

schlag der Schwefelmetalle, welche durch Uebung leicht zu erlangen ist. Ich bin überzeugt, dass diese Methode in vielen Fällen wirklich von Nutzen sein wird, da sie es ermöglicht die Anwendung des sehr übelriechenden und schädlichen Schwefelwasserstoffes vollständig zu vermeiden.

Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern.

Von

J. Kjeldahl.

Unter den quantitativen Bestimmungen der elementaren Bestandtheile der organischen Körper hat die Stickstoffbestimmung eine besondere und wichtige Bedeutung. Während die Feststellung der Kohlenstoff- und Wasserstoffmenge etc. gewöhnlich nur bei rein wissenschaftlichen Untersuchungen Bedeutung hat — zur Bestimmung der Zusammensetzung neuer Verbindungen u. dergl. — hat die Stickstoffbestimmung ausserdem eine ausserordentliche Wichtigkeit für die Praxis, namentlich als das einzige bis jetzt bekannte einigermaassen sichere Mittel zur Abschätzung der Proteïnmenge in den verschiedenen thierischen oder pflanzlichen Producten, bei deren Werthbestimmung häufig der Proteïngehalt als bester Maassstab dient. Unter den analytischen Arbeiten, die in praktischen Untersuchungs-Laboratorien, in landwirthschaftlichen Versuchsstationen und in physiologischen Instituten ausgeführt werden, sind daher auch Stickstoffbestimmungen unbedingt sehr häufig. In vielen Fällen würden auch regelmässige derartige Analysen werthvolle Hilfsmittel bei verschiedenen Fabrikationen sein, die stickstoffhaltige Rohstoffe verarbeiten. Dass die Stickstoffbestimmungen jedoch nicht häufiger ausgeführt werden, als es der Fall ist, hat naheliegende Gründe. Eine solche Analyse, sowohl nach Dumas als nach Will und Varrentrapp, sogar mit den Verbesserungen und Erleichterungen in der Ausführung, welche die Erfahrungen so vieler Jahre und so viele dabei mitwirkende Kräfte den genannten Methoden gegeben haben, ist stets eine verhältnissmässig langwierige Arbeit. Eine einzige Analyse erfordert die Arbeit mehrerer Stunden, und die stete Aufmerksamkeit, mit welcher der ganze Process verfolgt werden muss, verbietet viele Analysen gleichzeitig in Arbeit zu nehmen. Daraus geht hervor, dass man diese

Analysen unter Umständen, bei welchen vielleicht täglich ganze Reihen von Stickstoffbestimmungen nöthig sind, nicht ohne sehr grosse Arbeitskraft ausführen kann. Dazu kommt noch, dass eine gewöhnliche Elementaranalyse immer ein gewisses Maass der Fertigkeit erfordert und deshalb wohl nur von geübten Chemikern ausgeführt werden kann, und dass sie einen kostbaren, besonderen Apparat (Verbrennungssofen) verlangt. Es wird hierdurch einleuchtend, dass die genannten Bestimmungen nur in den eigentlichen chemischen Laboratorien ausgeführt werden konnten, und dass sie auch innerhalb dieser häufig einen unverhältnissmässigen Theil der Zeit des Chemikers und des Physiologen absorbirt haben.

Unter den Fabrikationszweigen, bei welchen die Stickstoffbestimmung eine besonders wichtige Rolle spielt, steht das Brauwesen in erster Linie. Hier wäre es sehr wünschenswerth, eine einfache, genaue Methode zur Bestimmung der Stickstoffmenge in der Gerste zu haben, weil der Stickstoffgehalt eine so grosse Bedeutung bei der Verwendung als Malz hat; der Stickstoffgehalt der Hefe hat gleichfalls einen grossen Einfluss auf Gährungskraft und übrige Eigenschaften der Hefe, und während der ganzen Fabrikation ist es öfters sehr wichtig, beurtheilen zu können, wie der Stickstoff unter den verschiedenen Producten sich vertheilt. Als Vorsteher der chemischen Abtheilung des »Carlsberg Laboratoriums«, dessen Aufgabe die wissenschaftliche Verfolgung der bei der Bierfabrikation sich vollziehenden Prozesse ist, war es mir daher von Wichtigkeit, eine Stickstoffbestimmungsmethode ausfindig zu machen, die zugleich leicht ausführbar, schnell und genau ist, so dass man also hoffen dürfte, sie würde Eingang in die Praxis finden. Andererseits würden hierdurch bei wissenschaftlichen Versuchstationen auf diesem Gebiete viele Fragen bearbeitet werden können, die bis jetzt nicht oder nur ungenügend behandelt worden sind wegen der Schwierigkeit der analytischen Methoden und namentlich wegen der Langsamkeit derselben, welche letztere gerade bei den hier so häufig leicht zersetzbaren Substanzen sehr hinderlich gewesen ist. Besonders wichtig wurde mir die Sache, als ich mich vor einiger Zeit entschloss, eine specielle Untersuchung über Wanderung und Lösung der Eiweissstoffe während der Malzbereitung und des Maischens vorzunehmen, und dadurch immer der mit den vorhandenen Methoden unausführbaren Aufgabe gegenüber gestellt wurde, in kurzer Zeit bedeutende Reihen von Stickstoffbestimmungen auszuführen. Vorläufig wurde deshalb meine Hauptaufgabe bei

Seite gelegt, damit ich meine Aufmerksamkeit ausschliesslich der gewünschten Methode widmen konnte. Ich bin dabei so glücklich gewesen, die Frage nach einer solchen in sehr befriedigender Weise zu lösen, und kann nun den Chemikern eine Methode vorlegen, mittelst deren man mit genügender Genauigkeit und mit überraschender Schnelligkeit im Stande ist, die Stickstoffmenge in fast allen organischen Körpern zu bestimmen. Die beiden anderen Eigenschaften, die oben als wünschenswerth angeführt wurden, nämlich geringe Anforderungen bezüglich der Fertigkeit des Analytikers und bezüglich des anzuwendenden Apparates, besitzt die neue Methode ebenfalls in hohem Grade, und da die Methode ausserdem noch andere, zum Theil sehr wesentliche Vortheile gewährt, die im Folgenden an den betreffenden Orten näher präcisirt werden sollen, so darf ich wohl die Hoffnung hegen, dass dieselbe einige Verbreitung in der Praxis, besonders für agriculturchemische und physiologische Untersuchungen finden werde.

Die relativ leichten Manipulationen, die gewöhnlich für die auf nassem Wege auszuführenden analytischen Operationen charakteristisch sind, liessen es wünschenswerth erscheinen, diese Art bei der genannten Elementaranalyse anzuwenden, was allerdings dadurch schwieriger wird, dass man auf diese Weise kaum so energisch auf die organischen Substanzen einzuwirken im Stande ist, als es für die vollständige Umbildung der Moleculé in einfache Verbindungen erforderlich ist. Als ein Versuch in dieser Richtung kann die von Prof. Wanklyn 1877 publicirte Methode zur Proteinbestimmung, namentlich in Getreide und anderen Samen, genannt werden. Der Verfasser sucht für diesen Zweck seine schon früher publicirte und allgemein benutzte Methode zur Bestimmung des organischen Stickstoffs im Trinkwasser anzuwenden. Nach dieser Methode wird bekanntlich die betreffende Wasserprobe nach Abdestillation des fertig gebildeten Ammoniak alkalisch gemacht; danach wird Kaliumpermanganat zugesetzt und auf's Neue destillirt. Durch diese mittelst Permanganats ausgeführte Oxydation der organischen Substanzen, sollte der in ihnen enthaltene Stickstoff als Ammoniak austreten, und die Ammoniakmenge wird nun im Destillate mittelst Nessler's Reagens colorimetrisch bestimmt. Bei Anwendung der Methode bei der Analyse von Pflanzentheilen sucht der Verfasser die Eiweissstoffe derselben zunächst in Auflösung zu bringen, indem er das gepulverte Object mit sehr verdünnter Kalilösung behandelt. Es wird z. B. 1 g Substanz abgewogen, in einer Literflasche mit $\frac{1}{10}$ normaler

Kalilösung behandelt, wonach bis zur Marke nachgefüllt wird. Von dieser Lösung werden nun 10—20 cc für eine Analyse benutzt. Nach Wanklyn's Versuchen sollen die Eiweisskörper auf diese Weise eine Ammoniakmenge geben, die $\frac{1}{10}$ des Gewichts des Eiweissstoffes beträgt, d. h. also gegen 50 % des Gesamtstickstoffs der Eiweisskörper werden auf diese Weise in Ammoniak umgewandelt. Die Ammoniakbestimmung nach der colorimetrischen Methode, die doch sonst nur als Nothhülfe bei der Schätzung sehr geringer Spuren zu betrachten ist, muss wegen der sehr geringen in Arbeit genommenen Substanzmenge auch hier benutzt werden. Ist z. B. Gerste zu untersuchen, die durchschnittlich 10 % Proteinkörper enthält, so wird die ganze Ammoniakmenge im Destillat nur etwa $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ mg betragen. — Der Verfasser nimmt als Ausgangspunkt die vollständige Lösung und Extrahirung sämtlicher Proteinstoffe bei der genannten Behandlung mit kalihaltigem Wasser; diese Voraussetzung ist aber entschieden unrichtig, indem jeder, der mit Pflanzentheilen in dieser Beziehung gearbeitet hat, wissen wird, dass selbst bei längerer Behandlung mit relativ stärkerer Kalilösung immer ein bedeutender Rückstand von stickstoffhaltigen Substanzen ungelöst bleibt. *) Eine ganz gleichmässige Vertheilung der ungelösten Substanz durch Umschütteln möchte auch wohl schwer zu erreichen sein. Die Ammoniakbildung ist, wie gesagt, ganz unvollkommen und der Grad derselben gewiss sehr abhängig von genauer Innehaltung der angegebenen Versuchsbedingungen. Jedenfalls ist die Art der Zersetzung bei den verschiedenen organischen Stoffen sehr verschieden, wie auch aus den eigenen Untersuchungen Wanklyn's**), sowie denjenigen von Hoogewerf und van Dorp***) hervorgeht.

Während nun alle diese Arbeiten darauf hinzielen, die Einwirkung des Permanganats auf organische Verbindungen in alkalischer Lösung zu untersuchen, habe ich die Oxydation in sauren Lösungen vorzunehmen versucht, von der unter diesen Verhältnissen wohl grösseren Disposition zur Ammoniakbildung ausgehend. In einer Versuchsreihe wurde nun auch durch die Oxydation der mit verdünnter Schwefelsäure versetzten Lösung mittelst überschüssigen Permanganats bei Siedhitze, und Destillation nach Uebersättigung mit Natron eine grössere Ausbeute erreicht.

*) Vergl. auch Wagner, Landw. Versuchsstationen **25**, 195.

) Journ. Chem. Soc. **21, 161 (1868).

***) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **10**, 1936 u. **11**, 1202.

Aber selbst auf diese Weise war die Umbildung noch ganz unvollkommen, und die Resultate waren in allen Fällen sehr schwankend.

Ganz anders aber wird die Sache, wenn die trocknen Stoffe vorerst einer starken Erwärmung mit concentrirter Schwefelsäure unterworfen werden, indem sie hierdurch alle, fast ohne Ausnahme, in Verbindungen umgewandelt werden, deren Stickstoff bei der nachfolgenden Oxydation vollständig in Ammoniak übergeführt wird. Das Princip der neuen Methode ist deshalb, die betreffende Substanz einige Zeit hindurch mit einer reichlichen Menge concentrirter Schwefelsäure bis auf eine dem Siedepunkte der Säure nahe liegende Temperatur zu erhitzen, und die so erhaltene Lösung dann mit überschüssigem, trockenem, pulverigem Permanganat zu oxydiren. Unter diesen Umständen wird, wie gesagt, der in organischen Verbindungen anwesende Stickstoff vollständig als schwefelsaures Ammoniak abgegeben, das nach beendigter Oxydation und Uebersättigung mit Natron einfach abdestillirt werden kann, um nach den gewöhnlichen Methoden bestimmt zu werden.

Eine Hauptbedingung für die Anwendung der Procedur ist, dass das schwefelsaure Ammoniak bei der hohen Temperatur, und namentlich bei der nachfolgenden Behandlung mit Kaliumpermanganat, welche unter diesen Umständen von sehr gewaltsamen Phänomenen begleitet ist, keine Zersetzung erleidet. Mehrere Versuche haben nun gezeigt, dass eine solche Zersetzung nicht stattfindet. Als Beispiel mag angeführt sein:

0,0925 g schwefelsaures Ammoniak wurden mit 10 cc concentrirter Schwefelsäure bei einer dem Siedepunkt naheliegenden Temperatur vier Stunden hindurch erhitzt. Nun wurde Kaliumpermanganat hinzugefügt, und die Ammoniakmenge wurde darauf durch Destillation bestimmt. Dabei wurde so viel Ammoniak gefunden, als in 0,0923 g schwefelsaurem Ammoniak enthalten ist, d. h. also eine der eingewogenen gleiche Menge.

Das sehr einfache Verfahren bei der Ausführung der Analysen ist in Kürze wie folgt: Die Substanz wird in einer kleinen, tarirten Kochflasche, derselben, in welcher die weitere Behandlung erfolgen soll, abgewogen. Schon bei festen Stoffen ist dies ein recht bequemer Umstand; wo man aber mit Lösungen arbeiten muss, eine, wie man sieht, grosse Erleichterung. Man erinnere sich nur der verschiedenen Kunstgriffe, deren man sich in solchen Fällen bei der Verbrennungsanalyse

bedienen musste, z. B. des Eindampfens in dünnen Hoffmeister'schen Glasschalen, die nachher mit dem getrockneten Stoffe gepulvert und in die Verbrennungsröhre gebracht wurden, wobei das Wegspringen kleiner Splitter unter dem Pistill nicht immer leicht zu verhindern war, ebenso wie die Zertheilung der Glasfragmente mit der darauf sitzenden Substanz nicht immer genügend fein ausgeführt werden konnte; — oder auch des Eindampfens auf einer erhitzten Quecksilberfläche, die von einer Bürette tropfenweise die betreffende Flüssigkeit empfing; auch diese von Reischauer ausgedachte Methode hatte trotz ihrer Eleganz gewisse Mängel und war etwas unbequem. Hier fallen diese Schwierigkeiten von selbst weg, man hat nur die Flüssigkeit in der Kochflasche abzuwägen oder auch sie hinein zu pipettiren; wenn das Wasser nach einiger Zeit im Trockenschrank verdunstet ist, befindet sich der Extract gerade da, wo man ihn haben soll. Bezüglich der bei einer Analyse am zweckmässigsten zu nehmenden Substanzmenge werde ich weiter unten Mittheilung machen.

Nun wird englische Schwefelsäure in hinlänglichem Ueberschuss zugesetzt. Wie viel ist ganz gewiss innerhalb ziemlich weiter Grenzen gleichgültig, aus mehreren Gründen ist es jedoch zweckmässig immer dieselbe Menge anzuwenden; in meinen Versuchen wurden immer 10 cc benutzt. Die Säure halte ich in einer Flasche mit Kautschukstöpsel und durch diesen hindurchgehender 10 cc fassender Pipette aufbewahrt; wenn die Pipette nicht benutzt wird, ist sie mittelst eines Kautschukschlauches und Glaspfropfens verschlossen. Im Ganzen muss man die Säure sorgfältig hindern Ammoniak anzuziehen. Die Gefahr ist natürlicher Weise hier bedeutend grösser als bei der Anwendung von Natronkalk, und es ist einleuchtend, dass das Ammoniak sich hier nicht austreiben lässt, wenn einmal angezogen. Diese Verunreinigung kann jedoch leicht verhindert werden, selbst bei mehrmonatlichem Hinstellen der Säure. Der Vorsicht halber habe ich übrigens bei jeder Reihe von Analysen einen Controlversuch ausgeführt. Dabei werden 10 cc Schwefelsäure allein, oder mit etwas reinem Zucker versetzt, verwendet, übrigens ganz wie bei den Analysen Permanganat hinzugefügt, mit Natron übersättigt und destillirt. Mitunter findet man keinen Stickstoff beim Controlversuche; oft aber enthält die reine Handelssäure geringe Spuren von Ammoniak, für welche eine Correction in die übrigen Versuchsergebnisse eingeführt werden muss.

Jetzt wird die Kochflasche auf Drahtnetz über eine kleine Gas-

flamme gestellt. In der Regel wird der Inhalt alsdann schwarz und theerartig werden, bei fortgesetzter Erwärmung tritt darauf eine lebhaftere Reaction mit Gasentwicklung ein, während welcher die Substanz völlig gelöst wird. Die hierbei stattfindende starke Entwicklung schwefliger Säure und weisser Dämpfe machen für die ganze Procedur einen guten Abzug nöthig. Weil zu gleicher Zeit auch ein ziemlich starkes Spritzen der Masse sich zeigt, wird die Kochflasche am zweckmässigsten in schräger Stellung gehalten, bis wieder Ruhe eingetreten ist. Die Flasche muss etwa 100 cc fassen und mit einigermassen langem und engem Halse versehen sein. Auch muss sie aus einer gegen die Einwirkung der starken und heissen Säure sehr resistenten Masse bestehen, eine Eigenschaft, die die verschiedenen Glassorten in sehr verschiedenem Maasse besitzen. Bei fortgesetzter Erhitzung waschen die verdichteten Säuredämpfe die Seiten der Kochflasche wieder rein und führen die kohligten Partikeln in die Flüssigkeit zurück.

Wenn die Gasentwicklung aufgehört hat, scheint die Wirkung der Schwefelsäure beendet zu sein. Dies ist jedoch nicht der Fall, und dass sie fortwährend eine langsam oxydirende Wirkung ausübt, ist aus den Farbenänderungen, die allmählich eintreten, zu ersehen. Bei längerer Erhitzung wird nämlich die Flüssigkeit zuerst dunkelbraun, danach hellbraun, hellgelb und endlich bei genügend langer Einwirkung ganz ungefärbt und wasserhell. Um dieses zu erreichen, wird bei Anwendung englischer Schwefelsäure gewöhnlich eine sehr lange Erhitzung erforderlich sein, die Zeit kann aber in hohem Maasse verkürzt werden, wenn etwas rauchende Schwefelsäure mit der englischen gemischt wird, um den über das Hydratwasser gehenden Wassergehalt dieser zu compensiren, und namentlich bei Hinzufügung einer kleinen Menge Phosphorsäure-Anhydrid. Benutzt man ein solches Gemisch von Schwefelsäurehydrat mit Phosphorsäure-Anhydrid, so wird in der Regel eine Erhitzung durch etwa zwei Stunden genügen, um eine klare, hellbraune Lösung zu erhalten. Es hat sich nun aber gezeigt, dass es gewöhnlich nicht nöthig ist, die Erwärmung so weit zu treiben; wenigstens bei den Eiweissstoffen und deren Derivaten, welche die Bestimmungen meistens betreffen, wird man eine eben so vollständige Ammoniakbildung bei Oxydation des 1—2 Stunden erhitzten, noch schwarzen Gemisches haben, als wenn die Oxydation in der fast farblosen, durch mehrstündiges Erhitzen mit Schwefelsäurehydrat und Phosphorsäure-Anhydrid erhaltenen Flüssigkeit vorgenommen wird. Dagegen finden sich, wie weiter unten

erwähnt werden soll, andere Stoffe, in welchen der Stickstoff sehr hartnäckig festgehalten wird, und wenn man deshalb solche anzutreffen erwarten kann, wird es am richtigsten sein, die Arbeitsweise mit Phosphorsäure-Anhydrid zu wählen, bei welcher die eintretende Erbleichung immer ein sicheres Kriterium der beendigten Wirkung der Säure ist.

Die Erhitzung wird, wie gesagt, so geleitet, dass die Temperatur nahe dem Siedpunkte der Schwefelsäure liegt, was durch ab und zu eintretende kleine Stösse in der Flüssigkeit leicht zu erkennen ist. Die Regulirung und Erhaltung dieser Temperatur lässt sich ganz ohne Mühe bewerkstelligen, und die Analysen bedürfen während dieser Erhitzung gar keiner Aufsicht. Es braucht die Regulirung im Ganzen nicht genau zu sein, wichtig ist blos, dass die Temperatur hoch ist, indem die Ammoniakbildung in hohem Grade unvollkommen wird, wenn nur auf 100° — 150° erwärmt wurde.

Alle organischen Stoffe der verschiedensten Herkunft werden durch die Erhitzung mit der Säure gelöst; aus diesem Grunde braucht man die vorliegende Substanz nicht weiter zu zerkleinern, als dies nöthig ist, um genaue Durchschnittsproben zu erhalten. Auch dieser Umstand scheint mir ein nicht zu unterschätzender Vortheil der neuen Methode zu sein. Ritthausen hat mehrfach die Wichtigkeit der ausserordentlich feinen Zertheilung der Eiweisskörper bei der Verbrennungsanalyse betont. Ich selbst habe öfters Gelegenheit gehabt, die Beobachtung zu machen, dass eine solche starke Pulverisirung bei der Stickstoffbestimmung in verschiedenen Pflanzentheilen nöthig sei, und habe mehrmals gesehen, dass bei noch feinerer Zertheilung auch eine kleine Mehrausbeute an Ammoniak erhalten werden konnte. Weil die sehr starke Pulverisirung grösserer Mengen solcher Substanzen wegen Gefahr für Desaggregation nicht statthaft ist, habe ich deshalb gewöhnlich bei den Verbrennungen die Pulverisirung der schon abgewogenen Substanz durch Reiben derselben in einem sehr geräumigen Porzellanmörser mit Pulver aus schwer schmelzbarem Glas oder Quarzpulver bewerkstelligt, bis alles, sogar Theilchen der Schale in ein staubfeines Pulver übergeführt worden war, gewiss eine sehr schwierige und anstrengende Arbeit, die nun aber selbstverständlich bei der hier erwähnten Methode, bei welcher die Zertheilung durch die Schwefelsäure in radicalster Weise ausgeführt wird, und zwar viel besser als bei der sorgfältigsten Pulverisirung, ganz überflüssig geworden ist.

Durch die Behandlung mit Schwefelsäure wird gewöhnlich schon

der grössere Theil der Ammoniakbildung bewirkt. Mehrere Stoffe geben schon dadurch so gut wie die ganze Stickstoffmenge als Ammoniak ab, es ist dies z. B. der Fall bei Harnsäure, Asparagin, den leicht zersetzbaren Gluten-Proteinstoffen u. a. m. Bei anderen Eiweissstoffen und bei den meisten Verbindungen, welche der Reihe der fetten Körper angehören, wird wenigstens der überwiegende Theil des Stickstoffs, etwa 90–95 %, durch die blosse Erhitzung mit der Säure an diese abgetreten. In den aromatischen Verbindungen wird der Stickstoff dagegen hartnäckiger in organischer Form festgehalten. Schon da, wo der Stickstoff noch als Amid vorkommt, z. B. in Anilinsalzen, ist dies der Fall, jedoch in noch höherem Grade in solchen Verbindungen, wo der Stickstoff als nicht amidartig gebunden vorausgesetzt werden muss. Bei mehreren Alkaloiden z. B., wo der Stickstoff wahrscheinlich als Glied des eigentlichen Benzolkerns vorhanden ist, wird die Ammoniakbildung in diesem Stadium auffällig unvollkommen. Wurden gleiche Mengen von gewöhnlichem Albumin, Morphinum und Chinin zu gleicher Zeit mit gleichen Schwefelsäuremengen erhitzt, so konnte ich bei der nachfolgenden Destillation 92 % des Gesamtstickstoffs des Albumins, dagegen nur 40 % des Morphinumstickstoffes und sogar nur 25 % des Chininstickstoffs im Destillate nachweisen. Bei derselben Behandlung war bei Caffein die Ammoniakbildung wieder ziemlich vollständig.

Nach hinlänglicher Erwärmung mit Schwefelsäure, wozu gewöhnlich etwa zwei Stunden erforderlich sind, wird nun die Oxydation vorgenommen. Diese wird, wie gesagt, mittelst Permanganats, welches hier durch kein anderes Oxydationsmittel ersetzt werden kann, ausgeführt. Verschiedene solche Mittel, die versucht wurden, z. B. zweifach chromsaures Kali, waren stets von viel geringerer Wirkung als das Kaliumpermanganat, indem die Ammoniakbildung immer sehr unvollkommen blieb. Das Permanganat wird als trockenes, ziemlich feines Pulver, und wegen der gewaltsamen Reaction nur in ganz kleinen Portionen, die, weil die Reaction momentan geschieht, doch sehr schnell nach einander folgen können, zugesetzt; am besten in Form eines feinen, continuirlichen Staubregens. Man kann dies auf verschiedene Weise erreichen. Als praktisch und einfach kann dazu eine weite Glasröhre, unten mit einem engeren Ansatz versehen (z. B. das obere, abgesprengte Ende einer Kühlröhre), empfohlen werden. Im Bauche unten wird ein kleines, genügend feines Drahtnetz angebracht, und auf dieses das Pulver gelegt. Hält man diesen Apparat über die Mündung der Koch-

flasche und klopft sanft, so fällt das Permanganat in der gewünschten Weise in die Flüssigkeit. Die Oxydation wird in der ganz heissen Flüssigkeit ausgeführt, die Lampe wird jedoch während des Zusetzens entfernt; die ganze Operation geschieht in einem Bruchtheile einer Minute. Die Reaction ist, wie öfters gesagt, sehr heftig, von Entwicklung grünlicher Dämpfe und starkem Verpuffen begleitet; häufig sieht man kleine Flammen in der Flasche hervorblitzen. Die naheliegende Furcht, dass hierdurch Verlust stattfinden könnte, erwies sich jedoch durch die bei vielen hundert Versuchen gesammelten Erfahrungen als grundlos. Es hat sich gezeigt, dass bei der Oxydation, selbst wenn diese sehr schnell ausgeführt wird, niemals ein Ammoniakverlust stattfindet.

Das Permanganat muss, wie gesagt, im Ueberschuss hinzugefügt werden, die die ganze Operation begleitenden Farbenänderungen werden hierbei als sichere Zeichen benutzt. Die anfangs gewöhnlich dunkle Flüssigkeit wird bei der Oxydation schnell heller, darauf farblos und nun bei weiterer Hinzufügung des Permanganats schön dunkelgrün, oder, wenn Phosphorsäure-Anhydrid gebraucht war, blaugrün, durch Bildung von Manganoxydsalz. Bei Eintritt der grünen Farbe ist die Oxydation beëndigt; gewöhnlich habe ich danach die Kochflasche noch 5—10 Minuten über sehr schwacher Flamme stehen lassen; ohne jedoch dieser Procedur weitere Bedeutung zuzuschreiben. Dagegen darf man die grüne Flüssigkeit durchaus nicht stark erwärmen, wodurch unter starker Sauerstoffentwicklung eine Reduction des Manganoxydsalzes eintritt; hierdurch wird die Flüssigkeit wieder hell, und, wie ich öfters zu beobachten Gelegenheit hatte, ist damit ein deutlicher Ammoniakverlust verbunden.

Die Flüssigkeit wird jetzt nach hinlänglicher Abkühlung mit Wasser verdünnt, die grüne Farbe verschwindet sogleich, um einer braunen Platz zu machen. Nach neuer Abkühlung bringt man den Inhalt in den Destillirkolben, eine geräumige, etwa $\frac{3}{4}$ Liter fassende Kochflasche. Dieselbe ist mittelst eines Kautschukstöpsels mit einem schräg aufwärts gerichteten Ansatz verbunden, hierdurch werden Tröpfchen und dergl. zurückgehalten; der Ansatz steht wieder mit einer spiraligen Kühlröhre in Verbindung, an deren unterem Ende der die titrirte Säure enthaltende Absorptionsapparat befestigt ist. Anfangs wurde der gewöhnliche, mit 3 Kugeln versehene Absorptionsapparat benutzt, später ist derselbe aber durch eine kleine, etwa $\frac{1}{4}$ Liter fassende Erl en m e y e r'sche

Kochflasche mit zweimal durchbohrtem Kautschukstopfen ersetzt worden. Durch die eine Oeffnung des Stopfens geht der untere, gerade Theil der Kühlröhre bis gegen die Mitte der Flasche hin, ohne jedoch in die Säure einzutauchen, während durch die zweite Oeffnung eine einmal gebogene Röhre direct in die Luft hinaus führt. Zahlreiche Versuche mit reinen Ammoniaksalzen haben gezeigt, dass die Absorption hierdurch ebenso vollkommen ist als bei Anwendung der Kugelhöhre; ja, durch Benutzung der Kühlröhre wird schon eine so völlige Verdichtung des Ammoniaks erreicht, dass man die Säure sogar erst nach der Destillation in die Vorlage einführen kann, ohne eine merklich kleinere Ausbeute zu erhalten. Die erwähnte Aufstellung ist sehr bequem, weil dadurch die Titrirung direct in der Vorlage ausgeführt werden kann, und alles Umgiessen und Nachspülen gespart wird.

Die benutzte Natronlösung muss, um nicht Zeit bei der Destillation einer grösseren Flüssigkeitsmenge zu verlieren, stark sein, etwa von 1,3 spec. Gew. Die Reinheit derselben ist übrigens gleichgültig, wenn die Lauge nur gut ausgekocht ist.

Werden immer die gleichen Mengen concentrirter Schwefelsäure und Natronlauge benutzt, so wird man immer dieselben Volumina gebrauchen müssen; bei den hier genannten Verhältnissen (10 cc conc. Säure, Lauge von 1,3 spec.*Gew.) 40 cc Natronlösung, die in einem Maassglase bereit gehalten, schnell in die Flüssigkeit gegossen werden, indem der Stöpsel sogleich danach in den Destillirkolben gesetzt wird. Es hat sich hier durch viele Versuche mit reinen Ammoniaksalzen gezeigt, dass man durch diese nur einen Moment dauernde Operation keinen Verlust erleidet, und dass deshalb besondere Vorrichtungen für den Zusatz der Lauge überflüssig sind.

Der Inhalt des Destillirkolbens repräsentirt eine sehr concentrirte Lösung von schweselsaurem Natron mit überschüssigem Natron und ausgedehnten hydratischen Oxyden, weshalb beim Kochen äusserst gewaltsame Stösse eintreten, welche die Destillation geradezu unmöglich machen würden. Platinspäne nützen hier nicht viel, weil die dem Platin adhärende Luft schnell ausgekocht ist, wonach das Stossen auf's Neue eintritt. Dagegen kann man dieser Schwierigkeit leicht und völlig vorbeugen, wenn man (vor dem Zugiessen des Alkalis) einige kleine Zinkspäne in die Flüssigkeit bringt. In der alkalischen Flüssigkeit erfolgt hierdurch eine geringe Wasserstoffentwickelung, infolge deren die Dampfbildung selbst bei forcirtem Kochen ganz leicht und ruhig stattfindet.

Erst gegen den Schluss des Kochens beginnt das Stossen wieder, wahrscheinlich wenn die Lösung so concentrirt geworden ist, dass das Salz sich in der Wärme ausscheidet. Nun wird aber auch alles Ammoniak längst in die Vorlage hinüber getrieben sein. Dass durch die Anwesenheit des Zinks kein Verlust an Ammoniak bedingt wird, habe ich öfters durch Versuche mit Ammoniaksalzen constatirt.

Die Ammoniakbestimmung kann natürlicher Weise nach beliebiger Methode vorgenommen werden. Es hat sich gezeigt, dass die Platinmethode Resultate gibt, welche mit denjenigen der Titrirung übereinstimmen, wodurch angezeigt wird, dass hier Ammoniak, ohne Vorhandensein etwaiger Amine, gebildet ist. Ein Vortheil der neuen Methode macht sich hier wieder geltend, wenn die Titrirung benutzt werden soll, indem wir mit einer reinen, klaren und völlig ungefärbten Ammoniaklösung zu arbeiten haben, während die durch die Verbrennung erhaltene Flüssigkeit oft unklar und von verschiedenen anderen Producten gefärbt war, wodurch die directe Titrirung häufig sehr behindert werden konnte.

Obwohl die verschiedenen Ammoniakbestimmungs-Methoden gut übereinstimmende Resultate geben, möchte ich doch hier eine von mir fast immer benutzte Methode empfehlen. Die Methode ist schon alt, scheint aber halb in Vergessenheit gerathen, und zwar mit Unrecht, weil sie gewiss in Bezug auf Genauigkeit und leichte Ausführbarkeit bedeutendes leistet. Sie beruht auf der bekannten Reaction, dass ein Gemisch von jodsaurem Kali mit Jodkalium durch Zusatz einer Säure eine der Säuremenge äquivalente Jodmenge ausscheidet, die mittelst unterschwefligsauren Natrons titrirt werden kann. Diese Titrirung, mit dünnem Stärkekleister als Indicator, wird an Schärfe wohl kaum von anderen Titrirungen erreicht, man wird deshalb auch die Säure mit ungewöhnlicher Genauigkeit bestimmen können und dadurch wieder, was in vorliegendem Falle gewöhnlich sehr wünschenswerth ist, sehr verdünnte Normalflüssigkeiten anwenden können, wodurch man in den Stand gesetzt ist, sehr wenig Substanz für eine Analyse zu benutzen, ohne die Genauigkeit der Bestimmung zu beeinträchtigen. Bei Anwendung von 10 cc concentrirter Schwefelsäure wird nämlich 1 g Substanz schwierig ohne Verlust gelöst, und es wäre doch bei der Analyse stickstoffärmerer Stoffe, z. B. Getreide, häufig erwünscht, 1 g oder mehr in Arbeit zu nehmen, um eine passende Anzahl Cubikcentimeter Säure durch das gebildete Ammoniak zu neutralisiren. Nun wäre es unbequem die Menge der concentrirten

Säure zu vergrössern, besser die Menge des zu analysirenden Körpers zu verringern. Bei der Schärfe der Jodreaction wird man selbst mit $\frac{1}{20}$ normaler Lösung von unterschwefligsaurem Natron kaum über einen Tropfen mehr oder weniger im Zweifel sein. Bei der Anwendung einer solchen Lösung aber wird stets eine relativ geringe Substanzmenge, gewöhnlich viel weniger als 1 g, für die Analyse ausreichen. Ich habe immer 30 cc Schwefelsäure vorgelegt; der Titer derselben, übrigens gleichgültig, wenn nur genau mittelst Hyposulfits bestimmt, wird am besten ungefähr $\frac{1}{20}$ normal gemacht. Die für eine Analyse zu verwendende Substanzmenge richtet sich nach dem Stickstoffgehalte, der gewöhnlich innerhalb gewisser Grenzen voraus bekannt ist, und zwar so, dass das Product aus Stickstoffprocent und Substanzmenge (in Grammen) zwischen 1 und 2 liegt. Die erzeugte Ammoniakmenge wird in Folge dessen zwischen 13 cc und 28 cc der vorgelegten Säure neutralisiren, und weil die Säure sich in genannter Weise mit einer Schärfe von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ cc titiren lässt, wird die Genauigkeit der Bestimmung völlig genügen.

Bei der Untersuchung von Getreide mit durchschnittlich 1,5 % Stickstoff wird etwa 0,7 g, bei mehr concentrirten Futterstoffen mit circa 5 % Stickstoff etwa $\frac{1}{4}$ g für die Analyse passend sein. Bei sehr stickstoffreichen Substanzen, z. B. reinen Eiweissstoffen oder dergl., wird man auf diese Weise allerdings sehr wenig abzuwägen haben; man könnte freilich mehr Säure vorlegen oder stärkere Normalflüssigkeiten benutzen; weil es jedoch bequemer ist, immer dieselben Lösungen zu benutzen, wird man am besten das vierfache der bezeichneten Substanzmenge abwägen, nachher die oxydirte Flüssigkeit auf 100 cc verdünnen und hiervon für die Destillation 25 cc anwenden.

Die Titirung wird nun in folgender Weise vorbereitet: Einige Krystalle des so leicht löslichen Jodkaliums werden zunächst in die betreffende Flüssigkeit geworfen, darauf der Stärkekleister in nicht zu geringer Menge zugefügt (dass das günstige Resultat in hohem Grade von gutem Stärkekleister abhängig ist, sei hier in Erinnerung gebracht) und schliesslich einige Tropfen einer etwa 4procentigen Lösung von jodsaurem Kali.

Ein wesentlicher Vortheil dieser Titirung liegt darin, dass sie bei Lampenlicht eben so scharf ist als am Tage, der einzige Mangel der Methode ist die geringe Haltbarkeit der stark verdünnten Hyposulfitleösung, weshalb die Stärke derselben vor jeder Versuchsreihe durch nor-

male Jod- oder Säurelösungen festgestellt werden muss. Wenn man übrigens, den Titer seines festen unterschwefligsauren Natrons weiss, ist die Herstellung einer frischen Lösung sehr leicht.

Als Beispiel mag folgendes angeführt werden:

Die Hyposulfitlösung wie die vorgelegte Schwefelsäure wären $\frac{1}{20}$ normal, 30 cc Schwefelsäure = 30 cc Hyposulfitlösung.

Als Controlversuch wird genommen 0,5 g reiner Zucker, 10 cc concentrirte Schwefelsäure. Nach der Destillation nehmen die 30 cc vorgelegter Schwefelsäure nur 29,8 cc Hyposulfitlösung, welche Zahl also statt 30 in den Analysen zu benutzen ist.

0,645 g Gerste wurden in ähnlicher Weise behandelt. Zurücktitrirt mit 14,5 cc Hyposulfitlösung. $29,8 - 14,5 = 15,3$. $\frac{15,3 \cdot 7}{64,5} = 1,66\% \text{ N.}$

Die Berechnung der Analysen ist sehr einfach; es wird die Anzahl der der neutralisirten Säure entsprechenden Cubikcentimeter $\frac{1}{20}$ normaler Hyposulfitlösung mit 7 (dem halben Aequivalent des Stickstoffs) multiplicirt. Die so erhaltene Zahl gibt, mit der angewandten Substanz (in Centigrammen ausgedrückt) dividirt, den Procentgehalt an Stickstoff. Man könnte auch eine $\frac{7}{200}$ normale Hyposulfitlösung anwenden; die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter würde, wie oben mit der angewandten Substanz dividirt, den Procentgehalt angeben.

Den Beweis für die Richtigkeit meiner neuen Methode habe ich theils durch die Analyse reiner Stoffe mit bekanntem Stickstoffgehalte, theils durch die Bestimmung des Stickstoffs in einer grossen Zahl verschiedener Stoffe thierischen oder vegetabilischen Ursprungs, bei welchen letzteren Controlanalysen nach der Methode von Will und Varrentrapp ausgeführt wurden, zu erbringen gesucht. Eine kleinere Auswahl des auf diese Weise erworbenen Materials wird jedoch hier genügen.

Nach der neuen Methode gefunden:		Berechnet:
Triäthylamin	10,16 % Stickstoff	10,18 % Stickstoff
Asparagin	18,7 « «	18,67 « «
Harnsäure	33,1 « «	33,3 « «
Harnstoff	46,6 « «	46,7 « «
Salzsaures Anilin	10,65 « «	10,82 « «
Indigotin	10,60 « «	10,68 « «
Hippursäure	7,75 « «	7,82 « «
Salzsaures Morphium	4,21 « «	4,36 « «
« Chinin	7,47 « «	7,77 « «
Caffein	28,6 « «	28,86 « «

		Nach Will u. Varrentrapp			
Nach der neuen Methode gefunden:		gefunden:			
Casein	15,6 % Stickstoff	15,6 %	Stickstoff	15,6 %	Stickstoff
Eier-Albumin	15,3 « «	15,6 «	«	«	«
Conglutin aus Mandeln (aschehaltig)	17,5 « «	17,6 «	«	«	«
Amygdalin	3,01 « «	3,03 «	«	«	«
Weisse Bohnen	3,20 « «	3,21 «	«	«	«
Squarehead-Weizen	1,94 « «	1,96 «	«	«	«
Roggen	1,46 « «	1,47 «	«	«	«
Gerste	1,33 « «	1,33 «	«	«	«
«	1,72 « «	1,71 «	«	«	«
«	1,53 « «	1,55 «	«	«	«
Würzeextract	0,81 « «	0,83 «	«	«	«
Bierextract	1,10 « «	1,12 «	«	«	«
Getrocknete Hefe	10,4 « «	10,6 «	«	«	«
Ochsenfleisch	12,49 « «	12,43 «	«	«	«
Witte's Pepton	13,2 « «	13,2 «	«	«	«

Die Uebereinstimmung ist, wie man sehen wird, sehr befriedigend, nur bei einzelnen Alkaloiden wird die volle Ausbeute nicht erreicht, so namentlich nicht beim Chinin, welches schon früher als den Stickstoff sehr festhaltend genannt wurde. Hiermit im Zusammenhange muss ich bemerken, dass ich bei der Analyse der Alkaloide mittelst der Natronkalk-Methode immer gute Resultate bekommen habe, und dass die sehr abweichenden Resultate, die man in dieser Frage erhalten hat*), jedenfalls theilweise der unvollständigen Ammoniakbildung zuzuschreiben sind, die gerade hier so leicht eintritt, wenn man, nach den gewöhnlichen Vorschriften, durch leichtes Klopfen längs der ganzen Verbrennungsröhre einen Canal erzeugt. Wenigstens habe ich bei der Analyse z. B. des salzsauren Chinins kaum die Hälfte der theoretischen Ausbeute bekommen, wenn ein Canal hervorgebracht worden war, während die Analyse in ganz analoger Weise vorgenommen, bloß ohne Canalbildung in der Röhre, ein völlig richtiges Resultat gab. Die Gefahr eines Verlustes durch Bildung stickstoffhaltiger Dämpfe, die nicht von der Säure zurückgehalten werden, ist hier entschieden viel grösser als die Gefahr für Verlust durch Dissociation des Ammoniaks, welche so häufig später her-

*) Vergl. diese Zeitschrift 4, 322 und 5, 197.

vorgehoben worden ist *). Deshalb habe ich höherer Sicherheit wegen gewöhnlich etwas reinen Zucker mit dem im vorderen Ende der Röhre liegenden Natronkalke gemischt. Indem der Natronkalk für sich allein in der Hitze zusammenfällt, und ein geräumiger Weg sich zwischen Kalk und Wand der Röhre bildet, wird durch den Zucker, nach Verbrennung desselben eine poröse, die Röhre dicht erfüllende Masse erzeugt, durch welche alle bei der Verbrennung der Substanz entwickelten Gase zu passiren gezwungen werden. Dass die Frage besonders bei den Alkaloiden entstanden ist, hat unzweifelhaft den Grund in der festen Bindung des Stickstoffs, welche sich sowohl bei der Verbrennung als bei der Zersetzung mittelst Schwefelsäure geltend macht. Bei den Eiweissstoffen und dergl., wo die Bindung lockerer ist und die Ammoniakbildung wahrscheinlich mehr direct geschieht, hat man infolge dessen, selbst bei offenem Wege in der Verbrennungsröhre, richtige Resultate erreichen können.

Wenn ich gesagt habe, dass die neue Methode für alle organischen Substanzen brauchbar wäre, jedoch mit gewissem Vorbehalt bezüglich einiger Alkaloide, so müssen selbstverständlich solche Stoffe als Ausnahme betrachtet werden, in denen der Stickstoff in Form flüchtiger Säuren vorhanden ist, also im Ganzen Cyanverbindungen und Oxyde des Stickstoffs. Bezüglich letzterer, besonders der salpetersauren Salze, ist jedoch eine eigenthümliche Beobachtung zu erwähnen. Während zu erwarten wäre, dass die Salpetersäure durch die mehrere Stunden dauernde Erhitzung mit concentrirter Schwefelsäure in reichlichem Ueberschuss sich verflüchtigen würde, hat es sich gezeigt, dass sogar der grössere Theil der Salpetersäure bei Anwesenheit des organischen Stoffs zu Ammoniak reducirt wird. So wurden in salpetersaurem Strychnin, das 10,6 % Gesamtstickstoff enthält, von welchem die 7,05 % dem Alkaloide gehören, nach der neuen Methode 10,1 % gefunden, statt, wie erwartet, etwas weniger als 7 %. Ebenso wurden bei der Behandlung eines Gemisches, aus Salpeter und 3—4 mal so viel reinem Zucker bestehend, mit concentrirter Schwefelsäure 60—80 % des Stickstoffs des Salpeters in Ammoniak verwandelt. Es ist im Ganzen nicht leicht, die Salpetersäure aus einer Mischung mit organischen Stoffen ohne Ammoniakbildung auszutreiben. Sogar beim Eindampfen mit verdünnter Schwefelsäure ist dies, wenn die Flüssigkeit gegen den Schluss der Operation eine grössere

*) Confr. auch Mulder, diese Zeitschrift 1, 98.

Concentration bekommt, immer der Fall. Ich habe auch das bekannte Princip der Salpetersäurebestimmung hier anzuwenden versucht, indem unter Kochen des in Wasser vertheilten Stoffs ein Gemisch aus Eisenchlorür mit Salzsäure hinzugesetzt wurde; selbst in dieser Weise wird jedoch bei Anwesenheit relativ grösserer Mengen organischen Stoffs leicht Ammoniakbildung in geringem Maasse eintreten.

Unter den Vortheilen, welche die neue Methode gewährt, ist der augenfälligste unläugbar die ausserordentliche Zeitersparniss. Ich habe so im Laufe eines Tages ganz ohne Hülfe 14 Stickstoffbestimmungen ausgeführt, und es würde kaum schwer sein, durch Herbeischaffung vieler Gaslampen und mehrerer Destillirapparate (3), die Zahl bis zu 20 zu erhöhen. Die erforderlichen Manipulationen sind so überaus einfach, dass man im Laufe weniger Tage im Stande sein wird einen sonst nicht in chemischen Operationen geübten Mann so weit einzuüben, dass er die Analysen selbstständig ausführen könnte. Die Methode verlangt nur wenig Apparate, einige kleinere Kochflaschen und einen gewöhnlichen Destillirapparat, und ist in der Ausführung sehr viel wohlfeiler als die gewöhnliche Methode, indem die Verbrennungsröhren und der weitaus grösste Theil des Gasconsums erspart werden.

Diese günstigen Umstände in Verbindung mit den verschiedenen anderen Vortheilen, die in der vorhergehenden Auseinandersetzung erwähnt wurden, und die Leichtigkeit, womit man in Parallelversuchen übereinstimmende Resultate bekommt, dürfte wohl meine Hoffnung berechtigen, dass die angegebene neue Methode wenigstens von den Chemikern, die häufig Stickstoffbestimmungen in organischen Stoffen vorzunehmen haben, probirt werden möchte.

Obige Mittheilung wurde zuerst im chemischen Verein zu Kopenhagen am 7. März d. J. als Vortrag publicirt. Gleichzeitig mit der hier vorliegenden Veröffentlichung wird die ausführliche Abhandlung in dänischer Sprache im 5. Heft der »Meddelelser fra Carlsberg Laboratorium« erscheinen.

Carlsberg Laboratorium bei Kopenhagen, März 1883.
