 3mal aus Äther/Petroläther umkrist., Trocknung 4 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg
Chinin	324,41	174,5°	74,04; 7,46	74,17; 7,64	Handelsprodukt, Trocknung 2 Tage bei 10 ⁻³ mm Hg
Brucin	394,45	177—177,5°	70,03; 6,64	69,85; 6,56	Handelsprodukt, aus Methanol-Wasser, dann aus Methanol umkrist., 6 Tage getrocknet bei 10 ⁻³ mm Hg/60°
Diphenylguanidin (sym). . .	211,26	146,5°	73,90; 6,20	73,72; 6,10	Handelsprodukt, 5mal aus Toluol umkrist., 6 Tage bei 80° und 10 ⁻³ mm Hg getrocknet
1,2,3-Triphenylguanidin . .	287,35	144,3—144,5°	79,41; 5,96	79,52; 6,01	5mal aus Toluol umkrist., 6 Tage bei 80° und 10 ⁻³ mm Hg getrocknet
(-)-Ephedrin	165,23				Analysenpräparat des Hydrochlorids mit NaOH versetzt. Ausäthern. Nach Abdampfen des Äthers zweimalige Destillation in Fingerkolben

in der Tab. 3, linke Hälfte, und in Fig. 1 dargestellt. Die entsprechenden pK_{DMF}^* -Werte finden sich in Tab. 3, rechte Hälfte, und ebenfalls in Fig. 1 in Funktion der Lösungsmittel-Zusammensetzung. Die pK_{MCS}^* -Werte der Basen Chinin, Brucin, (-)-Ephedrin, sym-Diphenylguanidin und 1,2,3-Triphenylguanidin sind in der Tab. 4, linke Hälfte, und in Fig. 2, die entsprechenden pK_{DMF}^* -Werte in Tab. 4, rechte Hälfte, und in Fig. 2 angegeben.

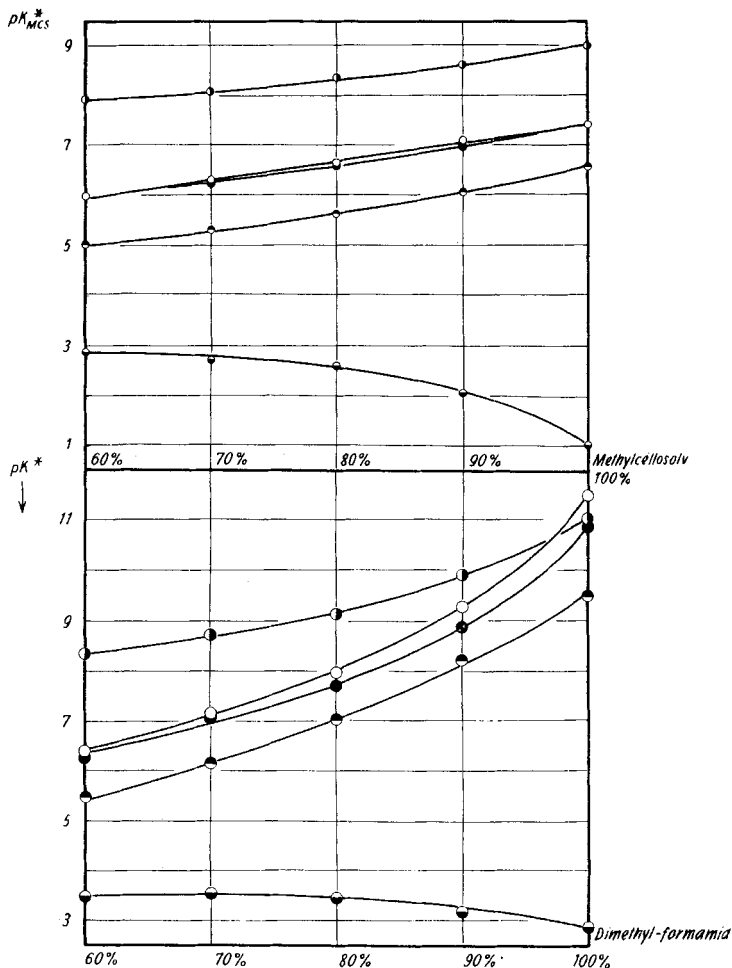


Fig. 1.

pK_{LH}^* -Werte von fünf organischen Säuren.

Oben: pK_{MCS}^* -Werte in Funktion von Gew.-Proz. Methylcellosolv.

Unten: pK_{DMF}^* -Werte in Funktion von Vol.-Proz. Dimethylformamid.

○ p-Nitrophenol.

● Benzoesäure.

○ trans-Zimtsäure.

● o-Chlorbenzoesäure.

○ Pikrinsäure.

(Der Radius der gezeichneten Kreise entspricht dem Messfehler.)

Tabelle 3.

Substanz	pK _{MCS} [*]					pK _{DMF} [*]				
	Gew.-Proz. Methylcellosolv					Vol.-Proz. Dimethylformamid				
	60	70	80	90	100	60	70	80	90	100
trans-Zimtsäure . .	5,95	6,29	6,64	7,08	7,41	6,37	7,15	7,96	9,26	11,49
Pikrinsäure ²⁾ . . .	2,84 ¹⁾	2,68	2,58	2,05	1,03	3,45 ¹⁾	3,54	3,47	3,18	2,90 ¹⁾
o-Chlorbenzoesäure	4,97	5,28	5,61	6,05	6,56	5,46	6,15	7,03	8,20	9,50
Benzoessäure . . .	5,95	6,21 ¹⁾	6,57	6,98	7,43	6,26 ¹⁾	7,05	7,70	8,86	10,85
p-Nitrophenol . .	7,90	8,04	8,34	8,60	8,98	8,31	8,71	9,13	9,90	11,02 ¹⁾

Tabelle 4.

Substanz	pK _{MCS} [*]					pK _{DMF} [*]				
	Gew.-Proz. Methylcellosolv					Vol.-Proz. Dimethylformamid				
	60	70	80	90	100	60	70	80	90	100
Chinin H [⊕]	(7,91) ³⁾	7,71	7,54	7,33	7,16	8,44	8,21	8,15	8,31 ¹⁾	8,75 ¹⁾
Brucein H [⊕]	(7,58) ³⁾	7,39	7,08 ¹⁾	6,90	6,61	7,90	7,87	7,77	7,80	7,92
(-)-Ephedrin H [⊕]	(9,17) ³⁾	9,02	8,89	8,61	8,32 ¹⁾	9,58	9,52	9,52	9,46	9,50 ¹⁾
Diphenylguanidin H [⊕] (sym)	9,32	9,12	8,93	8,66	8,33 ¹⁾	9,58	9,30	9,12	8,95	8,93 ¹⁾
1,2,3-Triphenyl- guanidin H [⊕] . .	(8,00) ³⁾	7,83	7,69	7,31	6,85 ¹⁾	8,39	8,20	7,85	7,77	7,59 ¹⁾

Mit zunehmendem Gehalt an organischem Lösungsmittel im Lösungsmittel-System steigen die pK_{LH}^{*}-Werte der untersuchten Säuren deutlich an (siehe Fig. 1). Eine Sonderstellung nimmt, wie bereits bemerkt, die Pikrinsäure ein²⁾. Mit Ausnahme der pK_{DMF}^{*}-Werte von Chinin und Brucein, die im Gebiet von 80 Vol.-Proz. Dimethylformamid ein Minimum durchlaufen, fallen die pK_{LH}^{*}-Werte der untersuchten Basen mit steigendem Gehalt an organischem Lösungsmittel⁴⁾.

¹⁾ Dieser Wert ist das arithmetische Mittel aus zwei Messresultaten.

²⁾ Vgl. Fussnote 6, Seite 512.

³⁾ Die Substanz war vor der Titration nicht vollständig gelöst.

⁴⁾ In der Literatur konnten keine Resultate von pK-Messungen in Dimethylformamid/Wasser- und Methylcellosolv/Wasser-Gemischen variabler Zusammensetzung gefunden werden, die als Vergleich zu unseren Messungen dienen könnten. Hingegen fanden *L. Michaelis & M. Mizutani* (Z. physik. Chem. A **116**, 135 (1925)), dass die scheinbaren Dissoziationskonstanten von verschiedenen Carbonsäuren in Äthanol/Wasser-Gemischen mit zunehmendem Alkoholgehalt deutlich absinken. Im gleichen Lösungsmittelsystem stellte *M. Mizutani* (Z. physik. Chem. A **116**, 350 (1925)) ein Ansteigen der scheinbaren Dissoziationskonstanten von 11 organischen Basen mit zunehmendem Alkoholgehalt fest. *H. S. Dunsmore & J. C. Speakman* (Trans. Farad. Soc. **50**, 236 (1954)) beobachteten in den von ihnen untersuchten Dioxan/Wasser-Gemischen für den Bereich von 0 bis 50% Dioxan eine Abnahme der thermodynamischen Dissoziationskonstanten von Benzoessäure mit zunehmendem Dioxangehalt.

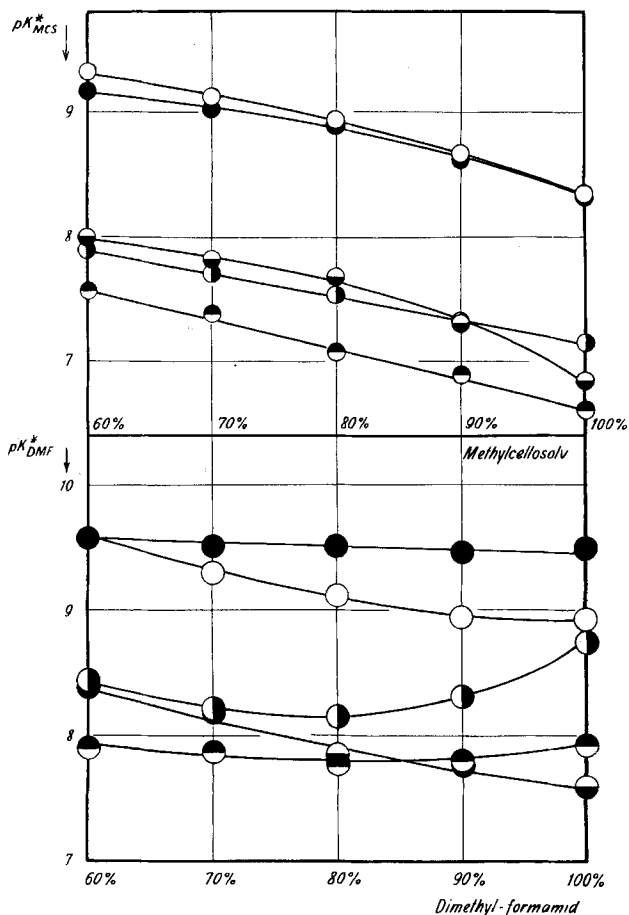


Fig. 2.

pK_{LH}^* -Werte von fünf organischen Basen.

Oben: pK_{MCS}^* -Werte in Funktion von Gew.-Proz. Methylcellosolv.

Unten: pK_{DMF}^* -Werte in Funktion von Vol.-Proz. Dimethylformamid.

- sym-Diphenylguanidin H^+ .
- (-)-Ephedrin H^+ .
- Brucin H^+ .
- Chinin H^+ .
- 1,2,3-Triphenylguanidin H^+ .

(Der Radius der gezeichneten Kreise entspricht dem Messfehler.)

B. pK_{DMF}^* -Werte der Benzoesäure im System Dimethylformamid/Wasser:

Die Resultate der statistischen Versuchsplanung sind in den Tab. 5 und 6, diejenigen der dazugehörigen Varianzanalyse in der Tab. 7 wiedergegeben. Aus der Tab. 7 ist ersichtlich, dass die Wahl der Glaselektrode G wie auch die Titrationsgeschwindigkeit H und die Einwaage an Substanz n einen signifikanten Einfluss auf die bestimmten pK_{DMF}^* -Werte ausüben. Der Funktionalzusammenhang

Tabelle 5.
Resultate der statistischen Versuchsplanung (Benzoesäure).

$\begin{array}{c} \backslash \\ \nu \\ \text{G} \end{array}$	1	2	3	4	5	6	7	$\overline{\text{pK}}_{\text{DMF}}^* \text{ AeG}$
1	7,64	7,54	7,70	7,52	7,60	7,49	7,50	7,570
	117,9	119,3	111,0	123,2	111,4	125,5	125,6	119,13
1	7,52	7,56	7,70	7,61	7,85	7,65	7,73	7,660
	120,7	123,7	122,1	139,7	91,0	122,0	124,1	120,47
4	76,0	7,68	7,63	7,61	7,73	7,65	7,88	7,683
	125,7	138,2	119,7	120,2	118,3	111,7	132,8	123,80
3	7,60	7,64	7,48	7,73	7,49	7,64	7,61	7,599
	125,4	124,9	114,0	132,6	121,7	123,7	122,1	123,49
4	7,66	7,67	7,71	7,67	7,68	7,74	7,61	7,677
	121,1	110,8	122,8	145,8	119,3	129,4	116,7	123,70
2	7,85	7,63	7,60	7,60	7,70	7,64	7,75	7,681
	149,0	122,7	125,2	146,8	126,2	127,3	122,6	131,40
3	7,59	7,62	7,60	7,51	7,52	7,68	7,61	7,590
	120,7	120,1	126,7	125,1	118,4	123,2	125,3	122,79
$\overline{\text{pK}}_{\text{DMF}}^* \text{ AeG}$	7,637	7,620	7,631	7,607	7,653	7,641	7,670	7,637
	125,79	122,81	120,21	133,34	115,19	123,26	124,17	123,54

Obere Zahl: pK_{DMF}^* -Wert. Untere Zahl: Äquivalentgewicht (= AeG).

Tabelle 6.
Resultate der statistischen Versuchsplanung (Benzoesäure).

$\begin{array}{c} \backslash \\ \text{H} \\ \text{n} \end{array}$	1	2	3	4	5	6	7	$\overline{\text{pK}}_{\text{DMF}}^* \text{ AeG}$
1	7,85	7,88	7,70	7,64	7,67	7,64	7,59	7,710
	91,0	132,8	111,0	124,9	145,8	127,3	120,7	121,93
2	7,68	7,73	7,73	7,74	7,85	7,60	7,60	7,704
	138,2	132,6	124,1	129,4	149,0	126,7	111,4	130,20
3	7,64	7,70	7,68	7,73	7,61	7,67	7,60	7,661
	117,9	122,1	123,2	118,3	122,1	110,8	146,8	123,03
4	7,71	7,70	7,60	7,61	7,54	7,61	7,65	7,631
	122,8	126,2	125,4	125,3	119,3	139,7	111,7	124,34
5	7,75	7,62	7,68	7,52	7,65	7,60	7,48	7,611
	122,6	120,1	119,3	123,2	122,0	125,7	114,0	120,99
6	7,64	7,66	7,61	7,60	7,52	7,50	7,56	7,584
	123,7	121,1	120,2	125,2	118,4	125,6	123,7	122,56
7	7,51	7,49	7,63	7,52	7,63	7,49	7,61	7,554
	125,1	125,5	122,7	120,7	119,7	121,7	116,7	121,73
$\overline{\text{pK}}_{\text{DMF}}^* \text{ AeG}$	7,683	7,683	7,661	7,623	7,639	7,587	7,584	7,637
	120,19	125,77	120,84	123,86	128,04	125,36	120,71	123,54

Obere Zahl: pK_{DMF}^* -Wert. Untere Zahl: Äquivalentgewicht (= AeG).

zwischen pK_{DMF}^* und H resp. n ist, wie aus Tab. 7 und Fig. 3 ersichtlich, streng linear. Die Geraden der Figur 3 wurden mit Hilfe einer linearen Ausgleichsrechnung ermittelt.

Tabelle 7.
 pK_{DMF}^* Varianzanalyse (Benzoessäure)¹⁾.

Str. Q	f	SQ	MSQ	F	%
G	6	0,100743	0,016790	7,413	0,1
H_{lin}	1	0,065025	0,065025	28,709	0,1
n_{lin}	1	0,142237	0,142237	62,798	0,1
Rest	40	0,090595	0,002265		
Total	48	0,398600	0,008304		

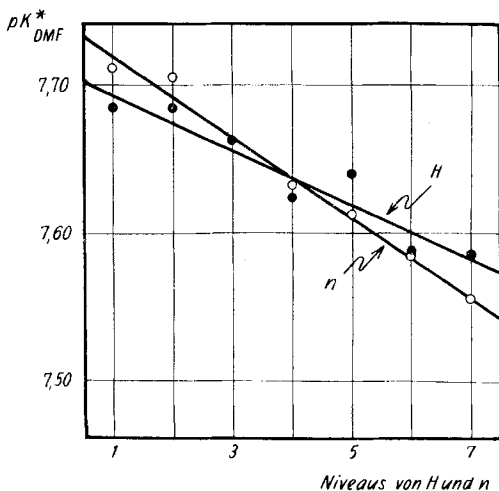


Fig. 3.

pK_{DMF}^* -Werte von Benzoessäure in 80 Vol.-Proz. Dimethylformamid.

○ Abhängigkeit von der Einwaage n .

● Abhängigkeit von der Titrationsgeschwindigkeit H .

(Die Geraden wurden durch lineare Ausgleichsrechnung ermittelt.)

Mit zunehmender Einwaage n an Substanz sinkt der pK_{DMF}^* deutlich ab, da infolge der durch die Titrationsflüssigkeit ins System gebrachten Wassermenge der Wassergehalt zunimmt und so ein Absinken der pK_{DMF}^* -Werte bewirken muss. (Vgl. Fig. 1.) Diese Verschiebung der pK_{DMF}^* -Werte ist kleiner als man sie bei Zugrundelegung der in Fig. 1 angegebenen Abhängigkeit erwarten sollte, da die weiter unten erwähnte, ebenfalls mit n wachsende Verschiebung des Asymmetriepotentials dem durch den wachsenden Wassergehalt bedingten Absinken der pK_{DMF}^* -Werte entgegenwirkt. Das Absinken der pK_{DMF}^* -

¹⁾ Definitionen der verwendeten Symbole siehe Teil I, sowie Anmerkung 2, Seite 511.

Werte mit zunehmender Titrationsgeschwindigkeit kann durch die Tatsache erklärt werden, dass die Glaselektrode eine Verschiebung des Asymmetriepotentials¹⁾ erleidet, die um so grösser wird, je länger das Lösungsmittel in der Glaselektrode bleibt. Das Verhalten der verschiedenen Glaselektroden ist aus Tab. 5 ersichtlich. Auffallend ist die Tatsache, dass mit der Glaselektrode 1 an zwei aufeinanderfolgenden Tagen relativ stark verschiedene pK_{DMF}^* -Werte gemessen wurden. Es besteht die Möglichkeit, dass die Glaselektrode durch den langen Gebrauch am zweiten Arbeitstage eine relativ starke Verschiebung des Asymmetriepotentials erlitt¹⁾.

Als Messfehler mit 95-proz. Sicherheit für eine Einzelmessung im Bereiche der in Tab. 1 angegebenen Grössen lässt sich berechnen:

$$\begin{aligned} pK_{DMF}^* &: \pm 0,18 \text{ } pK_{DMF}^*\text{-Einheiten.} \\ AeG &: \pm 19,3 \text{ (entsprechend 15,8\%).} \end{aligned}$$

Bei Berücksichtigung der Abhängigkeiten der pK_{DMF}^* -Werte von G, H und n beträgt der aus Tab. 7 berechnete Fehler:

$$pK_{DMF}^* : \pm 0,09 \text{ } pK_{DMF}^*\text{-Einheiten.}$$

Werden Titrationsgeschwindigkeit H und Einwaage n in dem in Tab. 6 eingerahmten Bereiche gehalten, so reduzieren sich die Fehler auf:

$$\begin{aligned} pK_{DMF}^* &: \pm 0,14 \text{ } pK_{DMF}^*\text{-Einheiten.} \\ AeG &: \pm 5,3 \text{ (entsprechend 4,3\%).} \end{aligned}$$

Für eine genaue Bestimmung von Äquivalentgewichten ist demzufolge eine Beschränkung von Titrationsgeschwindigkeit und Einwaage auf das in Tab. 6 eingerahmte Gebiet²⁾ unbedingt notwendig. Die Genauigkeit in den so erhaltenen AeG-Werten ist nicht signifikant von den analogen, im Teil I für das System Methylcellosolv/Wasser bestimmten AeG-Werten verschieden. Die Genauigkeit der Messung von pK_{DMF}^* -Werten wird hingegen durch die oben angeführte Begrenzung von Titrationsgeschwindigkeit und Einwaage nicht wesentlich erhöht. Eine solche Begrenzung ist trotzdem, wie die Resultate deutlich zeigen, sehr erwünscht. Im Gegensatz zum System Methylcellosolv/Wasser, in dem ein Gebiet für die Messung von pK_{MCS}^* -Werten vorliegt, in welchem die gemessenen Grössen nur noch mit Meßstreuung behaftet sind, ist für die Bestimmung von pK_{DMF}^* -Werten kein solches Gebiet

1) Die mit Puffer von pH = 4,00 geeichte Glaselektrode zeigt nach ungefähr 40 Min. eine Verschiebung von ca. 0,05 pH-Einheiten auf pH \approx 4,05. Mit abnehmendem Gehalt des Lösungsmittel-Systems an Wasser steigt diese Verschiebung. Füllt man die Elektrode hierauf mit Wasser oder mit wässrigem Puffer, so wird die durch die Einwirkung des Dimethylformamid/Wasser-Systems bewirkte Verschiebung langsam aufgehoben. Nach rund 30 Min. wird der ursprüngliche Eichwert von 4,00 wieder erreicht. Die Steilheit der Millivolt-pH-Darstellung bleibt hingegen während der Verschiebung des Eichwertes erhalten. Vgl. L. Kratz, Die Glaselektrode und ihre Anwendungen, Frankfurt/Main 1950, Seite 110.

2) Das in Tab. 6 eingerahmte Gebiet entspricht dem im Teil I für die Bestimmung der Äquivalentgewichte gewählten Bereich für H und n.

vorhanden. Der Messfehler für die Bestimmung der pK_{DMF}^* -Werte in dem in Tab. 6 eingerahmten Bereiche für Titrationsgeschwindigkeit und Einwaage ist ungefähr doppelt so gross wie der entsprechende Fehler für die pK_{MCS}^* -Werte (Teil I)¹⁾ und ist grösser als allgemein angenommen wird.

Herrn *P. M. Gäjgen* und Herrn *E. Strasser* danken wir für ihre Hilfe bei der Ausführung der Messungen. Der eine von uns (*E. H.*) dankt der *Rockefeller Foundation* in New York für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit. Die C-H-Bestimmungen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

SUMMARY.

Apparent pK -values have been determined for benzoic acid, *trans*-cinnamic acid, picric acid, *o*-chloro-benzoic acid, *p*-nitro-phenol, quinine, brucine, sym-diphenyl-guanidine, 1, 2, 3-triphenyl-guanidine and (–)-ephedrine in the solvent systems methylcellosolve/water and dimethylformamide/water as a function of the relative composition of these systems. The reproducibility of these values for a given range of the most important variables has been determined.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

62. Die Fraktionierung von Serumproteinen durch Verteilung in flüssigen kritischen Phasenpaaren

von **P. von Tavel.**

(25. I. 55.)

Einleitung.

Die Isolierung reiner Proteine ist verschiedentlich mit der multiplikativen Gegenstromverteilung zwischen zwei flüssigen Phasen gelungen. *E. J. Harfenist & L. C. Craig*²⁾ haben Insulin rein isoliert. *R. Signer & H. O. Walter*³⁾ haben Casein (nach *Hammarsten*) durch Verteilung in kritischen Phasenpaaren aus Phenol, Alkohol und Wasser in wenigen Verteilungsschritten in α - und β -Casein zerlegt. Mittels Verteilungschromatographie, einem prinzipiell ähnlichen Verfahren, bei dem die eine Phase in einem porösen Körper festgehalten wird,

¹⁾ Der Fehler für die Bestimmung der pK_{MCS}^* -Werte beträgt $\pm 0,08$ pK_{MCS}^* -Einheiten.

²⁾ *E. J. Harfenist & L. C. Craig*, J. Amer. chem. Soc. **73**, 877 (1951); **74**, 3083 (1952).

³⁾ *H. O. Walter*, Untersuchungen über die Fraktionierung von Casein mit zwei flüssigen, nicht mischbaren Phasen, Diss. Bern 1952; *R. Signer & H. O. Walter*, erscheint demnächst in Helv.