

Quantitative Mikro-Elektroanalyse nach F. Pregl.

In der organischen Mikroanalyse kommt die elektrolytische Bestimmung von Metallen in erster Linie dann in Frage, wenn es sich um quantitative Bestimmungen von sehr geringen Metallmengen im organischen Material handelt, im besonderen daher für biologisches Material. Die Ausarbeitung der Bestimmung durch F. Pregl erfolgte aus ähnlichem Grunde (Kupferbestimmung in Gemüsekonserven). Ferner wird die elektrolytische Bestimmung wegen ihrer Genauigkeit zweckmäßig Anwendung finden, wenn eine Rückstandsbestimmung nicht durchführbar ist, z. B. bei der Bestimmung von Quecksilber. Schließlich käme die Mikro-Elektrolyse für die Bestimmung von Silber in Halogensilbergemischen zwecks indirekter Bestimmung von Halogenen nebeneinander in Betracht, doch sind die Fehlergrenzen der bisher in Frage kommenden Methoden noch zu groß.

Die Apparatur.

Die Mikro-Elektroanalyse ist durch eine ungemein einfache Apparatur ausgezeichnet.

Das Elektrolysengefäß besteht aus einem Reagensglas von 16 mm Durchmesser und 105 mm Länge. Die Kathode ist eine zylindrische Netzelektrode aus Platin von 10 mm Durchmesser und 30 mm Höhe. Die Elektrode ist an einem stärkeren Platindraht angeschweißt, welcher einen Stiel von 10 cm Länge bildet und oben umgebogen ist. An den oberen und unteren Rand der Netzelektrode sind 3 Glastropfen (1 bis 2 mm Durchmesser) angeschmolzen, um die Berührung der Elektrode mit der Glaswand zu vermeiden.

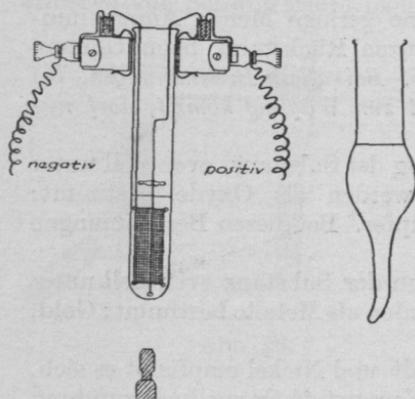


Abb. 30.

Glassterne trägt, damit die Anode nirgends an die Kathode stößt (s. Abb. 30).

Als Anode dient ein stärkerer Platindraht, welcher zwei aufgeschmolzene, dreizackige

Als Kühler dient ein geblautes Reagensglas, welches mit kaltem Wasser gefüllt wird.

Das Elektrolysengefäß wird in einem Hartgummiring mit Klammern eingesetzt. Der Hartgummiring trägt auf beiden Seiten die Klemmen zum Anschluß an die Stromquelle. Von den Klemmen führen Drähte zu kleinen Näpfchen, welche mit etwas Quecksilber beschickt werden. Beim Einsetzen der Elektroden werden diese mit den umgebogenen Enden in die Näpfchen getaucht. An der Vorderseite des Ringes befindet sich ein Platinhäkchen zum Aufhängen der Kathode. Der Hartgummiring ist durch eine Stativklemme hoch und seitlich verschiebbar; der Stativfuß dient gleichzeitig als Fassung für den Brenner.

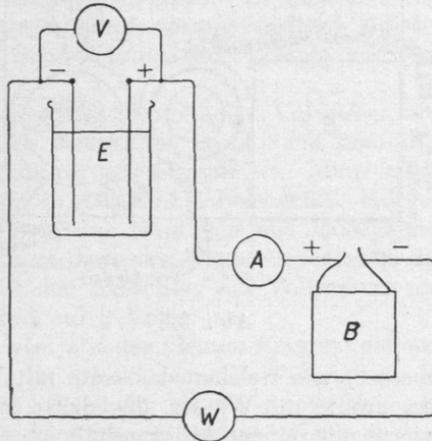


Abb. 31.

Stromquelle. Als Stromquelle können zwei Akkumulatoren verwendet werden, doch lassen sich diese durch gewöhn-

liche Taschenlampenbatterien¹⁾ vollkommen ersetzen. Eine Taschenlampenbatterie reicht für 15 bis 20 Bestimmungen, da der Stromverbrauch sehr gering ist (0,1 bis 0,15 Ampere). Elektrolysen mit 1,5 bis 2,5 Volt Badspannung können mit einer Batterie ausgeführt werden, für höhere Spannungen (5 bis 6 Volt) schaltet man eine zweite dazu (+Pol der Batt. 1 und —Pol der Batt. 2 werden verbunden). Als Widerstand verwendet man am besten einen einfachen regulierbaren Widerstand für 400 Ohm, wie er in jeder Radiohandlung um billiges Geld zu haben ist.

Schaltung. Die Schaltung ist in Abb. 31 wiedergegeben. Ein Pol der Batterie wird direkt mit der Klemme am Gummiring verbunden (eventuell durch ein Amperemeter A), der zweite Pol geht durch den Widerstand W zur Klemme. Die Verbindung zum Voltmeter V wird direkt von den beiden Klemmen aus hergestellt. Als Voltmeter verwendet man einfache Apparate in Form einer kleinen Weckeruhr mit einem Meßbereich bis zu 8 Volt. Mit

¹⁾ Taschenlampenbatterien als Stromquelle für die Mikro-Elektrolyse wurden erstmalig von R. Strebinger verwendet. Der kurze Messingstreifen ist der positive Pol.

Hilfe des früher erwähnten Widerstandes läßt sich die Spannung auf 0,1 Volt genau regulieren. Ein Stromwender, den man sich leicht selbst herstellen kann, ist nicht unbedingt erforderlich, da sich die Elektroden leicht umschalten lassen. Die ganze Mikroelektroanalyse läßt sich mit wenig Geld herstellen, der einzig

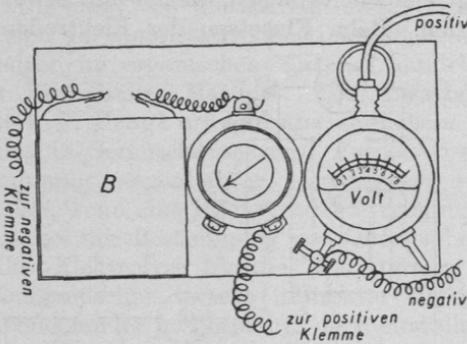


Abb. 32.

kostbare Teil ist die kleine Netzelektrode aus Platin. Die Batterien samt Widerstand und Voltmeter lassen sich bequem in einer kleinen Schachtel unterbringen (Abb. 32).

Behandlung der Kathode. Die Kathode wird vor jeder Wägung gereinigt und getrocknet. Man verwendet hierzu vier Reagensgläser von ungefähr 20 mm Durch-

messer, von welchen das erste mit konzentrierter Salpetersäure, das zweite mit Wasser, das dritte mit 96%igem Alkohol und das vierte mit reinem Äther gefüllt ist. Die Elektrode wird der Reihe nach in die Flüssigkeiten langsam eingetaucht und schließlich hoch über den Flammengasen eines Bunsenbrenners getrocknet. Zum Abkühlen, welches 5 Minuten erfordert, hängt man die Elektrode auf den Platinhaken des Gummiringes. Die Elektrode wird zur Wägung auf die Waagschale gestellt (nicht gehängt) und ruht auf den drei angeschmolzenen Glaskugeln.

Bestimmung des Kupfers in schwefelsaurer Lösung nach F. Pregl.

Zerstörung der Substanz. Die Zerstörung der organischen Substanz, sei es im Bombenrohr mit konzentrierter Salpetersäure oder im Kjeldahl-Kölbchen mit Schwefelsäure, Salpetersäure und Perhydrol, muß immer so beendet werden, daß die Salpetersäure durch Kochen mit Schwefelsäure bis zum Auftreten der Schwefeltrioxydschwaden vertrieben wird. Dann ist die Schwefelsäure weitgehendst einzuengen, wobei man mit freier Flamme erhitzt und einen Luftstrom durch das Kölbchen bläst. Zur Zersetzung von Nitrosylschwefelsäure und Vertreibung der nitrosen Dämpfe wird die restliche Schwefelsäure mit Wasser verdünnt und ge-

kocht. Die Lösung kann dann direkt in das Elektrolysengefäß überleert werden.

Durchführung der Elektrolyse. Das Elektrolysengefäß wird mit heißer Schwefelchromsäure behandelt, dann gründlichst gewaschen. Das zur Elektrolyse gelangende Flüssigkeitsvolumen soll nur 6 bis 7 ccm betragen. Bei Testanalysen von reinem Kupfersulfat wägt man einen kleinen Kristall im Wägeröhrchen ein und überleert in das Elektrolysengefäß. In diesem Falle, wie immer, wenn eine neutrale Kupferlösung vorliegt, müssen einige Tropfen verdünnter Schwefelsäure der Lösung zugefügt werden.

Die Apparatur, verbunden mit Stromquelle, Voltmeter und Widerstand wird vollkommen vorbereitet, so daß mit dem Einsetzen der Anode der Stromkreis geschlossen ist. Man bringt zuerst die gewogene Kathode in das Elektrolysengefäß, läßt sie mit dem umgebogenen Ende in das Näpfchen mit Quecksilber eintauchen (negativer Pol), führt dann die Anode ein und setzt den Kühler auf. Man beobachtet den Ausschlag des Voltmeters und reguliert mit dem Widerstand auf 2 Volt.

Das Elektrolysengefäß wird mit der kleinen Flamme geheizt. Nach der Vorschrift F. Pregls erhitzt man die Flüssigkeit, bis sie in lebhaftes Wallen gerät, wobei der an der Anode sich entwickelnde Sauerstoff den Siedeverzug verhindert. Nach unseren Erfahrungen ist es besser, nur bis zu Beginn des Siedens zu erhitzen und die Temperatur während der Elektrolyse immer etwas unter dem Siedepunkt zu halten. Es kann sonst vorkommen, daß an der Kathode Dampfblasen aufsteigen und einen Verlust an Kupfer bedingen, da dieses nicht besonders fest haftet.

Durch das Erhitzen ändert sich die Badspannung; man reguliert auf 2 Volt nach. Nach Ablauf von 25 bis 30 Minuten (vom Erhitzen der Lösung gerechnet) dreht man die Flamme ab, schiebt den Gummiring mit dem Elektrolysengefäß zur Seite und kühlt das Elektrolysengefäß mit kaltem Wasser, welches man zweimal wechselt. Nach völligem Abkühlen der Lösung ergreift man die Elektroden, zieht *zuerst die Anode* und dann *sofort die Kathode heraus*, wobei man achtet, daß sich die Elektroden nicht berühren. Die Kathode taucht man der Reihe nach in destilliertes Wasser, 98%igen Alkohol, reinen Äther, trocknet sie hoch über den Flammgasen des Bunsenbrenners, glüht das umgebogene Ende des Stieles schwach durch, um Spuren von Quecksilber zu entfernen und hängt sie schließlich auf den Platinhaken des Gummiringes zum Abkühlen. Nach 5 Minuten kann die Elektrode gewogen werden. *Die Nullpunktlage der Waage ist genau zu berücksichtigen.*

Nach beendeter Wägung wird die Elektrode, wie früher beschrieben, durch Eintauchen in konzentrierte Salpetersäure, Wasser, Alkohol, Äther wieder gereinigt und dann getrocknet. Die Bestimmung gibt sehr genaue Resultate.

Über die elektrolytische Bestimmung von Kupfer in salpetersaurer Lösung siehe: Benedetti-Pichler, Ztschr. f. analyt. Chem., 62, 321, 1923.

Bestimmung des Quecksilbers nach A. Verdino.¹⁾

Die Elektrode. Für die Bestimmung von Quecksilber muß die Platin-Netzelektrode vergoldet werden. 50 mg reines Goldblech werden in Königswasser auf dem Wasserbade gelöst. Die Lösung wird unter wiederholtem Zufügen von Wasser zur Trockene gedampft, der Rückstand in 5 ccm Wasser gelöst, mit 0,65 g Cyankalium versetzt und in das Elektrolysengefäß überleert. Das Elektrolysengefäß wird auf 55 Grad geheizt (am besten mit einem Wasserbad), die Elektroden eingesetzt und das Gold durch zwei-stündige Elektrolyse bei 3, 5 Volt Spannung auf die Netzelektrode niedergeschlagen. Die Elektrode wird dann nach der früher beschriebenen Weise durch Eintauchen in Wasser, Alkohol und Äther und Trocknen in den Flammgasen zur Wägung vorbereitet.

Die Zerstörung der organischen Substanz erfolgt durch Erhitzen im Mikro-Bombenrohr mit konzentrierter Salpetersäure (270 bis 280 Grad, 2 Stunden). Über Einwaage und weitere Behandlung des Bombenrohres siehe Mikro-Carius-Methode S. 85.

Nach dem Erkalten wird die Kapillare der Bombe, von der Spitze beginnend, gelinde erwärmt, um die kondensierte Flüssigkeit in den kühlen Teil des Bombenrohres zu treiben. Dann wird die Bombe geöffnet (s. S. 87). Die abgesprengte Spitze wird zunächst über dem Elektrolysengefäß mit Wasser ausgespült, der Bombeninhalte in das Elektrolysengefäß überleert und mit Wasser nachgewaschen. Nach dem Absprengen des Bombenrohres unterbleibt selbstverständlich das bei der Carius-Methode vorgeschriebene Rundschmelzen der Bruchstelle. Wurde zur Einwaage eine Kapillare verwendet, so muß diese gründlichst ausgespült werden. Die gesamte im Elektrolysengefäß gesammelte Flüssigkeitsmenge soll 5 ccm betragen.

Elektrolyse. Zur Durchführung der Elektrolyse taucht man das Elektrolysengefäß zunächst in ein Becherglas mit Wasser, welches auf 40 Grad gehalten wird. Nach dem Einsetzen der

¹⁾ Mikrochemie VI, 5 (1928).

Elektroden (zuerst die Kathode) reguliert man die Spannung auf 3 bis 5 Volt und elektrolysiert durch 40 Minuten bei 40 Grad.

Zur Beendigung der Analyse entfernt man das Becherglas mit warmem Wasser, kühlt die Lösung im Elektrolysengefäß vollkommen ab und entfernt dann die beiden Elektroden bei geschlossenem Stromkreis. Die Kathode (Netzelektrode) wird der Reihe nach in destilliertes Wasser, 96%igen Alkohol und reinen Äther getaucht. Das Trocknen der Elektrode *erfolgt ohne Erwärmen, nur durch Schwenken an der Luft*. Der umgebogene Griff der Elektrode wird einmal schwach geglüht, um eventuelle Quecksilberteilchen zu entfernen. Nach 5 Minuten ist die Elektrode abgekühlt und kann gewogen werden (Nullpunkt berücksichtigen). Die Bestimmung gibt sehr gute Resultate.

Die Mikro-Carboxylbestimmung nach F. Pregl.

Die Carboxylbestimmung ist die einfachste aller Atomgruppenbestimmungen. Sie wird durch Titration der eingewogenen Substanz mit $n/100$ Lauge unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt. Die Titration wird zweckmäßig in einem 50 ccm fassendem Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Geräteglas ausgeführt, welches vorher mit heißer Schwefelchromsäure behandelt, dann gründlichst ausgewaschen und ausgedämpft wurde. Kölbchen aus Quarz sind nicht unbedingt erforderlich, jedoch sehr vorteilhaft, da sie jeden Glasfehler ausschließen.

Die Einwaage der Substanz führt man am besten im Wägeröhrchen durch (s. S. 77) und überleert sie in das Titrationskölbchen, dessen Hals man vorher trocken gewischt hat. Als Lösungsmittel kann Wasser, verdünnter Alkohol, 96%iger Alkohol oder auch Pyridin in Verwendung kommen. Das Lösungsmittel welches man nach erfolgter Einwaage zufügt, wird immer vorher in einem Kölbchen erhitzt (Wasser oder Alkohol gekocht) und nach Zusatz von einem Tröpfchen alkoholischer Phenolphthaleinlösung auf die erste, einige Sekunden bestehende Rotfärbung titriert. Zum Zusetzen der Phenolphthaleinlösung nimmt man am besten Kapillaren von ungefähr 1 mm Lumen, läßt einige Millimeter hoch aufsteigen und bläst das Tröpfchen aus.

Von dem neutralisierten heißen Lösungsmittel gibt man 5 bis 10 ccm in das Kölbchen mit der Substanz und beginnt sogleich mit der Titration. In der Regel fügt man nach Erreichung der

ersten Rotfärbung 0,3 bis 0,5 ccm Säure zu, kocht auf und titriert wieder mit Lauge auf die erste, einige Sekunden bestehenbleibende Rotfärbung zurück. War das Lösungsmittel, wie vorangehend beschrieben, vorher aufgeköcht und neutralisiert, ehe es der eingewogenen Substanz zugefügt wurde, so kann man die Titration auch *ohne Ansäuern* in einem Zuge zu Ende führen, vorausgesetzt, daß die Lauge nicht carbonathaltig ist. Bei flüchtigen Säuren oder leicht zerlegbaren Acetylverbindungen bzw. Estern unterläßt man das Aufkochen mit Säure und titriert nur mit Lauge bis zum Neutralpunkt.

Sehr zweckdienlich ist es, während der Titration eine passende Reibschale unter das Titrationskölbchen zu stellen und bei Beurteilung des ersten Farbumschlages das Kölbchen in die Reibschale zu halten. Der erste Farbton läßt sich so sehr leicht erkennen, besonders am Abend, wenn man mit einer Tageslichtlampe arbeitet.

Eine Reihe aromatischer Oxysäuren kann mit Phenolphthalein als Indikator nicht titriert werden, da durch die saure Reaktion der phenolischen Hydroxylgruppen ein Mehrverbrauch an Lauge bedingt ist.

Titration von Aminosäuren nach A. Graßmann und W. Heyde.¹⁾

Nach Willstätter und Waldschmied-Leitz²⁾ kann in Aminosäuren die Carboxylgruppe direkt bestimmt werden, wenn die Titration in alkoholischer Lösung erfolgt, wodurch die Bildung von Hydroxylionen völlig verhindert wird. Für die Mikromethode wird Thymolphthalein (alkoholische Lösung) als Indikator verwendet. Die Titration erfolgt mit n/100 alkoholischer Kalilauge (90%iger Alkohol), deren Titer am besten täglich durch Stellung gegenüber n/10 Säure kontrolliert wird.

Der Eintritt hellblauer Färbung, nicht die erste Farbänderung gilt als Endpunkt der Titration. Zur Beurteilung des richtigen Farbtones wird eine mit überschüssigem Ammoniak versetzte 1/400 molare Kupferchloridlösung als Vergleichslösung verwendet, welche mit der Titrationslösung in einem innen weiß ausgekleideten Kasten (um fremdes Licht abzublenden) bei Anwendung einer 200kerzigen Tageslichtlampe verglichen wird.

Da aber der Umschlag des Indikators in alkoholischer

¹⁾ Ztschr. f. physiol. Chem. **183**, 32 (1929).

²⁾ B. **54**, 2988 (1921).

Lösung nicht so scharf ist wie in wäßriger Lösung und zur Erreichung des gewünschten Farbtones eine alkoholische Lösung mehr Lauge verbraucht als eine wäßrige Lösung, ist die Menge des angewendeten Alkoholes sehr wesentlich. Für die zur Titration erforderliche Menge Alkohol wird der Blindwert bestimmt und vom Titrationsergebnis in Abzug gebracht.

Zur Durchführung der Bestimmung wird die Substanz in einem bestimmten Flüssigkeitsvolumen gelöst, davon eine gemessene Menge entnommen, mit 0,1%iger alkoholischer Thymolphthaleinlösung versetzt (für 0,2 ccm Lösung 2 Tropfen Thymolphthaleinlösung) und auf Blaufärbung titriert. Dann wird die 9fache Volumsmenge der ursprünglich verwendeten Lösung an absolutem Alkohol zugefügt, worauf die Blaufärbung wieder verschwindet und die Titration bis zum neuerlichen Eintreten des hellblauen Farbtones fortgesetzt wird.

Die Methode gibt ungemein genaue Resultate und ermöglicht Titrationen kleinster Substanzmengen; sie entspricht jedoch nicht bei extrem verdünnten Lösungen. Aminosäuren, in der Konzentration einer $n/100$ Säure, mit der 10fachen Alkoholmenge versetzt, lassen sich noch gut titrieren. Bei größerer Verdünnung der Aminosäure gibt man weniger Alkohol; die kleinste zulässige Konzentration der alkoholischen Lösung liegt bei 80%.

Mikroanalytische Bestimmung von Methoxyl- und Äthoxylgruppen.

Für die mikroanalytische Bestimmung von Methoxyl- und Äthoxylgruppen stehen drei Methoden zur Verfügung: Die gravimetrische Methode nach F. Pregl, die maßanalytische Bestimmung nach H. Lieb und die maßanalytische Bestimmung nach F. Vieböck und C. Brecher. Von diesen Methoden ist die letztgenannte wegen ihrer Einfachheit vorzuziehen.

Gravimetrische Methode nach F. Pregl.

(Mikro-Zeisel.)

Der Mikro-Methoxyl-(Äthoxyl-)Bestimmung liegt die Makromethode von J. Zeisel zugrunde. Prinzip: Methoxyl- und Äthoxylgruppen werden durch kochende Jodwasserstoffsäure von der Dichte 1,7 unter Bildung von Methyljodid bzw. Äthyljodid gespalten. Das flüchtige Alkyljodid wird durch einen