

Reagenskapillaren, ein neuer Behelf für die Mikroanalyse, und ihre Anwendung zum Nachweis von Nitrat und Nitrit.

Von **Friedrich L. Hahn**.

Aus dem Chemischen Institut der Universität Frankfurt am Main.

(Eingelangt am 14. März 1930.)

Die empfindlichste und eine streng eindeutige Reaktion auf Nitrit ist unstreitig die Diazoprobe mit Sulfanilsäure und α -Naphthylamin. Für Nitrat gibt es zwei Reaktionen gleicher Empfindlichkeit: Die Diphenylaminprobe¹⁾ (als Oxydationsreaktion mit Vorsicht zu behandeln!) und die Reduktion zu Nitrit mit ausschließender Diazoprobe, die natürlich wieder eindeutig ist²⁾. Wenn trotzdem immer wieder neue Reaktionen beschrieben werden, die den bekannten an Empfindlichkeit nicht überlegen und dabei Oxydationsreaktionen, also nicht einmal streng eindeutig sind³⁾, so liegt das wohl in einem Umstand begründet: Sowohl das Diazo- wie das Diphenylaminreagens färben sich beim Aufbewahren leicht an und werden dadurch zum Nachweis kleinster Mengen unbrauchbar. Für das Diazoreagens habe ich vor einiger Zeit eine einfache Bereitungs- und Aufbewahrungsart angegeben, die diesen Mißstand restlos vermeidet (vgl. Anm. 1); inzwischen ist gerade für die typisch mikrochemische Arbeitsweise eine Anordnung gefunden worden, die überaus einfach und allgemein zur Aufbewahrung solcher Reagentien geeignet ist, die durch irgendwelche Bestandteile der Laboratoriumsluft leiden können.

¹⁾ TILLMANS und SULTHOFF. Ztschr. angew. Chem. **28**, I, 471 (1915). FR. L. HAHN und JAEGER. Ber. D. Chem. Ges. **58**, 2340 (1925).

²⁾ FR. L. HAHN und JAEGER. Ber. D. Chem. Ges. **58**, 2335 (1925).

³⁾ Z. B. F. PAVELKA. Mikrochemie (N. Folge), **2**, 46 (1930).

Aus geeigneten Glasröhren fertigt man Kapillaren von 1 bis 2 mm Durchmesser und diese wiederum zieht man in der Mikroflamme in Abständen von 5 bis 6 cm auf 0,1 bis 0,2 mm Durchmesser aus; in der Mitte dieser dünnen Stellen bricht man dann die Kapillaren auseinander, so daß also Röhrchen von folgender Form entstehen: Mittelteil 1 bis 2 mm Durchmesser und 5 bis 6 cm lang, an jedem Ende ein verengtes Stück von 0,1 bis 0,2 mm Durchmesser und zirka 1 cm Länge.

Diese Röhrchen taucht man mit einem Ende in das Reagens, läßt es bis auf 0,5 bis 1 cm in den weiteren Teil einsteigen und schmilzt nun die feinen Enden, zunächst das untere, gefüllte, dann das obere zu. In dieser Weise kann man von dem frisch hergestellten Reagens eine größere Zahl Kapillaren abfüllen, deren jede dann zu einer einzelnen Probe dient.

Von der zu prüfenden Lösung bringt man einen Tropfen auf einen Objektträger. Nun bricht man von einer Reagenskapillare auf der gefüllten Seite die äußerste Spitze ab, faßt die Kapillare am entgegengesetzten Ende und erwärmt sie oberhalb der Lösung in der Mikroflamme. Den austretenden Tropfen des Reagens tupft man auf den Objektträger ab und bringt das offene Ende der Kapillare in den Probetropfen. Dieser wird, da die Kapillare sich abkühlt, rasch und vollständig eingesogen; man taucht dann die Kapillare zum Nachspülen noch kurz in den vorher ausgetriebenen Reagentropfen und schmilzt das Ende wieder zu. Zeitdauer der beschriebenen Vorgänge etwa 15 Sekunden. Danach kann man in der geschlossenen Kapillare, wenn nötig, die Reaktion bei gewöhnlicher oder erhöhter Temperatur reifen lassen.

Wenn Reagentien einige Zeit nach der Herstellung noch Trübungen absetzen, so kann man die Kapillaren, während sie oben noch offen sind, umknicken lassen, zuschmelzen und vor Gebrauch zentrifugieren, wie ich das kürzlich beschrieben habe⁴⁾; man zieht hierfür die engen Stellen auf nicht weniger als 0,2 mm aus und kann dann das ganze Sediment mit der abzubrechenden Spitze entfernen.

Selbstverständlich sind die Kapillaren so zu verwahren, daß auch ihre Außenfläche vor Verunreinigung geschützt ist; notfalls kön-

⁴⁾ Mikrochemie, PREGL-FESTSCHRIFT, 127 (1929). Die Kapillaren halten über 5000 Umdrehungen in der Minute aus!

nen sie aber vor Gebrauch leicht mit einem feuchten und dann einem trockenen Leinenlappen abgerieben werden.

Diphenylaminreagens. Während im allgemeinen die gewöhnliche konz. Schwefelsäure zur Bereitung des Reagens ungeeignet ist (Blindproben färben sich blau), liefert die folgende Vorschrift stets ein farbloses Reagens von hoher Empfindlichkeit.

Ein Teil Diphenylamin wird mit zwanzig Teilen Natriumchlorid verrieben. Von diesem Gemisch werden 20 mg mit 1 cm³ Wasser übergossen und hierzu auf einen Guß 2 cm³ konz. Schwefelsäure gegeben. Unter Erwärmen und heftigem Aufschäumen geht sofort alles in Lösung⁵⁾. Das Reagens ist damit gebrauchsfertig; in den Kapillaren hält es sich anscheinend unbegrenzt. Manchmal setzt sich am oberen Rande der Flüssigkeit ein grüngrauer Anflug ab; er sitzt fest und stört daher die Probe nicht im mindesten; man muß nur soviel Reagens aus der Kapillare austreten lassen, daß der Rand nicht wieder erreicht wird.

Empfindlichkeit:	Reagensglas	Kapillare
Angewandtes Volumen ⁶⁾ . . .	1 cm ³	1 mm ³
Erfassungsgrenze (NO ₂ ') . . .	0,1 γ	0,01 γ
Grenzkonzentration	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵

Diazoreagens. Es wurde bereitet, wie früher angegeben (Anm. 2).

Empfindlichkeit:	Prüfzylinder	Kapillare
Angewandtes Volumen . . .	100 cm ³	1 mm ³
Erfassungsgrenze (NO ₂ ') . . .	0,1 γ	10 ⁻⁴ γ
Grenzkonzentration	10 ⁻⁹	10 ⁻⁷

Bleireagens für die Reaktion von NO₃' zu NO₂' (Anm. 2). Man zieht Kapillaren aus schwer schmelzbarem Glas, verengt sie in Abständen von etwa 12 cm, trennt sie in den Mitten der ver-

⁵⁾ Vermutlich entfernt die HCl-Entwicklung im Augenblick des Lösens die in der Schwefelsäure vorhandenen Nitrose-Spuren, ehe sie mit dem Diphenylamin reagieren können.

⁶⁾ Alle Volumina, mithin auch die Erfassungsgrenzen, können noch etwas kleiner sein; bei den angegebenen Grenzkonzentrationen sind die Reaktionen deutlich und unbedingt sicher.

engten und der weiteren Teile und schmilzt die verengten Enden zu. Es entstehen also Röhrrchen von 1 bis 2 mm Durchmesser und zirka 6 cm Länge, an einem Ende offen, am anderen in ein etwa 1 cm langes Stück von 0,1 bis 0,2 mm Durchmesser übergehend, dieses am Ende verschmolzen. Man füllt wie zu einer Schmelzpunktbestimmung etwas fein zerriebenes Bleiformiat ein, zieht nun das offene Ende ebenfalls aus (Achtung: Nicht die Öffnung in die Flamme bringen, sondern daneben erhitzen!), verkohlt das Bleiformiat durch gelindes Erwärmen über der Mikroflamme und schmilzt die obere Öffnung zu.

Zum Gebrauch bricht man beide Spitzen ab, läßt Lösung eintreten, schmilzt zu, erwärmt 5 bis 15 Minuten auf dem Wasserbad, öffnet die untere Spitze, treibt die Lösung durch Anwärmen der Kapillare auf einen Objektträger und prüft sie mit Diazoreagens.

Empfindlichkeit:	Reagensglas	Kapillare
Angewandtes Volumen	1 cm ³	1 mm ³
Erfassungsgrenze (NO ₃ ')	1 γ	4 · 10 ⁻³ γ
Grenzkonzentration	10 ⁻⁶	4 · 10 ⁻⁶

Ein Vergleich der Nitrit-Diazo-Probe und der Nitrat-Blei-Diazo-Probe zeigt, daß die Ausbeute an Nitrit bei der Reduktion des Nitrats mit Bleireagens zirka 13% für die Reagensglasprobe und zirka 52% für die Kapillarprobe beträgt; so erklärt es sich, daß bei der Nitratprobe mit Übergang zu kleineren Stoffmengen die Grenzkonzentration nicht so stark ansteigt, wie man das sonst gewöhnt ist.

Mikro-Niederschlagsreaktion auf Nitrit.

Handelt es sich nicht um den Nachweis allerkleinster Nitritmengen, so verdient vor der Diazoprobe die schon früher von mir angegebene Fällungsreaktion mit 2,4-Diamino-6-oxy-pyrimidin den Vorzug⁷⁾. Sie ist streng eindeutig, bequem auszuführen und gerade von solcher Empfindlichkeit, daß die „reinen“ Reagentien des gewöhnlichen Laboratoriums negative Blindproben geben. Sie eignet sich vorzüglich zur Mikroausführung.

⁷⁾ Ber. D. Chem. Ges., 50, 705 (1917). Die Salze der Base sind farblos löslich; Nitrit fällt eine praktisch unlösliche, erdbeerfarbene Nitroso-Verbindung. Die Darstellung des Reagens ist einfach; die Firma Merck, Darmstadt, wollte es übrigens unter dem Namen „Rosit“ vorrätig halten.

In eine beiderseits offene, ein- oder beidseitig verengte Prüfkapillare läßt man ein Mikrotröpfchen der zu prüfenden Lösung und darauf die gleiche oder eine etwas größere Menge Reagens eintreten. Es kann die ges. Lösung des schwer löslichen Sulfats oder die des Chlorids ($0,1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$), beide unter Zusatz von etwas freier Säure, oder die Lösung der freien Base in 2n-Essigsäure ($0,1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) verwendet werden⁸⁾. Tritt nicht eine mit bloßem Auge sichtbare Reaktion ein, so läßt man das obere Ende der Kapillare in der Mikroflamme abknicken und zentrifugiert (Anm. 4). Man findet bei Anwendung von 1 mm^3 :

Gehalt der Probe	Erscheinung
0,1 γ deutliche rosa Trübung	} sofort erkennbar
0,05 γ schwache rosa Trübung	
0,02 γ starkes rosa Sediment	} nach dem Zentrifugieren
0,01 γ schwaches rosa oder gelbes Sediment	
0,005 γ geringes gelbes Sediment	

Empfindlichkeit:	Reagensglas	Kapillare
Angewandtes Volumen	1 cm^3	1 mm^3
Erfassungsgrenze (NO_2')	20 γ	< 0,01 γ
Grenzkonzentration	$2,10^{-5}$	< 10^{-5}

Hier tritt also der seltene Fall ein, daß die Mikroprobe der Reagensglasprobe nicht nur in bezug auf die Erfassungsgrenze um das 2000fache überlegen ist, sondern sie sogar in der Grenzkonzentration zum mindesten erreicht, vielleicht sogar übertrifft⁹⁾; es zeigt sich sehr deutlich der große Vorteil des Zentrifugierens.

⁸⁾ Die Lösungen sind frisch zu bereiten, da besonders die mineral-sauren sich allmählich zersetzen; auf genaue Einhaltung der Konzentration kommt es nicht an.

⁹⁾ Je nachdem, ob man nur den typisch erdbeerfarbenen oder auch den abnormen gelblichen Niederschlag als beweiskräftig ansehen will; dieser kommt vermutlich so zustande, daß bei sehr kleinen Nitritmengen verhältnismäßig viel Pyrimidin mit niedergefallen wird. Auch die gefärbten Niederschläge sind stets schwerer, als der angewandten Nitritmenge entspricht (vergl. Anm. 7). Da die Blindproben einwandfrei klar bleiben, darf man wohl auch die gelben Niederschläge als beweiskräftig ansehen.