

Zu diesem Zwecke wägt man sich nach dem Verfahren, das für die Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in Flüssigkeiten schon ausführlich dargelegt worden ist, die erforderliche Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit in einer ebenfalls mit einer winzigen Menge von Kaliumchlorat ausgestatteten und schließlich zugeschmolzenen Kapillare ab. Die Füllung des Verbrennungsrohres erfolgt genau so wie sonst bei Stickstoffbestimmungen, nur mit dem Unterschiede, daß an die Stelle, wo sich sonst die mit feinem Kupferoxyd gemischte Substanz im Rohre befindet, ein zylindrisches, frisch oxydiertes Kupferdrahtnetzröllchen von etwa 40 mm Länge und 5 mm Durchmesser als schützender Träger der Kapillare zu liegen kommt. In dieses Röllchen schiebt man die knapp zuvor ihres Griffes und ihrer Spitze durch Abbrechen beraubte Kapillare ein und läßt beides, mit der Spitze der Kapillare voraus, in das Rohr hineingleiten. Darauf wird wie gewöhnlich noch eine Schicht von grobem Kupferoxyd rasch aufgefüllt. Die Verbrennung erfolgt wie sonst. Die Resultate sind geradezu theoretisch.

V. Die Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl in kleinen Substanzmengen (Mikro-Kjeldahl).

Das Abwägen fester Substanzen (3—5 mg) für diese Bestimmung erfolgt, wie für die Ausführung des Mikro-Dumas, in Wägegäschchen, aus denen sie in das Verbrennungskölbchen eingebracht und nach Zufügen von etwa 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz von einer Messerspitze Kaliumsulfat und ebensoviel Kupfersulfat¹⁾ über kleiner Flamme erhitzt werden. In der Regel geht die Zersetzung in überraschend kurzer Zeit vonstatten. Wie bekannt, ist es auch oft geradezu notwendig, um den 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 Zwecke setzt man, nachdem der Kölbcheninhalt zum erstenmal klar geworden ist, 2—3 Tropfen Alkohol aus einer Spritzflasche zu und erhitzt dann weiter. Die mit diesem

¹⁾ Ivar Bang ging ebenso vor, nur setzte er 2—3 Tropfen einer 5proz. Kupfersulfatlösung vor.

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.

Hat man die Zersetzung der organischen Substanz im Destillationskölbchen selbst vorgenommen, so erspart man sich das Überfüllen und Nachspülen. Aus ökonomischen Gründen empfehle ich aber, die Zersetzung in Hartglaseprouvetten üblicher Dimension vorzunehmen, deren geschlossenes Ende zu einem Kölbchen von etwa 30 mm Durchmesser aufgeblasen ist, und nach beendeter Zersetzung den abgekühlten und mit Wasser verdünnten Inhalt in das Kölbchen des Destillationsapparates überzuspülen, weil dieses seines immerhin wertvollen Schliffes wegen besser vor hoher Erhitzung bewahrt werden soll.

Der Destillationsapparat (Abb. 21) hat gegenüber meinem ursprünglich beschriebenen insofern einige Veränderungen erfahren, als das Destillationskölbchen *K* und sein Aufsatz *A* etwas größer dimensioniert und durch einen feinen Schliff miteinander luftdicht verbunden werden¹⁾. Man verabsäume nicht, den Schliff mit Vaseline zu dichten, um ein Einwachsen desselben unter der Wirkung der siedenden Lauge sicher zu vermeiden. Das absteigende Kühlrohr ist jetzt mit einem kleinen Kühler versehen. Die Anwendung des Kühlers ist insbesondere aus dem Grunde empfehlenswert, weil auch dann, wenn das absteigende Kühlrohr nicht aus Quarz, sondern aus Jenaer Hartglas besteht, die Abgabe von Alkali aus dem nicht erhitzten Glase kaum merklich ist und die anfänglichen Schwierigkeiten des Ausdämpfenmüssens sonach wegfallen.

Wie aus der Abbildung ersichtlich, befestigt man diesen Destillationsapparat in zwei Klemmen, die mit Muffen an einem eisernen Querstab angebracht sind, welcher seinerseits ebenfalls mit einer Muffe auf dem vertikalen Stativstab in der Höhe verschiebbar festsetzt. In die eine Klemme spannt man den schrägliegenden Destillationsaufsatz samt Kolben, die andere trägt den Kühler. Eine dritte, unmittelbar an der Stativstange tiefer unten befestigte Klemme trägt das Kölbchen *E* mit der vorgelegten Säure, in die das Kühlrohr eintaucht.

¹⁾ Auf Veranlassung von Herrn Eugen Kolisko wird er in dieser Ausführung von der Firma Paul Haack, Wien IX, Garelligasse 1, angefertigt.

Als Titerflüssigkeiten verwendet man am zweckmäßigsten $\frac{1}{70}$ -n-Lösungen und als Indikator Methylrot (p-Dimethyl-

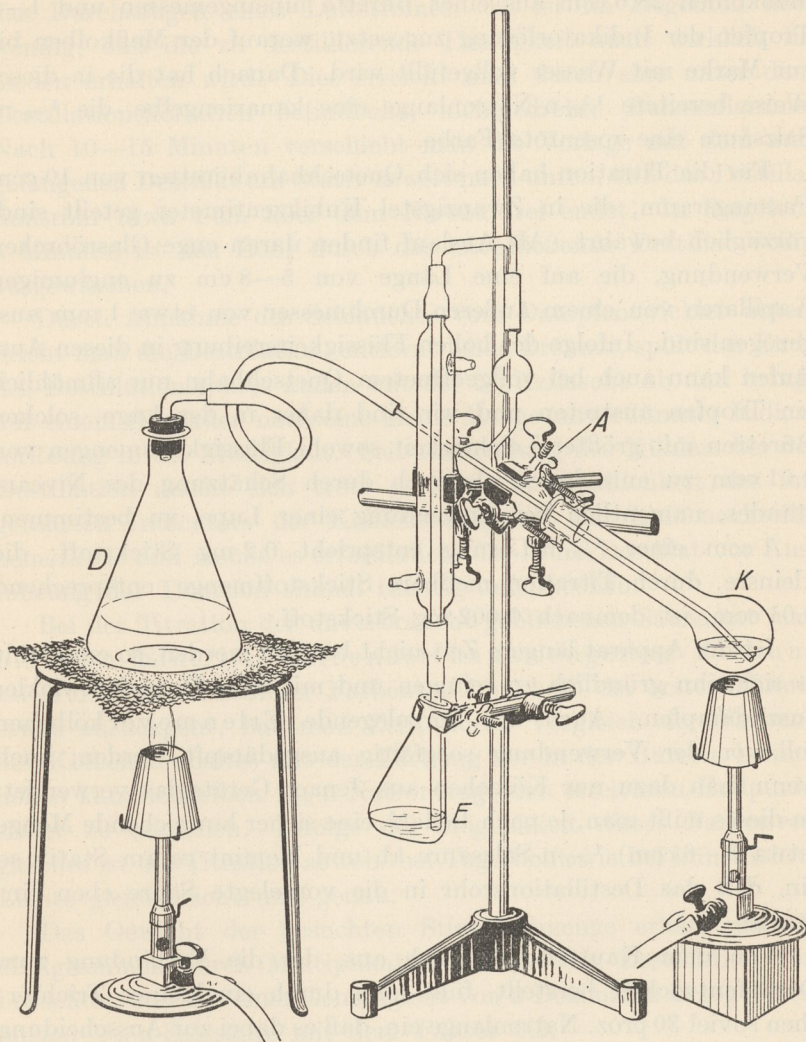


Abb. 21. Mikro-Kjeldahl. ($\frac{1}{5}$ natürl. Größe.)

D Dampfentwickler, *K* Destillationskolben, *A* Destillationsaufsatz, *E* Erlenmayerkölblehen mit der vorgelegten Säure als Vorlage.

aminoazobenzolorthocarbonsäure), gelöst in einer zur völligen Lösung nicht hinreichenden Quantität $\frac{1}{10}$ -n-Natronlauge. Zur Bereitung dieser geht man von $\frac{1}{10}$ -n-Salzsäure und $\frac{1}{10}$ -n-

Natronlauge aus, die mit Hilfe dieses Indikators genau gestellt worden sind. Von diesen Lösungen werden in einen 200 ccm-Meßkolben 28,6 ccm aus einer Bürette hineingemessen und 1—2 Tropfen der Indikatorlösung zugesetzt, worauf der Meßkolben bis zur Marke mit Wasser vollgefüllt wird. Danach hat die in dieser Weise bereitete $\frac{1}{70}$ -n-Natronlauge eine kanariengelbe, die $\frac{1}{70}$ -n-Salzsäure eine rosenrote Farbe.

Für die Titration haben sich Quetschhahnbüretten von 10 ccm Fassungsraum, die in Zwanzigstel Kubikzentimeter geteilt sind, vorzüglich bewährt. Als Auslauf finden daran enge Glasröhrchen Verwendung, die auf eine Länge von 5—8 cm zu englumigen Kapillaren von einem äußeren Durchmesser von etwa 1 mm ausgezogen sind. Infolge der hohen Flüssigkeitsreibung in diesen Ausläufen kann auch bei vollgeöffnetem Quetschhahn nur allmählich ein Tropfen austreten und wir sind daher in der Lage, solchen Büretten mit größter Leichtigkeit sowohl Flüssigkeitsmengen von 0,01 ccm zu entnehmen als auch durch Schätzung des Niveaustandes, namentlich bei Anwendung einer Lupe, zu bestimmen.

1 ccm einer $\frac{1}{70}$ -n-Lösung entspricht 0,2 mg Stickstoff; die kleinste, durch Titration meßbare Stickstoffmenge, entsprechend 0,01 ccm, ist demnach 0,002 mg Stickstoff.

Ist der Apparat längere Zeit nicht benützt worden, so empfiehlt es sich, ihn gründlich zu reinigen und mit dem Dampfentwickler auszudämpfen. Auch das vorzulegende Erlenmeyerkölbchen soll vor der Verwendung sorgfältig ausgedämpft werden, auch wenn man dazu nur Kölbchen aus Jenaer Geräteglas verwendet. In dieses mißt man, je nach Bedarf, eine sicher hinreichende Menge (etwa 3—6 ccm) $\frac{1}{70}$ -n-Salzsäure ab und klemmt es am Stativ so ein, daß das Destillationsrohr in die vorgelegte Säure eben eintaucht.

Von dem Kautschukschlauch aus, der die Verbindung zum Dampfentwickler herstellt, füllt man durch ein kleines Trichterchen soviel 30 proz. Natronlauge ein, daß es dabei zur Ausscheidung von Kupferhydroxyd kommt. Durch Verbindung des Schlauches mit dem schon vorgeheizten Dampfentwickler wird die Destillation begonnen. Um ein gleichmäßiges Sieden bei der Dampfentwicklung zu erhalten, ist es notwendig, dem Wasser in dem großen Erlenmeyerkolben, aus dem der Dampf entwickelt wird, einige Löffelchen Zinkstaub zuzusetzen. Für die völlig

restlose Überführung des gebildeten Ammoniaks in die vorgelegte Säure genügt aber die Dampfdestillation ebensowenig wie etwa das Durchsaugen eines Luftstromes. Es ist im Gegenteil notwendig, daß die zu destillierende Flüssigkeit auch wirklich im Sieden erhalten wird. Dies erreicht man durch eine unter dem Destillationskölbchen befindliche, kleingedrehte Bunsenflamme. Nach 10—15 Minuten verschiebt man die Vorlage mit dem aufgefangenen Destillat am Stativ soweit nach unten, daß das Destillationsrohr etwa 1 cm über dem Niveau frei endet. In längstens 5 Minuten ist das Rohr durch das nachfließende Destillat völlig ausgewaschen.

Durch Abnahme des Schlauches vom Dampfentwickler unterbricht man die Destillation, entfernt beide Brenner, spült das Ende des Destillationsrohres außen mit der Spritzflasche ab und bringt mit einem Glasfaden noch eine kleine Menge unverdünnter Indicatorlösung in die Flüssigkeit. Seit Anwendung des Kühlers bei der Destillation macht sich trotz geringer Empfindlichkeit des angeführten Indicators der Kohlensäuregehalt der Luft nachteilig bemerkbar und macht es erforderlich, das saure Destillat vor Ausführung der Titration einmal tüchtig aufzukochen.

Bei der Titration der unverbraucht gebliebenen Säure hat man bis zum Eintritt bleibender kanariengelber Färbung zu titrieren. Da dieser Farbenton innerhalb der ersten Minute etwas zurückgeht, hat man Zeit, durch Vergleich der Färbung des Kölbcheninhaltes mit der Färbung der in der Bürette befindlichen kanariengelben $\frac{1}{70}$ -n-Natronlauge den erreichten Endpunkt sicher zu erkennen. Infolge der Möglichkeit dieses Farbenvergleiches ist die Titration sowohl bei Tageslicht wie bei künstlichem Lichte gleich leicht und genau.

Das Gewicht der gesuchten Stickstoffmenge erhält man in Milligrammen durch Multiplikation der bei der Destillation verbrauchten und mit einer Genauigkeit von 2 Dezimalen angegebenen Menge $\frac{1}{70}$ -n-Salzsäure mit dem Faktor 0,2.

Für die Bestimmung des Stickstoffes in Flüssigkeiten, z. B. im Harn, habe ich schon in meiner ersten Mitteilung eine Präzisionsauswaschpipette angegeben. Die in nebenstehender Abbildung (Abb. 22) dargestellte ist in bezug auf Form und Handlichkeit der früheren vorzuziehen. Ihr bauchiger Teil faßt zwischen der Ringmarke und der fein auslaufenden Spitze

ein Volumen von 0,15 ccm, welches man noch durch sorgfältiges Auswägen mit Quecksilber unter Berücksichtigung der Temperatur einmal kontrollieren soll. Von einer Flüssigkeit, die mit dieser Pipette abgemessen wird, bleibt natürlich stets ein Anteil infolge der Benetzung ihrer Wand zurück. Daher ist es notwendig, vom erweiterten oberen Ende zuerst durch Nachspülen mit einigen Tropfen Wasser die Hauptmenge dieser Reste zu entfernen; zur Sicherheit läßt man die für die Oxydation erforderliche konzentrierte Schwefelsäure ebenfalls durch die Pipette laufen, um auch die letzten Anteile der abgemessenen Flüssigkeit daraus völlig zu entfernen.

I. K. Parnas und R. Wagner¹⁾ haben meinen vorhin geschilderten Destillationsapparat in sehr günstiger Weise für rasch aufeinanderfolgende Kettenbestimmungen modifiziert, weil sie sich, wie sie berichten, überzeugt haben, daß er der leistungsfähigste aller bisher angegebenen ist und auch bei schnellstem Destillieren das Alkali sicher zurückhält. Ähnlich befriedigt äußert sich übrigens M. Richter-Quittner über mein Verbrennungs- und Destillationsverfahren. Ich lasse nun am besten die Beschreibung des Verfahrens von Parnas und Wagner wörtlich folgen (s. Abb. 23):

„Der Destillierkolben *B* ist an seinem oberen Ende zu einer Kugel *b* aufgeblasen, welche der unteren Erweiterung *a* ungefähr gleich groß ist und durch welche das Einleitungsrohr *e* für Wasserdampf eingeschmolzen durchtritt. Aus derselben Erweiterung tritt wie im Aufsatz des Preglschen Kolbens das ableitende Rohr hervor, welches zu einem Destillieraufsatz nach Hopkins *c* erweitert ist. Dieser wird durch Gummi mit dem aufsteigenden Ast des Hartglasrohres *f* verbunden, das durch den Kühler absteigt und in die Säure in der Vorlage *p* eintaucht. Das Rohr *e*, welches den Wasserdampf in den Destillationskolben einleitet, endet sehr genau an der Stelle, welche dem tiefsten Punkt der Flüssigkeit entspricht, so daß man durch das Rohr die Flüssigkeit vollständig absaugen kann; außerhalb des Kolbens ist das Rohr nach oben zu gegabelt. Der obere Schenkel *g*

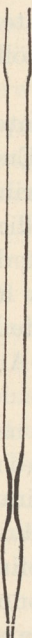


Abb. 22.
Mikro-
Aus-
wasch-
Pipette.
($\frac{1}{2}$
natürl.
Größe.)

¹⁾ Über die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl, Biochem. Zeitschr. **125**, 253—256. 1921.

ist durch ein Stück Gummirohr mit einem kleinen Trichterchen *m* verbunden, der untere *h*, der mindestens so hoch aufzusteigen hat wie der Schenkel *g*, durch ein längeres Stück Schlauch *s* mit einem Glasrohr *k*, welches in einem Korkstopfen steckt; dieser Korkstopfen wird von einem zylindrischen Rezipienten *D* getragen, dessen unterer Ablauf *d* mit Gummischlauch und Quetschhahn verschlossen ist und dessen obere Abzweigung *l* durch Gummischlauch mit dem Wasserdampfentwicklungskolben *A* verbunden ist. Der Wasserdampfentwicklungskolben trägt oben ein T-Rohr, dessen seitlicher Schenkel zum Apparat führt, während der vertikale Schenkel ein Steigrohr durchtreten läßt, das durch ein

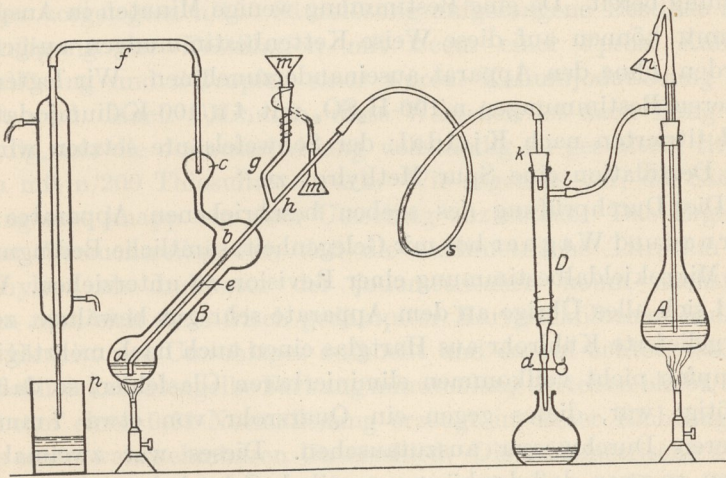


Abb. 23. Destillationsapparat von Parnas und Wagner.

Stückchen weichen Gummischlauch und einen Trichter *n* verschlossen ist. Weiche Schlauchstücke, welche oben einen kleinen Trichter tragen, stellen bequeme Ventile dar; wenn sie durch die Last des herabsinkenden Trichters abgeknickt sind, schließen sie die Röhren dicht ab.

Man heizt den Wasserdampfentwickler *A* an, indem man dem entweichenden Dampf durch den offenen Ablauf *d* freien Lauf läßt, und schreitet zur Füllung des Kolbens mit den bereits mit Wasser verdünnten Verbrennungsprodukten; man klemmt durch Abbiegen das Schlauchstück *s* vorsichtshalber ab, richtet den Trichter *m* auf, gießt die Flüssigkeit hinein, spült mit wenig Wasser nach, taucht das Ende des Kühlrohres in die beschickte Vorlage *p*

ein, gießt die Lauge mit etwas Thiosulfat versetzt, durch *m* nach, spült mit wenig Wasser nach, läßt den Trichter fallen und setzt den Mikrobrenner unter *a*; jetzt gibt man dem Wasserdampf durch das Schlauchstück *s* freien Weg, schließt dagegen *d* ab und destilliert im lebhaften Dampfstrom das Ammoniak ab. Sobald die Destillation beendet ist, wird die Vorlage abgenommen und die Brenner unter *A* und *a* entfernt. Der Inhalt des Kölbchens *a* wird dadurch sofort nach *D* zurückgesaugt und kann durch Öffnen von *d* abgelassen werden. Man kann jetzt durch *m* Wasser zum Ausspülen von *a* nachfließen lassen und dieses in gleicher Weise nach *D* wieder ablassen. Der Apparat ist dadurch für die nächste Füllung bereit. Da eine Bestimmung wenige Minuten in Anspruch nimmt, können auf diese Weise Kettenbestimmungen ausgeführt werden, ohne den Apparat auseinanderzunehmen. Wir legten bei unseren Bestimmungen $n/100\text{-H}_2\text{SO}_4$ mit $4\ n/100\text{-Kaliumjodat}$ vor und titrierten nach Kjeldal; der Schwefelsäure setzten wir vor der Destillation eine Spur Methylrot zu.“

Die Durchprüfung des soeben beschriebenen Apparates von Parnas und Wagner bot mir Gelegenheit, sämtliche Bedingungen der Mikrokjeldalbestimmung einer Revision zu unterziehen. Während sich alles Übrige an dem Apparate sehr gut bewährte, zeigte das gelieferte Kühlrohr aus Hartglas einen auch nach mehrtägigem Dämpfen nicht vollkommen eliminierbaren Glasfehler, so daß ich genötigt war, dieses gegen ein Quarzrohr von etwa 7 mm im äußeren Durchmesser auszutauschen. Dieses war zweimal gebogen, so zwar, daß der kürzere vertikale Schenkel von 5 cm Länge mit dem längeren, absteigenden vertikalen Schenkel von 35 cm Länge durch ein 15 cm langes, gegen letzteren aufsteigendes Zwischenstück verbunden war. Der längere Schenkel war im Bereiche seines oberen Teiles, also von der Umbiegungsstelle in der Ausdehnung von 20 cm Länge von einem $2\frac{1}{2}$ cm im Durchmesser messenden Kühlmantel aus Glas umgeben. Der früher noch störende Glasfehler ist seit Anwendung des Quarzrohres vollkommen geschwunden. Ich möchte hier besonders hervorheben, daß der Erste, der mikroanalytische Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl in organischen Substanzen ausgeführt hat, Pilch¹⁾, bereits auf die Eliminierung des Glasfehlers bedacht war und sich eines Metallkühlers mit einer Kühlröhre aus Platin bedient hat. Später

¹⁾ Monatsh. f. Chemie 32, 26. 1911.

hat Ivar Bang neben Kühlröhren aus Platin auch solche aus Silber empfohlen. Da aber heutzutage beide Metalle im Preise kaum erschwinglich sind, ist es wertvoll, im Quarz einen vollkommenen Ersatz zu besitzen, der sogar insofern bedeutende Bequemlichkeiten gewährt, als man durch ein längeres Kühlrohr in der Lage ist, auch mit Kölbchen von 25 und 50 ccm Inhalt, also solchen von beträchtlicher Höhe zu arbeiten.

Im Vereine mit Herrn Dr. Hans Wostall verglich ich meine ursprünglich angegebene acidimetrische Titration mit Hilfe von Methylrot als Indikator mit der von Ivar Bang¹⁾ angegebenen jodometrischen Methode. Sie besteht bekanntlich darin, daß das in der vorgelegten n/100 Säurelösung aufgefangene Destillat nach Beendigung der Destillation mit 2 ccm einer 5proz. Kaliumjodidlösung und 2 Tropfen einer 4proz. Kaliumjodatlösung versetzt wird. Nach 5 Minuten, diese Wartezeit ist nach Bang notwendig, um die Jodausscheidung vollständig zu gestalten, titriert man mit n/200 Thiosulfat zurück. Wir zogen es vor, die Stärkelösung erst knapp vor dem Umschlag zuzusetzen. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe war, daß die acidimetrische Titration mit Methylrot als Indikator der jodometrischen kaum nachsteht, wenn man sich stets frisch gedämpfter Hartglaskölbchen bedient, vor Eintritt des Umschlages aufkocht und darauf achtet, daß die schließlich kanariengelbe Färbung minutenlang bestehen bleibt, denn 0,01 ccm einer 0,01-Normallösung erzeugt in dieser Richtung bereits einen wahrnehmbaren Unterschied. Die acidimetrische Titration ist aber der jodometrischen insofern überlegen, als wir jederzeit in der Lage sind, bei Überschreitung des Umschlagspunktes durch Zurücktitrieren das richtige Resultat zu ermitteln.

Wir konnten uns weiter überzeugen, daß man mit dem Apparat von Parnas und Wagner bereits in der Zeit von 2 Minuten Stickstoffmengen von etlichen Milligrammen quantitativ in das Destillat überzutreiben imstande ist. Wir verfahren daher im Ernstfalle so, daß wir 3 Minuten bei eingetauchtem Ende des Destillationsrohres destillieren und nach Senken des vorgelegten Kölbchens weiter noch eine Minute die Destillation fortführen.

Im allgemeinen wird man mit Kupfersulfat als Sauerstoffüberträger bei der Zerstörung der organischen Substanzen völlig das

¹⁾ Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden 1916. J. F. Bergmann.

Auslaugen finden. In selteneren Fällen, namentlich bei gewissen Eiweißkörpern ist Quecksilber, am besten in Form von Quecksilbersulfat, notwendig, um die Stickstoffmenge in Ammoniak überzuführen, in solchen Fällen ist dann die Entbindung des Ammoniaks aus den Mercuriammoniumverbindungen mit Natronlauge allein kaum zu erreichen. Schon in früheren Zeiten hat man sich dazu des Natriumsulfides bedient. Dessen Verwendung ist namentlich bei der jodometrischen Titration unbedingt zu verwerfen, weil dadurch Schwefelwasserstoff in das Destillat gelangt. Daher ist es als ein sehr zweckmäßiger Vorschlag von Parnaß zu begrüßen, Thiosulfat der Lauge zuzusetzen; dieses scheidet sowohl aus Quecksilber- sowie auch aus Kupfersalzen die Metalle als Sulfide aus und man kürzt dadurch die Zeit für die Destillation wesentlich ab, ohne befürchten zu müssen, daß sie unvollständig bleibe.

VI. Die mikroanalytische Bestimmung der Halogene und des Schwefels.

Obwohl sich die Bestimmung dieser Elemente in wenigen Milligrammen organischer Substanzen, den Grundgedanken von Carius entsprechend, bishin durchwegs befriedigend gestaltet hat, stieß ich im Vereine mit dem leider zu früh verstorbenen Dr. Emil Schwinger im Herbst 1912 (gelegentlich seiner längeren Anwesenheit in meinem Institute zu Innsbruck) auf einen Körper, der erst nach mehrtägigem Erhitzen mit konzentrierter Salpetersäure auf 300° den korrekten Halogenwert lieferte. Es war dies ein von Herrn Kollegen Scholl mir gesandtes Präparat eines Chlormethylanthrone. Dieser Fall war der Anlaß, ein Verfahren zu suchen, bei dem die Zerstörung der organischen Substanz durch Verbrennen im Sauerstoffstrom in kurzer Zeit vollständig bewirkt und in den entstandenen Verbrennungsprodukten die Halogene als Halogensilberverbindungen gewogen werden sollten. Schon nach wenigen orientierenden Versuchen konnten Schwinger und ich brauchbare Zahlen dadurch erhalten, daß die Verbrennungsprodukte zuvor über glühendes Platinblech und dann über Porzellanperlen geleitet wurden, die mit natriumbisulfithaltiger Sodaaflösung befeuchtet waren. Der Zweck des Natriumbisulfitzusatzes war, etwa entstehende Natriumhalogenate oder -hypohalogenite