

ZUR MIKRO- p_{H} -MESSUNG MIT CHINHYDRON.

Von

FRANZ FUHRMANN.

Vorstand des Insitutes für Biochemie und Photochemie der Technischen und Montanistischen Hochschule in Graz.

(Eingelangt am 20. Oktober 1936.)

Für biochemische, insonderheit mikrobielle Stoffwechsel- und enzymatische Abbauuntersuchungen eignet sich zur Feststellung der Wasserstoffionenkonzentration die „Chinhydronelektrode“ in erster Linie wegen ihrer raschen Einstellung und ihrer Unempfindlichkeit gegenüber gelöstem Kohlendioxyd. Auch werden bei ihr die Messungen durch die Anwesenheit von leicht reduzierbaren Stoffen im Substrat nicht gestört, was bei der Verwendung einer Platinmohr-Wasserstoffelektrode infolge der Wasserstoffeinleitung stets der Fall ist. Selbst kleine Verschiebungen im Verhältnis Chinon : Hydrochinon = 1 : 1 durch Zwischenreaktionen von Substratstoffen mit Chinon oder Hydrochinon vermindern die Genauigkeit der Messung nur wenig. Nur ein großer, über $\frac{1}{2}$ normal hinausgehender Salzgehalt des Substrates hebt oder drückt die p_{H} -Werte je nach der Salzart. Kennt man das Salz und seine Konzentration, kann man die von LINDSTRÖM-LANG gearbeiteten Tabellen zur Korrektur der gemessenen Werte verwenden. Auch eine geringe Alkalität wirkt kaum störend, wohl aber eine höhere, bei der unter den gewöhnlichen Meßumständen der Luftsauerstoff innerhalb von Bruchteilen einer Sekunde das Hydrochinon zu oxydieren vermag. Hier versagt die Chinhydronelektrode.

Wir haben nun die im folgenden dargestellte Mikroapparatur für Chinhydronelektroden zusammengestellt, die es ermöglicht, in rascher Folge mit Substanzmengen von wenigen Zehnteln eines Kubikzentimeters im Bereiche von p_{H} 4 bis p_{H} 9,5 praktisch genügend genaue Messungen durchzuführen. Im Prinzip

wird die Messung im gasdichten Raume einer kleinen Kammer unter einer Atmosphäre von reinem, besonders sauerstofffreiem Stickstoff ausgeführt, wobei der Chinhydronzusatz zum Substrat erst nach der Entfernung des Luftsauerstoffes erfolgt. Dadurch wurde erreicht, daß auch im alkalischen Ast noch bis p_{H} 9,5 genügend genau gemessen werden konnte. Da der käufliche „Bombenstickstoff“ bis zu 3% Sauerstoff enthält, mußte eine besondere „Reinigungseinrichtung“ dafür als Zusatzapparat geschaffen werden.

Bei der Herstellung der neuen Chinhydron-Elektroden-Apparatur wurde von dem seinerzeit von G. LEHMANN¹ angegebenen Mikroelektroden-Modell ausgegangen, das ursprünglich als Gaskette im Wasserstoffstrom mit der üblichen langen Einstellungsdauer ausgebildet war.

Das auf einem Stativ vollständig aufgebaute Instrumentarium besteht im wesentlichen aus einem Elektrodengefäß, das zur Aufnahme der Chinhydronelektrode, des Agar-Verbindungshebers, des Tropfenträgers und der Gasdurchleitungseinrichtung dient, dann aus einem Becherrchen für die konzentrierte KCl-Lösung und einem kleinen Kalomel-Halbelement. Der Gasaustritt erfolgt durch einen mit Wasser beschickten Blasen-zähler.

Abb. 1 zeigt schematisch die ganze Einrichtung im Schnitt. Das Elektrodengefäß A wird von zwei mit Innenschliff gasdicht schließenden Glastuben gebildet. Der obere glockenförmige Teil besitzt den seitlichen Rohransatz B und die beiden oberen Rohreinführungen C zur Aufnahme der Elektrode D und des Agarverbindungshebers E. Der untere, becherartig geformte Teil des Elektrodengefäßes wird von dem mit einem Hahn versehenen Gaszuströmröhr mit der seitlichen Bohrung F zentral durchsetzt. Der obere Rohrverschluß ist zu dem Tropfenträger G ausgebildet, der bei leicht konkaver Gestaltung einen Durchmesser von 12—14 mm besitzt. Das Elektrodengefäß hat eine innere Lichte von ca. 20 mm bei einer Höhe von 50 mm.

¹ Ein einfaches Modell einer Mikroelektrode zur p_{H} -Bestimmung. Biochem. Ztschr. 139, 213 (1923).

Die oben skizzierte Einrichtung ist an ein Stativ montiert, aber ungefüllt im Handel² erhältlich. Vor der Beschickung sind alle Gefäße sorgfältigst zu reinigen, wozu in erster Linie eine 24-stündige Behandlung mit Chrom-Schwefelsäure (3% $K_2Cr_2O_7$ in 10% H_2SO_4) mit nachheriger gründlicher Spülung mit destilliertem Wasser dient, worauf die Gefäße vollkommen getrocknet werden.

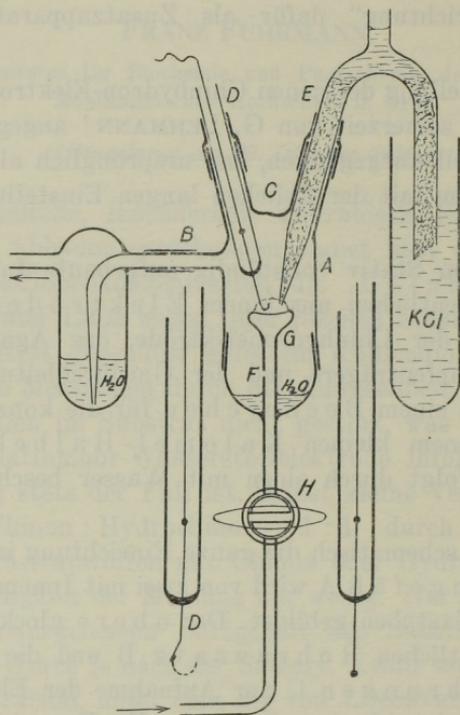


Abb. 1.

Für die Inbetriebsetzung und Verwendung der Apparatur sind folgende Reagenzien erforderlich:

1. Für das Kalomel-Halbelement: Doppelt destilliertes Wasser. Hg_2Cl_2 KAHLBAUM oder MERCK (eisenfrei! überhaupt frei von beim Glühen nicht flüchtigen Verunreinigungen). KCl

² Nach den Angaben des Verfassers erzeugt die Apparatur PAUL HAACK in Wien, IX., Garelligasse 4, wo auch alle übrigen hier angegebenen Gerätschaften erhältlich sind.

KAHLBAUM oder MERCK „zur Analyse“. Reinstes Hg (Präparat MERCK „zur Analyse“ genügt den praktischen Anforderungen). Merkuronitrat. 1% HNO₃-Lösung in H₂O.

2. Für den Agarheber: Ausgefautes, in Wasser ausgewaschenes und wieder getrocknetes Agar. Das gereinigte Agar ist im Handel nicht erhältlich. Zur Gewinnung schneidet man die käufliche Droge „Fadenagar“ in ca. ½ cm lange Stückchen, bringt diese in einen hohen Standzylinder mit einem großen Überschuß von Leitungswasser und überläßt dieses Infus unter Watteverschluß bei Zimmertemperatur der spontanen Zersetzung, was ca. 14 Tage erfordert. Dann wird Flüssigkeit abgegossen, der Watteverschluß durch Organtin ersetzt und mit einem bis an den Gefäßboden reichenden Glasrohr ein Wasserstrom hindurchgeleitet, der innerhalb von 24 Stunden eine vollkommene Entfernung aller löslichen Abbauprodukte besorgt. Dann wird sechsmal je 6 Stunden mit destilliertem Wasser ausgezogen und dann das Agar auf einer Porzellansiebplatte oder Glasunterlage getrocknet. Die Verwendung gereinigten Agars zur Bereitung des Stromleitungshebers ist zur Vermeidung von inkonstanten Meßfehlern wesentlich.

3. Golddoppelsalz LPW (ca. 40% Au-Gehalt) von den Langbein-Pfannhauser-Werken in Leipzig-Wien. Verwendet wird eine ½%ige Lösung in H₂O unter Zugabe von 5% des dazugehörigen „Leitsalzes“.

4. Chinhydron [C₆H₄(OH)₂, C₆H₄O₂]. Es stellt eine feste, fein nadelförmig kristallisierte metallisch grün schillernde Substanz vor, die sich in wässriger Lösung weitgehend in Hydrochinon und Chinon in gleicher Molekülzahl spaltet. Das nach den Angaben von BILMANN hergestellte Präparat ist in einwandfreier Form im Handel erhältlich, weshalb auf die Darstellung³ desselben hier nicht weiter eingegangen werden soll.

Für die dauernde Erhaltung der Substanz ist deren Aufbewahrung und Reinhaltung wichtig. Wir benützen für mikrochemische reinste Reagenzien und Lösungen starkwandige Fläschchen aus Jenaer Glas in der Größe von 22 zu 65 mm, wie eines in Abb. 2 im Schnitt, in Abb. 6 mit abgenommenem Umhüllungsdeckel, ab-

³ BILMANN, E., L'électrode à Quinhydrone et ses applications. Bull. Soc. chim. France 41, 213 (1927).

gebildet ist. Den Verschuß bildet eine gut aufgeschliffene Kappe. Die Schliffflächen sind leicht gefettet. Das Fläschchen steht in einem Holzsockel, der von einem gut schließenden, übergreifenden Holzsturz licht- und staubdicht überdeckt ist. Solche Flaschen ermöglichen eine reinliche Entnahme der Substanz oder Lösung, da beim Öffnen des Kappenschliffes nichts hineinfallen kann, was bei der Verwendung von eingeschliffenen Glasstöpseln als Verschuß

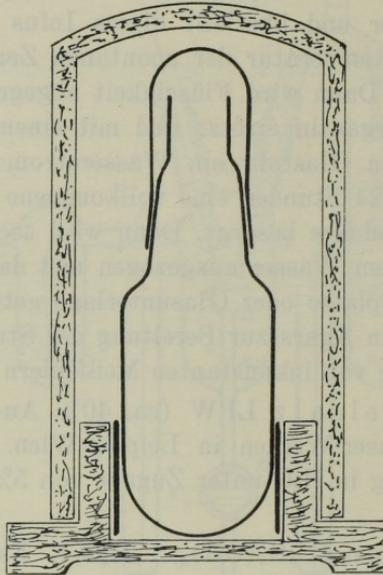


Abb. 2.

unvermeidlich ist. In diesen Aufbewahrungsgefäßen vor Licht und Feuchtigkeit geschützt, hält sich das Chinhydrone unbegrenzt.

Bei der Aufstellung der Apparatur wird man zweckmäßig mit der sorgfältigen Füllung des Kalomel-Halbelementes nach MICHAELIS beginnen, welches hier in kleinerer Type mit Luftblasenfänger verwendet wird.

Vor dessen Füllung wird die Platinelektrode zur Verbesserung des späteren Kontaktes mit dem Quecksilber elektrolytisch amalgamiert. Für die Herstellung elektrolytischer Überzüge und für Amalgamierungszwecke benützen wir eine kleine Hilfsapparatur, welche in Abb. 3 schematisch wiedergegeben ist.

In der Abbildung ist das Amalgamierungsgefäß (Hg) herausgenommen gezeichnet. Auf einem Grundbrettchen B ist der Metallstreifen A mit der Klemme C und den beiden Hältern G für die mit aufgeschliffenen Kappen versehenen Elektrolyse-Gefäße aus Jenaer Glas befestigt. Letztere sind bei einem Innendurchmesser von ca. 15 mm 55 mm hoch und besitzen am Boden eingeschmolzene Platinkontakte, die mit den Metallfassungen F dieser Gläser verlötet sind.

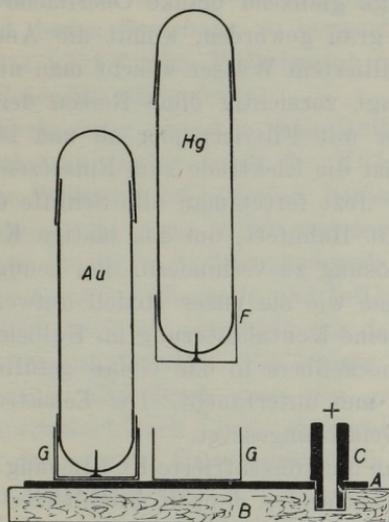


Abb. 3.

Mit diesen Fassungen sitzen sie leicht herausziehbar in den Hältern G des am Brettchen befestigten Metallstreifens, der die Steckklemme C trägt und so mit ihr alle Elektroden der eingesetzten Gläschen leitend verbindet. Bei der Reinigung werden die Gläser den Metallstreifenfassungen entnommen. Die Amalgamierungs- und Vergoldungslösung sind vor Licht geschützt praktisch unbegrenzt haltbar, zumal der leicht gefettete Kappenverschluß dieser Gläschen vor Verdunstung und Eindringen von Staub schützt. Als Lichtschutz ist über das Ganze ein Pappesturz gestülpt.

Jedes Gefäß trägt aufgebrannt die Bezeichnung für seinen Inhalt, damit es immer für den gleichen Zweck verwendet wird. In

das mit Hg bezeichnete Glas kommt ca. 3 cm hoch die Amalgamierungsflüssigkeit, bestehend aus einer Lösung von 1 g Merkuronitrat in wässriger, 1% iger HNO_3 ⁴. Der + Pol einer Bleiakkumulatorenzelle wird an die Steckklemme C gelegt, der - Pol an die Klemme der zu amalgamierenden Elektrode. Die Elektrode wird nur kurz geglüht, ausgekühlt, bei geschlossenem Strom in die Merkuronitratlösung eingesenkt und dann eine Minute belassen. Dabei darf an der Kathode keine starke Gasentwicklung auftreten. Die anfangs glänzend blanke Oberfläche des Elektroden drahtes ist matt grau geworden, womit die Amalgamierung beendet ist. In destilliertem Wasser wäscht man nunmehr die Elektrode gut ab, saugt vorsichtig ohne Reiben der Oberfläche das anhaftende Wasser mit Filtrierpapier ab und läßt an der Luft trocknen. Damit ist die Elektrode zum Einsetzen in das Elementgefäß vorbereitet. Jetzt fettet man alle Schiffe desselben in sehr dünner Schicht mit Hahnfett, um das lästige Kriechen der konzentrierten KCl-Lösung zu verhindern. Bei genügend weiter Bohrung der Glashähne wie sie unser Modell aufweist, bewirkt eine geringe Fettung keine Kontaktstörung im Halbelement. Nun wird soviel reinsten Quecksilbers in das Gefäß gefüllt, daß der Elektroden draht ca. 2 mm untertaucht. Die Elektrode wird hierauf definitiv in das Gefäß eingesetzt.

Nun bereitet man die konzentrierte KCl-Lösung durch Eintragen von soviel KCl in kochendes, doppelt destilliertes Wasser, als sich zu lösen vermag. Beim Auskühlen auf Zimmertemperatur scheiden sich dann reichlich feinste KCl-Kristalle aus. Auf 100 ccm kochenden Wassers nimmt man 40 g KCl. Mit der erkalteten, klaren Lösung bereitet man die Kalomelemulsion. In 25 ccm KCl-Lösung trägt man 1 g Hg_2Cl_2 ein und schüttelt drei Stunden lang durch. Bei oftmaligem Durchschütteln mit der Hand erhält man erst nach etwa 12 Stunden eine gesättigte Hg_2Cl_2 -Lösung. Nach dem Absetzen des überschüssigen Kalomels gießt man ca. $\frac{2}{3}$ der klaren Lösung ab, schüttelt nochmals zur Erreichung einer gleichmäßigen Verteilung des Kalomels mit der Hand durch und zieht nun

⁴ Zu beachten ist, daß die Lösung des Merkuronitrates stets in der verdünnten Salpetersäure vorgenommen werden muß, und nicht etwa in Wasser mit späterer Ansäuerung, da in letzterem Falle unlösliche basische Salze entstehen. Die Lösung erfordert etwa 12 Stunden und ist im Dunkeln vorzunehmen.

bei geöffneten Hähnen durch Ansaugen am oberen Rohrstutzen und unter Eintauchen des abgebogenen Kontaktrohres von der Kalomelaufschwemmung soviel ein, daß davon über dem Quecksilber eine 15 mm hohe Schicht entsteht. Nachdem sich auf der Quecksilberoberfläche das Kalomel abgesetzt und die Flüssigkeit geklärt hat, saugt man bis ca. 1 cm unter die obere Rohrabzweigung bei 70° gesättigte KCl-Lösung rasch ein und unmittelbar darauf von der bei Zimmertemperatur gesättigten KCl-Lösung bis knapp an den Rohransatz nach, um Kristallausscheidungen im Stromführungsrohr und dessen Sperrhahn zu vermeiden. Vor weiterem Gebrauch muß das jetzt fertige Halbelement ruhen, um sich auf ein konstantes Potential einzustellen.

Die leitende Verbindung zwischen dem Halbelement und dem zu messenden Substrat erfolgt durch den KCl-Ag ar h e b e r E der Abb. 1. Seine Füllung wird mit einer heißen Lösung von 1 g ausgefaultem, gereinigtem Agar in 50 ccm destilliertem Wasser, der nach Auflösung des Agars im Dampfschrank 5 g KCl zugesetzt wurden. Um eine zusammenhängende und luftblasenfreie Füllung des Hebers leicht zu erreichen, empfiehlt sich dabei die Benützung des in Abb. 4 skizizierten Behelfes. Ein kleiner Trichter mit möglichst engem Stengel wird durch einen gut gereinigten und gewaschenen Kautschukschlauch mit angebrachtem Schraubensquetschhahn mit dem von der Umbiegungsstelle der Heberschenkel abgehenden Rohr verbunden und in die dazu bestimmten Hälter, wie aus der Abbildung ersichtlich, eingehängt, bzw. eingespannt. Nun flammt man vorsichtig Trichter und Heber ab, um sie auf ca. 60—70° zu erwärmen, füllt sofort durch den Trichter die heiße Agarlösung bis zum Überfließen an beiden Schenkelenden ein und schließt den Schraubenhahn. Nach der Erstarrung des Agars wird der Heber untergetaucht in einer konzentrierten KCl-Lösung aufbewahrt.

Die Chinhydronelektrode hat entweder Knopf- oder Schälchenform, wie es J und K der Abb. 1 zeigen. Vorzuziehen ist die Schälchenform, weil sie gestattet, das Chinhydron erst nach völliger Durchgasung des zu messenden Tropfens zuzusetzen. Das Elektrodenmaterial bildet reines Platin. Vor dem Gebrauch wird die Elektrode galvanisch vergoldet. In das in Abb. 2 abgebildete Vergoldungsröhrchen (Au) werden 5 ccm der Goldsalz-

lösung gefüllt und die Klemme des Apparates mit dem positiven Pol einer aus 2 in Serie geschalteten Bleiakkumulatorenbatterie verbunden, also an die Spannung von 4 Volt gelegt. Die Elektrode wird mit dem negativen Pol verbunden, kurz geglüht, abgekühlt und bei geschlossenem Strom bis zur Einschmelzstelle in die Vergoldungslösung getaucht. Nach 5 Minuten ist die Vergoldung beendet. Nach guter Waschung wird die nunmehr gebrauchsfertige Elektrode in destilliertes Wasser eingetaucht aufbewahrt.

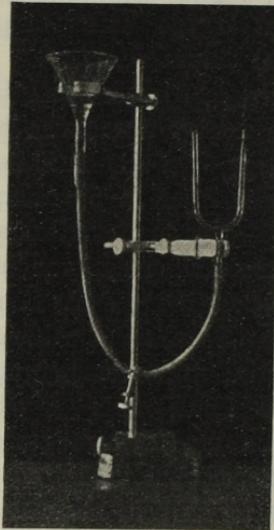


Abb. 4.

Bevor auf die Meßzusammenstellung eingegangen wird, soll die Stickstoffreinigungseinrichtung näher beschrieben werden, die in Abb. 5 schematisch dargestellt ist.

Der von einem Gasometer oder unmittelbar mit Vorschaltung eines Druckreduzierventiles aus der Druckflasche entnommene Stickstoff passiert zuerst eine Lösung von Natriumhydrosulfit (1:10 H_2O unter Zusatz von Methylenblau bis zu deutlicher Blaufärbung zwecks Kontrolle der Wirksamkeit). Dann durchströmt er eine 10%ige Natronlauge zur Entfernung des aus dem Hydrosulfit bei seiner Oxydation entstehenden

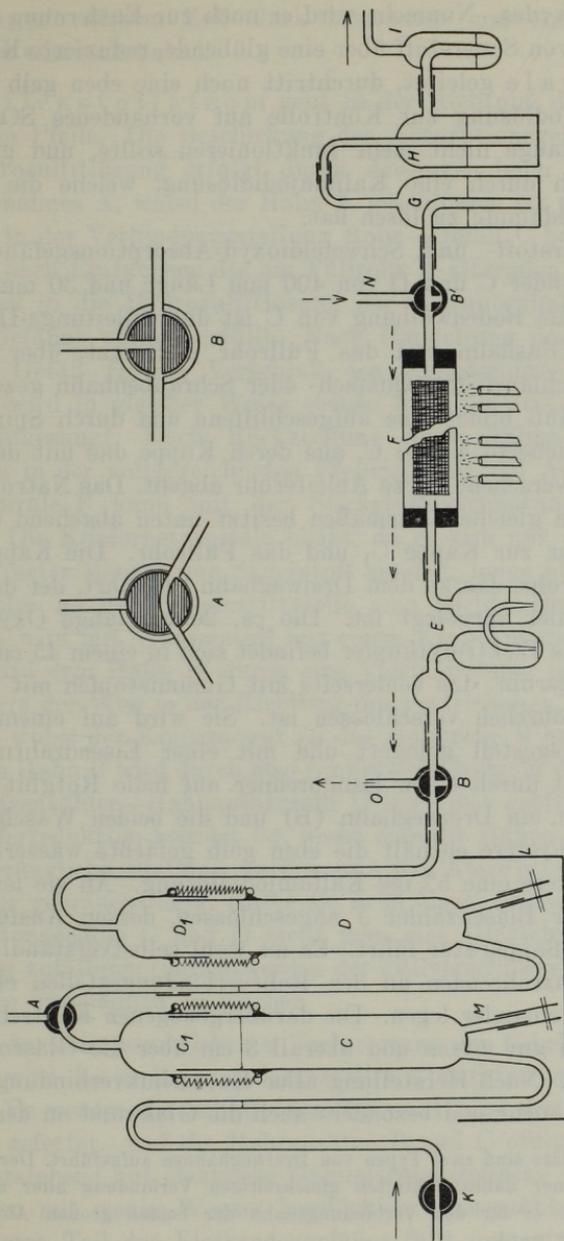


Abb. 5.

Schwefeldioxydes. Nunmehr wird er noch zur Entfernung der letzten Spuren von Sauerstoff über eine glühende, reduzierte Kupfernetzspirale geleitet, durchtritt noch eine eben gelb gefärbte wässerige Jodlösung zur Kontrolle auf vorhandenes SO_2 , sofern die Natronlauge nicht mehr funktionieren sollte, und geht zum Schluß noch durch eine Kaliumjodidlösung, welche die mit gerissenen Joddämpfe zu lösen hat.

Als Sauerstoff- und Schwefeldioxyd-Absorptionsgefäße dienen die Glaszylinder C und D von 400 mm Länge und 30 mm innerer Weite. In die Bodenwölbung von C ist das Zuleitungs-Doppel-U-Rohr mit Glashahn und das Füllrohr angesetzt, über das ein Kautschukschlauch mit Quetsch- oder Schraubenhahn gezogen ist. Den Verschuß bildet eine aufgeschliffene und durch Spiralfedern im Sitz gesicherte Kappe C, aus deren Kuppe das mit dem Dreiweghahn A versehene kurze Ableiterrohr abgeht. Das Natronlaugengefäß D von gleichen Ausmaßen besitzt unten abgehend das Verbindungskrohr zur Kappe C₁ und das Füllrohr. Die Kappe trägt das Ableiterrohr, das zu dem Dreiweghahn ⁵ B führt, der dem Doppelblasenzähler vorgelegt ist. Die ca. 20 cm lange Oxydationsspirale F aus Elektrolytkupfer befindet sich in einem 45 cm langen Verbrennungsrohr, das beiderseits mit Gummistopfen mit Zu- und Ableitungsröhrchen verschlossen ist. Sie wird auf einem Mikroverbrennungsgestell gelagert und mit einer Eisendrahtnetzhalbrolle bedeckt durch einen Langbrenner auf helle Rotglut erhitzt. Darauf folgt ein Dreiweghahn (B) und die beiden Waschflaschen G und H. Erstere enthält die eben gelb gefärbte wässerige Jodlösung, letztere eine 5%ige Kaliumjodidlösung. An sie ist wieder ein einfacher Blasen-zähler J angeschlossen, dessen Ausführungsrohr zur Meßapparatur führt. Es ist wohl selbstverständlich, daß sich die Glasrohrenden an den Rohrverbindungsstellen eben und lückenlos aneinander legen. Die darübergezogenen Kautschukröhrchen müssen gut sitzen und überall 3 cm über die Glasrohrenden hinausragen. Nach Herstellung aller Kautschukverbindungen werden die Schläuche und besonders auch die Glaswand an den Enden

⁵ In der Skizze sind zwei Typen von Dreiweghähnen aufgeführt. Der Typus A schützt vor einer unbeabsichtigten gleichzeitigen Verbindung aller möglichen Wege, weshalb er für den Verbindungshahn der beiden großen Absorptionsgefäße gewählt wurde.

derselben mit dickem Zellonlack bestrichen, um Gasdiffusionen möglichst einzuschränken.

Der Stickstoffstrom geht in der Richtung der voll ausgezogenen Pfeile. Die Beschickung des Absorptionsgefäßes C mit der Hydrosulfitlösung erfolgt durch Ansaugen beim Rohransatz des Glashahnes A, wobei der Hahn K geschlossen ist und sich der Hahn A in der Verbindungsstellung Rohr—Gefäß C befindet. Dabei wird nach Eintauchen des am Füllrohr M sitzenden Kautschukschlauches in die Hydrosulfitlösung der Schraubenhahn geöffnet. $\frac{3}{4}$ des Gefäßes werden gefüllt. Nach Umstellung des Hahnes A auf das Gefäß D und Verschuß des Ableiterohres durch den Hahn B wird in gleicher Weise ebenso hoch die 10%ige Natronlauge aufgesaugt. Nach Rückstellung aller Hähne auf freien Durchlaß in der vollgezeichneten Pfeilrichtung und Aufheizen der Kupferspirale F kann mit der Stickstoffdurchleitung begonnen werden. Die Kupfernetzspirale bleibt, da es sich nur um die Bindung kleinster Mengen von Sauerstoff handelt, lange blank. Sobald das Kupfer an der Gaseintrittsstelle eine leichte Dunkelfärbung aufweist, wird mit Wasserstoff aus einem Kipp-Apparat reduziert. Dabei wird dem Hahn B' durch eine Vierteldrehung im Sinne des Uhrzeigers der Weg in der Richtung des gestrichelten Pfeiles freigegeben, wobei der Kippapparat an das Hahnrohr N angeschlossen ist. Beim Hahn B wird durch eine Linksvierteldrehung desselben der Weg Blasenähler—Hahnansatzrohr O ins Freie geöffnet. Sobald die Kupferreduktion beendet ist, dreht man die Hähne B und B' in die ursprüngliche Stellung zurück und die Absorptionsapparatur ist wieder gebrauchsfähig. Unter die in in einem Stativ befestigten Absorptionsgefäße C und D stellt man eine Glasschale (L), um bei einem zufälligen Undichtwerden der Füllverschlüsse austretende Lösungen unschädlich zu machen.

Nach der oben beschriebenen Vorbereitung der Behelfe und Reagenzien wird die in Figur 1 dargestellte Apparatur meßbereit gemacht. Es werden die Schliffe des Hahnes H und des Elektrodengefäßes gefettet. Auf die Rohransätze B und C stülpt man etwa 2 cm vorstehend gut elastische Gummischlauchstücke und schließt an B den mit wenig Wasser beschickten Blasenähler. Auch in den unteren Teil des Elektrodengefäßes füllt man etwas Wasser,

um in der Kammer eine gleichmäßige Wasserdampfsättigung zu erhalten. Nun wird das am Rande gut eingefettete Becherglas, das zur Aufnahme des einen Agarheberschenkels, des Verbindungsrohrchens vom Kalomelhalbelement und eines Thermometers dient, mit konzentrierter KCl-Lösung gefüllt. Nunmehr erhält der Rohrstiel der Siebelektrode D einen leichten Glycerinüberzug, um in der Kautschukführung des Rohransatzes leicht zu gleiten. Die Elektrode wird so weit eingeschoben, daß sie einige Zentimeter über den unteren Rand des Glockenteiles der Kammer hinausreicht und so leicht mit Chinhydron beschickt werden kann. Die mit Chinhydron gefüllte Elektrode wird nunmehr so weit zurückgezogen, daß zwischen ihr und dem Tropfenteller etwa 1 cm frei bleibt. Am besten markiert man diese Stellung am Rohrstiel der Elektrode ein für allemal. Nun führt man durch den zweiten Rohrstutzen den zugespitzten Schenkel des Agarhebers nach vorheriger äußerlicher Trocknung und Glycerinierung ebenso weit wie die Elektrode ein. Dabei muß der zweite Schenkel in die KCl-Lösung des Becherglases tauchen. Auf den Tropfenträger G bringt man nun ca. 2 bis 3 Zehntel Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit bei geschlossenem Hahne H und führt diesen Kammerteil in den Schliff dicht sitzend ein. Jetzt wird die Stickstoffreinigungseinrichtung mit bereits erhitzter Kupfernetzspirale angeschlossen und der Zuleitungshahn K (Abb. 5) geöffnet. Dann dreht man den Hahn H (Abb. 1) vorsichtig so lange auf, bis sich am Blasenähler ein Durchströmungstempo von 2 bis 3 Stickstoffbläschen pro Sekunde einstellt. Abb. 6 zeigt die fertig zusammengestellte Apparatur. Die linke Teilabbildung gibt sie offen und füllbereit wieder, während sie rechts im Bilde gefüllt und meßbereit zu sehen ist.

Nunmehr schließt man die elektrische Meßeinrichtung mit Brücke und Röhrenvoltmeter an die Elektrode und an das Halbelement, damit nach der kurzen Einstellzeit die Messung sofort vorgenommen werden kann. Nach zwei Minuten dauernder Stickstoffdurchströmung wird die das Chinhydron enthaltende Siebelektrode und die Agarheberspitze, ohne sich gegenseitig zu berühren, eingesenkt und durch Drehen der Elektrode das Chinhydron in Tropfen verteilt. Nach weiteren drei Minuten unterbricht man den Stickstoffstrom durch Schließen des Hahnes H (Abb. 1) und macht die Messung bei Notierung der Temperatur, abgelesen

an dem in die KCl-Lösung eingetauchten Thermometer. Wie die zahlreichen Versuche ergeben haben, ist die Zeit von 5 Minuten zur Einstellung auf konstante Werte ausreichend. Für Serienmessungen in kurzen Zeitabschnitten ist es wichtig, beim Wechseln des Untersuchungstropfens die reine Stickstoffatmosphäre in der Reinigungsapparatur bis zum Einströmrohr der Elektroden-

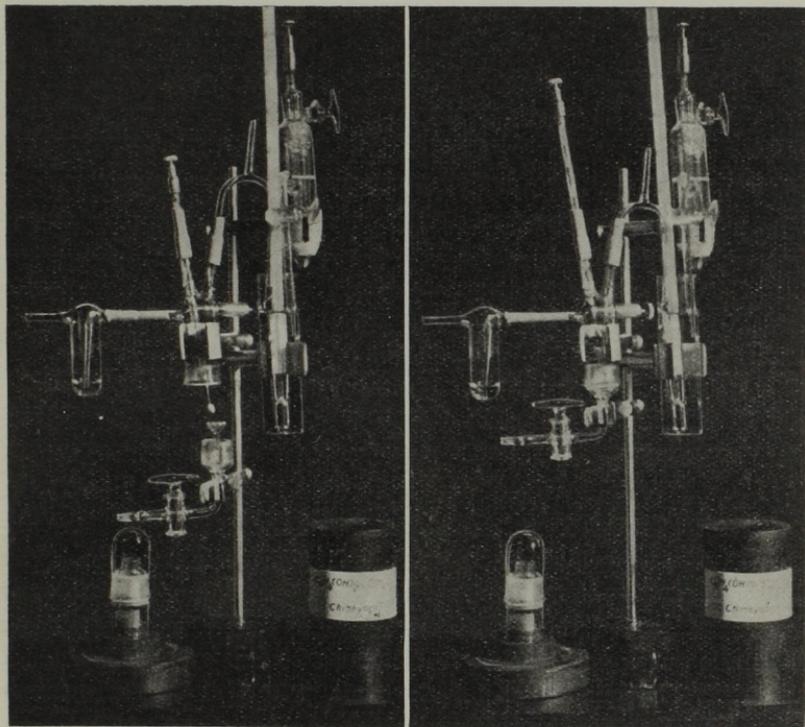


Abb. 6.

kammer dauernd zu erhalten. Deshalb öffnet man durch Lösung des Elektrodengefäßschliffes die Kammer bei geschlossenem Hahn H, reinigt den Tropfenteller G mit Filtrierpapier, senkt die Sieblektrode wie angegeben herab, wäscht sie durch Abspritzen mit destilliertem Wasser und reinem Alkohol und läßt sie lufttrocken werden, was sehr rasch erfolgt. Der Agarheber wird mit Filtrier-

papier abgetupft und dann gehoben. Nunmehr kann die neue Beschickung und Messung erfolgen.

Zur Überprüfung der Genauigkeit hat Dozent Dr. GORBACH Versuchsmessungen mit Puffertabletten der Firma „Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin“ vorgenommen. Das Ergebnis einer solchen Reihe ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Puffer-Tabletten- Lösung $P_H =$	Meßergebnis bei 18° C	
	Wasserstoff-Pt-Elektrode Einstellzeit 30' $P_H =$	Au-Chinhydronelektrode, Einstellzeit 5' $P_H =$
5,91	5,94	5,93
6 47	6,48	6,46
6 98	6 95	7,00
7,38	7,40	7,40
8,04	8,07	8,04
8,51	8,49	8 47
9 00	8,94	8,94
9 40	9,35	9,33
10,00	10,04	10,17

Dazu ist zu bemerken, daß auch die Messung mit der Wasserstoffplatin-elektrode mit der gleichen Apparatur unter Durchströmung mit gereinigtem Wasserstoff und platinierter Knopfelektrode durchgeführt wurde, wozu sich diese Einrichtung ebenfalls gut eignet. Dabei erhält man aber nur mit der in Abb. 1 unter K abgebildeten Knopfelektrode mit größerer, wirksamer Oberfläche konstant gute Resultate.

Im sauren Ast kann man selbstverständlich auch bei der Verwendung der Chinhydronelektrode auf die N-Atmosphäre ohne Nachteil verzichten. Die geschlossene Kammer ist aber insofern wertvoll, als dann keine Eintrocknung des Meßtropfens erfolgt.

Für die Konstanz der Einstellung und die Genauigkeit der Messung ist die Verwendung passender Apparate zur Messung der elektromotorischen Kraft bedeutungsvoll. Jedenfalls eignen sich wegen der geringen Kapazitäten der Strom-, bzw. Potentiale er-

zeugenden Elemente nur Meßeinrichtungen, die praktisch stromlos arbeiten. An erster Stelle steht hier das in verschiedensten Ausführungen hergestellte „Röhrenvoltmeter“. Auch wir benützen es stets für diese Messungen, wobei Elektronenröhren mit möglichst kleinem Gitterstrom angewendet werden, um dem Ideal „Stromlosigkeit“ weitgehend nahe zu kommen. Praktisch arbeitet keine Röhre stromlos, denn im Gitterkreis einer gewöhnlichen Radioröhre fließt immerhin noch ein Strom von ca. 10^{-8} Amp. Man baut deshalb für Meßzwecke besondere Spezialröhren, wie z. B. die Philips-Röhre 4060, bei der der Gitterstrom auf 10^{-14} bis 10^{-15} heruntergedrückt ist, worüber B. ELEMA⁶ näheres berichtet.

Hinsichtlich der Verwendbarkeit der beschriebenen Chinhydron-elektroden-Einrichtung muß natürlich den zu messenden Substraten, wie physiologische Flüssigkeiten, Kulturmedien, Enzymansätze etc. entsprechende Beachtung in bezug auf ihre chemische Zusammensetzung gezollt werden, um schwere Meßfehler zu vermeiden. Hier sind, wie schon teilweise einführend bemerkt, in erster Linie hohe Salz- und Proteinkonzentrationen zu berücksichtigen, die entweder die p_{H} -Werte heben oder drücken. Erstere dürften bei biologischen Untersuchungen kaum wesentlich in Erscheinung treten, da höhere Salzkonzentration als 0,4-Normal nicht vorkommen. Wohl aber können über 2% konzentrierte Proteinlösungen in natürlicher Form vorliegen, wo es aber auch meist möglich sein wird, bei entsprechenden Verdünnungen zu arbeiten. Viel unangenehmer erweist sich die Gegenwart von fein emulgiertem Fett, wie es z. B. in der Milch vorhanden ist. Man erhält dabei im allgemeinen zu hohe p_{H} -Werte, wie Vergleichsmessungen mit der Wasserstoffkette ergeben haben. A. UNMACK⁷ berichtet darüber und meint mit Recht, daß dieser „Fettfehler“ davon herrührt, daß sich das Chinon in Fett leichter löst als das Hydrochinon. Dadurch wird das Chinon-Hydrochinon-Verhältnis allzustark verschoben, was sich in einer fehlerhaften p_{H} -Messung auswirkt. Da der Fehler von der Größe des Fettgehaltes abhängt, läßt er sich ebenfalls korrigieren, wie UNMACK dartut.

⁶ De Glaselektrode en hare toepassing voor de bepaling van de Waterstofionconcentratie I en II. Chem. Weekbl. 28 (1931).

⁷ On the applicability of the quinhydrone electrode to fat emulsions. Yearbook 1934, Royal Veter. Agricult. College, Copenhagen.

Schließlich sei noch an die Möglichkeit der „Vergiftung“ der Elektrode gedacht, die sich am auffälligsten in der Unmöglichkeit der Potentialeinstellung zeigt. Jedenfalls müssen die zu messenden Substrate frei von H_2S und SO_2 sein, worauf besonders bei biologischen Kultursubstraten zu sehen ist. Ist eine Elektrode vergiftet, so regeneriert man sie nach kurzem, vorsichtigem Ausglühen in der nicht leuchtenden Bunsenflamme am einfachsten auf chemisch-elektrolytischem Wege.

In eine kleine Menge Königswasser (1 Mol HNO_3 + 3 Mol HCl oder annähernd gleiche Volumina beider Säuren) taucht man die Elektrode, bis das Gold weggelöst ist, was sich in längstens einer Minute vollzieht. Die nachher gut in destilliertem Wasser gewaschene Elektrode wird neuerlich, wie bereits angegeben, elektrolytisch vergoldet.

Die beschriebene Apparatur, mit entsprechenden Zusätzen versehen, kann auch für die Messungen von Potentialen bei Reduktions-Oxydations-Vorgängen („Redox“) ohne weiteres benützt werden, wie Versuche in unserem Institute ergeben haben.