

wodurch alles während der Verbrennung reduzierte Kupfer sowie die abgechiedene Kohle völlig oxydiert werden. Bei vorsichtiger Ausführung besteht keinerlei Gefahr, daß elementarer Sauerstoff in das Mikroazotometer gelangt, weil die glühende reduzierte Kupferspirale, an der man ein querschnittweises Fortschreiten der Oxydation mit freiem Auge wahrnehmen kann, diesen Übertritt völlig sicher verhindert.

3. Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl in kleinen Substanzmengen (Mikro-Kjeldahl).¹⁾

Die für die Bestimmung zu verwendende Substanz wird ebenso, wie schon bei *Mikro-Dumas* beschrieben, in Wägegläschen (Fig. 290) gewogen und in Verbrennungskölbchen (Fig. 293, *Vk*) eingebracht, welche aus

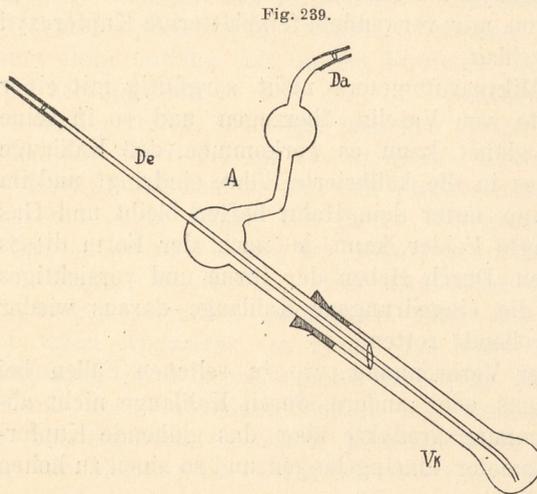


Fig. 293.

Da Ansatz zur Destillationsröhre.

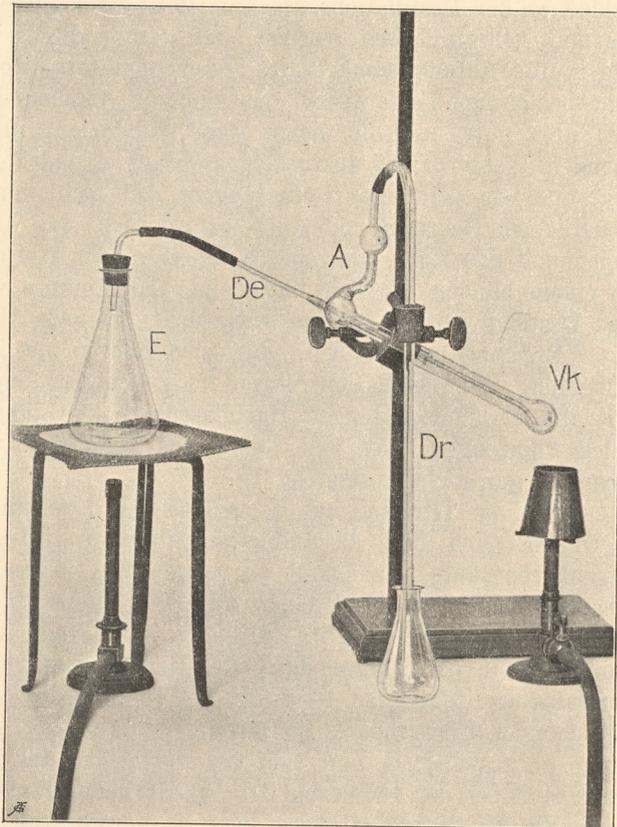
Resistenzglas-Eprouvetten gewöhnlicher Dimension durch Anblasen einer kleinen kugeligen Erweiterung an ihren Enden hergestellt worden sind. Nach Zufügen von etwa $\frac{1}{2}$ —1 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure und nach Einbringen von entsprechenden Zusatzmitteln je nach Bedarf (ich gebe gewöhnlich eine Messerspitze Kaliumsulfat und ebensoviel Kupfersulfat hinzu) wird über einer kleinen Flamme der kugelige Anteil des Kolbens zur Erhitzung gebracht. Dazu bedient man sich mit größtem Vorteil des Verbrennungsgestelles, wie wir es bei der Kohlenstoffbestimmung und bei *Mikro-Dumas* verwendet haben, indem man darauf ein entsprechend gebogenes Drahtnetz legt und einen Drahtbügel unter die eine obere Schiene einklemmt, durch welchen die Verbrennungskölbchen in entsprechender Schiefelage erhalten werden. Als Heizquelle bedient man sich der beiden äußersten Flammenspitzen eines Flachbrenners, so daß man mit größter Bequemlichkeit auf einem Verbrennungsgestell mit Hilfe von zwei Flachbrennern gleichzeitig 4 Proben erhitzen kann. In der Regel geht die Zersetzung in überraschend kurzer Zeit vonstatten. Wie bekannt ist es auch oft geradezu notwendig, um den

¹⁾ Der Erste, der meines Wissens quantitative Stickstoffbestimmungen nach dem Prinzip von *Kjeldahl* ausgeführt hat, war *Fritz Pilch*: Monatshefte f. Chemie. 32 (1911). S. 26. Sein Verfahren und die dabei verwendeten Hilfsmittel unterscheiden sich so vielfach von den hier zu beschreibenden, daß ich mich mit der Anführung begnügen darf.

richtigen Wert zu bekommen, längere Erhitzungsdauer anzuwenden und insbesondere dafür zu sorgen, daß elementarer Kohlenstoff in der Schwefelsäure vorhanden ist, welcher durch Zersetzung der letzteren eine beständige Neubildung von Wasser zu veranlassen hat. Zu diesem Ende setzt man, nachdem der Kölbcheninhalt zum erstenmal klar geworden ist, 2—3 Tropfen Alkohol aus einer Spritzflasche zu und setzt die Erhitzung fort. Die mit diesem Alkohol eingebrachte Kohlenstoffmenge genügt, um die notwendige Erhitzungsdauer um 5—10 Minuten zu verlängern. Ist nun der Kolbeninhalt völlig klar geworden, so kann man ohne weiteres sofort zum Abdestillieren des gebildeten Ammoniaks schreiten. Die Destillation erfolgt aus dem Verbrennungskölbchen selbst. Man erspart sich dadurch jedes Überfüllen und Nachspülen. Zu diesem Zwecke steckt man das Kölbchen, nachdem man $\frac{1}{2} \text{ cm}^3$ Wasser eingebracht hat, an den kleinen Glasapparat, der durch die nebenstehenden Abbildungen (Fig. 293 u. Fig. 294) dargestellt ist.

Dieser Apparat besteht aus einem völlig aus Glas gefertigten Destillationsaufsatz, der mittelst eines weitgebohrten Kautschukpfropfens auf das Zersetzungskölbchen (*Vk*) aufgesetzt wird und einer mit Hilfe eines Kautschukschlauchs daran angeschlossenen Destillationsröhre (*Dr*), die bis nahe an die ebene Tischplatte heranreicht. Der Destillationsaufsatz (*A*) besitzt ein Dampfleitungsrohr (*De*), dessen gebogenes Ende, wie aus der schematischen Zeichnung hervorgeht, in der kugelförmigen Erweiterung des

Fig. 294.



Destillation (Mikro-Kjeldahl) in Ausführung ($\frac{1}{6}$ nat. Größe).
Vk Verbrennungskölbchen. *A* Destillationsaufsatz. *De* Dampfleitungsrohr. *Dr* Destillationsröhre. *E* Erlenmeyerkolben zur Entwicklung von Wasserdampf.

Zersetzungskölbchens (*Vk*) schwach nach abwärts gebogen ist und dessen freies Ende mit Hilfe eines Kautschukschlauches mit einem Erlenmeyerkolben (*E*) rasch verbunden werden kann, in welchem ein kontinuierlicher Dampfstrom aus kochendem Wasser, dem etwas Zinkstaub zugesetzt ist, entwickelt wird. Die früher erwähnte Destillationsröhre (*Dr*) besteht aus einer Jenaer Hartglasröhre von 45 *cm* Länge und einem äußern Durchmesser von 8 *mm*, dessen oberstes Ende unter einem etwas kleineren als rechten Winkel abgebogen ist. Dieses winklig abgebogene Ende dient zum Anschluß an den Destillationsaufsatz mittelst einer kurzen Schlauchverbindung. Es muß hervorgehoben werden, daß gerade dieses Destillationsrohr (*Dr*) die größte Aufmerksamkeit des Experimentators erfordert, denn es schließt eine beständige Fehlerquelle, das sind die Alkalien des Glases, in sich. Es ist daher notwendig, ein neues Rohr stundenlang der Wirkung von strömendem Wasserdampf auszusetzen, worauf es tadellos gebrauchsfähig wird. Hat man ein derartiges Rohr längere Zeit nicht verwendet, so ist es vor neuerlichem Gebrauch unbedingt erforderlich, das Ausdämpfen zu wiederholen und das Rohr auf seine Reinheit in der Weise zu prüfen, daß man in einem blinden Versuch nach einer 10 Minuten währenden Destillation das Destillat durch Titration untersucht, ob noch Alkalien übergehen.

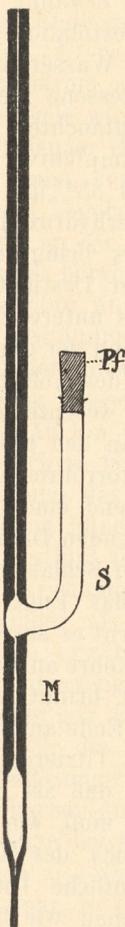
Erwähnen möchte ich, daß sich Röhren aus Zinn, Blei sowie auch aus Silber als Destillationsröhren noch weniger tauglich erwiesen haben, wie die erwähnten Jenaer Hartglasröhren; in jüngster Zeit konnte ich mich überzeugen, daß eine Röhre aus Quarzglas, vollkommen fehlerfrei, überdies gar nicht kostspielig ist.

Für die Titration hat es sich als das Zweckmäßigste erwiesen, $\frac{1}{70}$ -Normallösungen und als Indikator Methylrot (p-Dimethylaminoazobenzol-orthokarbonsäure) Kahlbaum zu verwenden. Folgender Weg hat sich als der beste bewährt: Nach einer mit Hilfe dieses Indikators genau hergestellten $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure wird eine $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge gestellt. Nun mißt man in ein 200 *cm*³ fassendes Meßkölbchen 28·6 *cm*³ dieser $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure, fügt dazu 1—2 Tropfen Indikatorlösung, die man sich durch Lösen eines Überschusses an festem Indikator in 1 *cm*³ $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge hergestellt hat und füllt bis zur Marke das Kölbchen voll. Ebenso geht man bei der Bereitung der $\frac{1}{70}$ -Normalnatronlauge vor. Es hat demnach die $\frac{1}{70}$ -Normalsalzsäure eine roserote, die $\frac{1}{70}$ -Normalnatronlauge eine kanariengelbe Farbe. Zum Titrieren verwende ich enge, 10 *cm*³ im ganzen fassende Büretten mit oder ohne Schellbachstreifen mit Quetschhahneinrichtung. Die Ausläufe bestehen aus engen Glasröhrchen, die auf eine Länge von 5—8 *cm* zu Kapillaren von einem äußeren Durchmesser von 1 *mm* ausgezogen sind. Infolge dieser Einrichtung kann man, da die Büretten in $\frac{1}{20}$ *cm*³ geteilt sind, mit größter Leichtigkeit denselben sowohl Flüssigkeitsmengen von 0·01 *cm*³ entnehmen, als auch durch Schätzung des Niveaustandes bestimmen. Da 1 *cm*³ einer $\frac{1}{70}$ -Normallösung 0·1 *mg* Stickstoff entspricht, so wäre die letzte durch diese Titration meßbare Stickstoffmenge gleich 0·002 *mg* Stickstoff.

Zur Bestimmung des Stickstoffs fügt man, wie schon erwähnt, das Zersetzungskölbchen an den in einem Stativ eingeklemmten Destillationsaufsatz, läßt die Destillationsröhre in ein kleines, ebenfalls durch Wasserdampf vorbehandeltes Erlenmeyerkölbchen, in dem sich eine gemessene Menge $\frac{1}{70}$ -Normalsalzsäure (je nach Bedarf 3—5 cm^3) befindet, eintauchen und setzt in den Kautschukschlauch, welcher die Verbindung zum Dampfentwickler besorgt, ein kleines Trichterchen, durch welches man soviel 33%ige Natronlauge einfließen läßt, bis es zur Ausscheidung von Kupferhydroxyd im Zersetzungskölbchen kommt. Nach Entfernung des Trichters bringt man den Schlauch an den Dampfentwickler und beginnt mit der Destillation, welche etwa 8—9 Minuten so geleitet werden soll, daß das untere Ende des Destillationsrohres in die vorgelegte Säure taucht. Während der ganzen Zeit ist es zweckmäßig, unter die kugelförmige Erweiterung des Kölbchens ein kleines Flämmchen zu bringen, wodurch die Destillation wesentlich erleichtert und beschleunigt wird. Nach dieser Zeit drehe man den ganzen Apparat derartig in der Klemme, daß das Ende des Destillationsrohres nicht mehr in die vorgelegte Säure eintaucht und überlasse während einer weiteren Minute das Rohr der Ausspülung durch die entweichenden Dämpfe. Die Unterbrechung der Destillation erfolgt durch Lösung der Schlauchverbindung mit dem Dampfentwickler. Hierauf spült man das Ende des Destillationsrohres von außen mit der Spritzflasche ab, entfernt es aus dem Verbindungsschlauch des Destillationsaufsatzes, faßt die heiße Röhre an einem Kork, den man aus diesem Grunde daran angebracht hat, bringt es in horizontale Lage und spült es von seinem winklig gebogenen Ende an 2- bis 3mal mit destilliertem Wasser aus. Nun schreitet man zum Titrieren der unverbraucht gebliebenen Säure. Es ist dabei zu bemerken, daß als Endpunkt der Reaktion der Farbenton rein kanariengelb sein muß, wie ihn die $\frac{1}{70}$ -Normalnatronlauge schon besitzt. Der Farbenvergleich des Kölbcheninhaltes mit dem Büretteninhalt ist daher eine wesentliche Unterstützung beim Titrieren, welches bei Tageslicht ebenso genau wie beim künstlichen Licht auszuführen ist. Die Multiplikation der bei der Destillation verbrauchten, mit einer Genauigkeit von 2 Dezimalen angegebenen Menge $\frac{1}{70}$ -Normalsalzsäure mit dem Faktor 0.2 ergibt das Gewicht der gesuchten Stickstoffmenge.

Es ist zweifellos, daß gerade diese Methode von großem Werte bei Stoffwechseluntersuchungen an kleinen Tieren sein wird. Es erscheint mir daher nicht überflüssig, hier anzuführen, wie genaueste Volummessungen an flüssigen Stoffwechselprodukten, z. B. Harn ausgeführt werden können. Dazu bediene ich mich einer durch die nachstehende Abbildung (Fig. 295) illustrierte Präzisionsauswaschpipette. Der erweiterte Teil faßt von der fein auslaufenden Spitze bis zu einer darüber befindlichen Marke (*M*) ein Volumen von 0.1—0.15 cm^3 , welches durch sorgfältige Auswägung mit Quecksilber unter Beobachtung und in Rechnungziehung der Temperatur und Reduktion der Gewichte auf den leeren Raum festgestellt worden ist. Der seitliche Schenkel (*S*) dieser kleinen Pipette ist während des Aufsaugens und Ab-

Fig. 295.



Präzisions-Auswasch-
pipette ($\frac{2}{3}$ nat. Größe).
M Ringmarke.
S Seitenschenkel.
Pf Pfröpfchen.

messens der betreffenden Flüssigkeit mit einem kleinen Pfröpfen (*Pf*) verschlossen. Indem man den Inhalt der Pipette in das Zersetzungsröhrchen teilweise ausfließen läßt, entfernt man den Pfröpfen und bringt, mit Hilfe eines lang ausgezogenen Glasröhrchens, konzentrierte Schwefelsäure auf den Grund der Biegung des seitlichen Schenkels und läßt sie ebenfalls durch die kapillare Spitze dieser Pipette in das Kölbchen auslaufen. Dadurch werden sämtliche bei der Abmessung in dem Apparat befindlich gewesenen Flüssigkeitsanteile in das Kölbchen entleert. Man macht sich dadurch unabhängig von den Messungsfehlern, welche durch wechselnde Dicke der am Glas adhärierenden Schichte bei verschiedener Viskosität der Objekte bedingt werden.

Auch bei den beiden Arten der Stickstoffbestimmung empfiehlt es sich für den Anfänger, sich zuerst mit einer reinen Substanz so lange zu beschäftigen, bis eine große Serie von hintereinander ausgeführten Bestimmungen gute Resultate gegeben hat. Ich empfehle dazu wieder reines Leuzin, bei dem man mit Leichtigkeit, selbst bei Verwendung von nur 4 oder 5 mg, mit der Theorie (10.69% N) bis auf wenige Hundertstelprozente übereinstimmende Werte erhalten wird. Und im Ernstfalle greife man immer wieder darauf zurück, um damit die Apparate, Reagenzien und die eigene Übung zu prüfen.

Anmerkung. Obwohl ich über keinen hierauf bezüglichen Versuch verfüge, möchte ich hier der Meinung Raum geben, daß auf Grund der im früheren erwiesenen genauen Bestimmbarkeit kleiner Ammoniakmengen durch Destillation und Titration die Möglichkeit gegeben ist, den Phosphor in kleinen Mengen organischer Substanzen zu bestimmen. Der Weg wäre folgender:

Nach Verbrennung einiger Milligramm gewogener Substanz auf „nassem Wege“ fällt man die stark salpetersäurehaltige Flüssigkeit mit Ammoniummolybdat, wäscht den Niederschlag an der Handzentrifuge, spült ihn in ein Zersetzungskölbchen und bestimmt darin das Ammoniak im Sinne der vorstehenden Vorschrift.

Einige Beleganalysen.

a) älteren Datums und mit der älteren Form der Absorptionsapparate ausgeführt.

Naphtalin	11.69 mg :	6.66 H ₂ O,	40.10 CO ₂ =	6.38% H,	93.55% C gef.
	8.11 " :	4.73 " "	27.83 " =	6.53% " "	93.59% " "
				6.29% " "	93.71% " ber.
Cholesterin	12.14 " :	13.22 " "	37.32 " =	12.18% " "	83.88% " gef.
	11.94 " :	13.06 " "	36.61 " =	12.24% " "	83.63% " "

Cholesterin	10·87 mg : 11·87 H ₂ O, 33·32 CO ₂ = 12·22% H, 83·60% C gef.	
	13·30 " : 14·53 " 40·98 " = 12·23% " 84·04% " "	
		12·00% " 83·86% " ber.
Leuzin	10·26 " : 9·06 " 20·64 " = 10·11% " 54·86% " gef.	
	5·09 " (745; 14°) : 0·468 cm ³ N = 10·72% N gef. 10·69% N ber.	
	6·72 " (725; 15°) : 0·639 " " = 10·75% " " 10·69% " "	
	8·79 " (725; 15°) : 0·832 " " = 10·67% " " 10·69% " "	
	10·91 " : 5·87 cm ³ $\frac{n}{70}$ HCl = 0·174 mg N = 10·76% gef.	
	6·44 " : 3·47 " $\frac{n}{70}$ HCl = 0·694 " " = 10·77% "	
p-nitro-Benzylchlorid	6·20 " (715; 18°) : 0·450 cm ³ N = 8·01% gef., 8·17% ber.	
Pyranthren	10·20 " : 4·37 H ₂ O, 35·59 CO ₂ = 4·79% H, 95·16% C gef.	
		4·80% " 95·20% " ber.
Perylen	11·90 " : 5·44 " 41·62 " = 5·12% " 95·38% " gef.	
		4·80% " 95·20% " ber.
Indanthren	10·35 " : 2·87 " 28·86 " = 3·10% " 76·05% " gef.	
		3·19% " 76·00% " ber.
	1·99 " (700; 17°) : 0·120 cm ³ N = 6·54% N gef., 6·34% N ber.	
Dibenzoyl-1-5-dia- mino-anthrachinon	12·38 " 41·57 H ₂ O, 34·19 CO ₂ = 4·13% H, 75·32% C gef.	
		4·06% " 75·31% " ber.
	2·86 " (705; 17°) : 0·170 cm ³ N = 6·49% N gef., 6·28% C ber.	
Anthrazin	13·40 " 5·13 H ₂ O, 43·29 CO ₂ = 4·28% H, 88·11% C gef.	
		4·24% " 88·39% " ber.
	9·71 " (715; 17°) : 0·621 cm ³ N = 7·08% gef., 7·37 ber.	
Flavanthren	10·84 : 4·10 mg H ₂ O, 35·06 CO ₂ = 4·23% H, 88·21 gef.	
		4·24% " 88·39 ber.
	4·24 mg (715; 18°) : 0·288 cm ³ N = 7·50% N gef., 7·37% ber.	
Pr-1n-methyl-2-methyl- 3-isopropylindol	10·97 " : 9·10 H ₂ O, 33·60 CO ₂ = 9·29% H, 83·53% C gef.	
		9·15% " 83·36% " ber.
	5·70 cm ³ N (710; 18°) : 0·387 " = 7·44% N gef., 7·49% N ber.	
	7·00 cm ³ N (713; 17°) : 0·468 " = 7·39% " " 7·49% " "	
α -Bromisocapronyl- phenylalanin	9·38 " : 4·91 H ₂ O, 18·12 CO ₂ = 5·86% H 52·68% C gef.	
		5·89% " 52·62% " ber.
	12·53 : 2·65 cm ³ $\frac{n}{70}$ HCl = 0·53 mg N = 4·23% N gef., 4·10% ber.	
	7·06 : 1·48 " $\frac{n}{70}$ HCl = 0·296 " " = 4·19% " " 4·10% "	
α -Brombutyryl- phenylalanin	9·18 cm ³ : 4·55 H ₂ O, 16·70 CO = 5·55% H, 49·61% C gef.	
		5·16% " 49·67% " ber.
	7·27 : 1·60 cm ³ $\frac{n}{70}$ HCl = 0·320 mg N = 4·40% N gef., 4·46% ber.	

b) mit der neuen Form der Absorptionsapparate ausgeführt von
Dr. S. Etlbacher.

Choleinsäure	8·02 mg : 7·38 H ₂ O, 21·58 CO ₂ = 10·30% H, 73·39% C gef.	
		10·28% " 73·41% " ber.
Naphtalin	10·50 " : 6·20 " 36·04 " = 6·60% " 93·61% " gef.	
	11·21 " : 6·35 " 38·46 " = 6·39% " 93·56% " "	
		6·30% " 93·70% " ber.
Cholesterin	8·69 " : 9·59 " 26·74 " = 12·35% " 83·92% " gef.	
		12·00% " 83·86% " ber.

Dibenzoyl-1-5-diamino- anthrachinon	8·97 mg:	3·14 H ₂ O,	24·80 CO ₂ =	3·92 ⁰ / ₀ H,	75·40 ⁰ / ₀ C gef.
				4·06 ⁰ / ₀ „	75·31 ⁰ / ₀ „ ber.
Pyranthren	8·11 „ :	3·41 „	28·25 „ =	4·71 ⁰ / ₀ „	95·00 ⁰ / ₀ „ gef.
				4·80 ⁰ / ₀ „	95·20 ⁰ / ₀ „ ber.
Perylen	9·12 „ :	4·17 „	31·87 „ =	5·12 ⁰ / ₀ „	95·31 ⁰ / ₀ „ gef.
				4·80 ⁰ / ₀ „	95·20 ⁰ / ₀ „ ber.
Indolinon	8·85 „ :	5·41 „	24·19 „ =	6·84 ⁰ / ₀ „	74·55 ⁰ / ₀ „ gef.
				6·88 ⁰ / ₀ „	74·49 ⁰ / ₀ „ ber.
	4·06 „ (714; 17 ⁰):	0·315 cm ³ =	8·58 ⁰ / ₀ N gef.;	8·70 ⁰ / ₀ N ber.	
Anthrazin	7·77 „ :	3·05 H ₂ O,	25·26 CO ₂ =	4·39 ⁰ / ₀ H,	88·62 ⁰ / ₀ C gef.
				4·24 ⁰ / ₀ „	88·39 ⁰ / ₀ „ ber.
	5·34 „ (712; 15 ⁰):	0·351 cm ³ =	7·30 ⁰ / ₀ N gef.;	7·37 ⁰ / ₀ N ber.	
Trional	5·20 „ :	10·05 BaSO ₄ =	26·55 ⁰ / ₀ S gef.;	26·48 ⁰ / ₀ „ ber.	
	3·44 „ :	6·66 „	= 26·60 ⁰ / ₀ „	26·48 ⁰ / ₀ „	
Indanthren	2·91 „ (718; 17 ⁰):	0·162 cm ³ =	6·19 ⁰ / ₀ N gef.;	6·34 ⁰ / ₀ „ ber.	

Sämtliche, für die C-, H- und die beiden N-Bestimmungen erforderlichen Apparate sind von der Firma Gustav Eger, Graz, Zinzendorfgasse, genau nach meinen Angaben in der geschilderten Ausführung zu beziehen.

4. Die Bestimmung des Schwefels und der Halogene in kleinen Substanzmengen.¹⁾

Von Fritz Pregl und Max de Crinis.

Für die Abwägung der Substanz hat sich als das Zweckmäßigste erwiesen, diese in 3 cm langen und 1—1½ mm weiten, beiderseits offenen Kapillaren vorzunehmen. Zu diesem Ende wird die Kapillare, indem man sie mit dem schon erwähnten Aluminiumdrahtbänkchen auf die Wage bringt, gewogen; die auf einem Uhrglas mit einem kleinen Gaspistill, wenn nötig, zerriebene Substanz wird, indem man die Kapillare senkrecht in sie drückt, in einer Länge von 2—4 mm hineingepreßt. Dies macht ungefähr 4—8 mg Substanz aus. Die Kapillare wird nun abgeklopft und abgewischt, insbesondere dort, wo der freie Querschnitt der Substanz an dem einen Ende zutage tritt. Bei Körpern, welche sich nicht in der beschriebenen Weise auf den kleinen Raum gut zusammenpressen lassen, hilft man sich durch Nachschieben mit einem in das Lumen der Kapillare streng hineinpassenden Glasfaden. Die so beschickte Kapillare bringt man wieder mit dem Aluminiumdrahtbänkchen auf die linke Wageschale, und zwar so, daß das mit Substanz beschickte Ende während der Wägung über den Schalenrand (siehe Fig. 277) hinausragt und etwa davon abfallende Teile auch nicht mitgewogen werden können. Nun nimmt man die Kapillare, so wie beim Auflegen mit der Platinspitzenpinzette (*P*) von ihrer Unterlage ab und läßt sie ziemlich senkrecht in die vorher schon vorbereitete Bombenröhre hineinfallen. Diese bläst man sich aus Thüringer Weichglas von 1 cm

¹⁾ Die ersten, welche Halogen- und Schwefelbestimmungen in kleinen Mengen organischer Substanzen zur Ausführung brachten, waren *Emich* und *Donau*, Monatshefte f. Chemie. 30. 745. Die Hilfsmittel, deren sie sich dabei bedienten, sowie auch das Verfahren unterscheiden sich vielfach von dem unserigen.