noch unter das Niveau der Carnot'schen Zahlen, er ist überhaupt niedriger als alle bisher in der Litteratur verzeichneten Werthe und nähert sich in bedenklichem Grade der Null. Der Annahme, dass es auch fluorfreie Knochen und Zähne gibt, steht nur der Umstand entgegen, dass die Knochenasche bei Anstellung der Aetzprobe ganz constant Hauchbilder liefert, während dieselben bei indifferenten Stoffen, wie Kieselsäure und dergleichen nur vereinzelt vorkommen.

Aus dem Gesagten geht ferner hervor, dass das oben erwähnte Deficit¹⁾ kein Ausdruck für den Fluorgehalt der Zahnasche sein kann. Es ist naheliegend, dasselbe auf die Anwesenheit eines in den Zähnen bisher nicht beobachteten Elementes zurückzuführen; die nach dieser Richtung angestellten Versuche haben bisher wenig Anhaltspunkte geliefert, doch sind dieselben noch nicht abgeschlossen.

Die vorstehend angeführten Untersuchungen habe ich auf Veranlassung des Herrn Professor H. Weiske im thierchemischen Institut der Universität Breslau ausgeführt.

Beiträge zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Von

Carl Arnold und Konrad Wedemeyer.

(Mittheilung aus dem chemischen Institute der Thierärztlichen Hochschule zu Hannover.)

I. Die Wirkung verschiedener Oxydationsmittel.

Bekanntlich lässt Kjeldahl²⁾ die mit Schwefelsäure gekochte organische Substanz noch mit Kaliumpermanganat oxydiren; später fand Wilfarth³⁾, dass die Anwesenheit von Quecksilberoxyd die Zerstörung der organischen Substanz bedeutend beschleunigt, hierauf wurde von

¹⁾ Carnot's Analysen weisen ein solches Deficit nicht auf, sondern stimmen merkwürdiger Weise fast genau auf 100 %, obgleich dieselben auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen können; wir finden darin weder Alkalien, noch Schwefelsäure angeführt, zwei Bestandtheile, welche in den Knochen, wie ich mich überzeugt habe, auch dann nicht fehlen, wenn man sie mit kochendem Wasser erschöpfend extrahirt hat. Carnot's Untersuchungsmethoden sind aus seiner eingangs citirten Abhandlung nicht ersichtlich.

²⁾ Diese Zeitschrift **22**, 370.

³⁾ Diese Zeitschrift **24**, 458.

Arnold¹⁾ gezeigt, dass die Oxydation durch zwei gleichzeitig vorhandene Metallsalze (namentlich Quecksilberoxyd und Kupfersulfat) noch rascher zu Ende geführt wird, und schliesslich zeigte Gunning²⁾, dass der Zusatz von Kaliumsulfat ebenfalls eine vorzüglich beschleunigende Wirkung besitzt. Es war nun von Interesse nachzuweisen, mit welchen der vorgeschlagenen Oxydationsmittel die Zerstörung der organischen Substanz und die Ueberführung in Ammoniak am raschesten bewirkt wird, und ob nicht vielleicht durch Combination der betreffenden Oxydationsmittel es gelingen würde, den Stickstoff in Azo-, Chinolin- und Pyridinverbindungen, welcher bislang nur zum Theil durch Schwefelsäure etc. in Ammoniak verwandelt werden konnte (Arnold, Archiv der Pharm. 1886, Heft 18), ebenfalls vollständig in Ammoniak überzuführen. Wir führen von den zahlreichen Versuchen die nachstehenden als besonders beweiskräftig an. Da bei der Behandlung nach Gunning starkes Schäumen eintritt und eine ununterbrochene Ueberwachung nothwendig wäre, so empfiehlt es sich, zuerst nur mit Schwefelsäure und dem vierten Theile ihres Gewichtes an Kaliumsulfat zu kochen und erst nach 10 — 15 Minuten langem Kochen den Rest des Kaliumsulfats hinzuzufügen. Bis zur vollständigen Entfärbung, respective Blaufärbung, der Substanz erforderte:

Nach Gunning:	Nach Arnold:	Nach Gunning-Arnold:
(40 g H ₂ SO ₄ + 20 g K ₂ SO ₄)	(40 g H ₂ SO ₄ + 1 g CuSO ₄ + 1 g HgO)	(40 g H ₂ SO ₄ + 20 g K ₂ SO ₄ + 1 g HgO + 1 g CuSO ₄)
	1 g Antipyrin	
40 Minuten	35 Minuten	20 Minuten
	1 g Benzoësäure	
45 Minuten	40 Minuten	30 Minuten
	1 g Phenol	
50 Minuten	45 Minuten	30 Minuten
	1 g Eiweiss	
50 Minuten	40 Minuten	18 Minuten.

Hieraus ergibt sich, dass die Gunning'sche und Arnold'sche Methode gleich schnell zum Ziele führen, bei der Combination beider Methoden die Oxydationsdauer auf $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ abgekürzt wird. Bei

1) Archiv d. Pharm. **24**, Heft 18 (1886); diese Zeitschrift **25**, 581 (1886).

2) Diese Zeitschrift **28**, 188.

Gegenwart von Quecksilbersalzen ist der Zusatz von Kaliumsulfid vollkommen überflüssig, wenn man beim Destilliren an Stelle von Zinkkörnern 2—3 g Zinkstaub zusetzt, wodurch auch das Stossen vollkommen vermieden wird; es ist jedoch der Zinkstaub wie alle anderen Materialien vor seiner Anwendung auf einen etwaigen Stickstoffgehalt zu prüfen.

Jedenfalls verdient aber die Gunning'sche Methode, da sie ein vollkommen farbloses Oxydationsproduct liefert, wenn es sich nicht um Zeit-, respective Gasersparniss handelt, vor den beiden anderen Methoden den Vorzug, wenn man zur Vermeidung des Schäumens wie vorstehend angegeben verfährt. Es erforderten zur vollkommenen Oxydation nach Gunning:

1 g Fleischmehl 22 Minuten, 1 g Mehl 20 Minuten, 1 g Wachs 22 Minuten, 1 g Erdnussschalen 34 Minuten, 1 g Chinarinde 16 Minuten.

II. Verhalten von Verbindungen, welche den Stickstoff in ringförmiger Bindung enthalten.

1. Chinolintartrat. Berechnet 4,28 % Stickstoff. 0,580 g nach Gunning behandelt waren nach 40 Minuten farblos und wurde hierauf noch 2 Stunden gekocht. Gefunden 0,02415 g = 4,17 % Stickstoff. 0,3755 g nach Gunning-Arnold nach 35 Minuten farblos, hierauf destillirt. Gefunden 0,0161 g = 4,29 % Stickstoff.

2. Chinolin. Berechnet 10,84 % Stickstoff. 0,6176 g nach Gunning behandelt ergaben 0,02083 g = 3,37 % Stickstoff. 0,728 g nach Gunning-Arnold behandelt ergaben 0,07843 g = 10,77 % Stickstoff. 0,7992 g nach Gunning-Arnold behandelt ergaben 0,0850 g = 10,76 % Stickstoff.

3. Cocainhydrochlorid. Berechnet 4,12 % Stickstoff. 0,3737 g ergaben nach Gunning 0,00700 = 1,90 % Stickstoff. 0,4851 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0195 g = 4,0 % Stickstoff.

4. Phenylpyrrol. Berechnet 9,79 % Stickstoff. 0,6658 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0651 g = 9,75 % Stickstoff.

5. Thallinsulfat. Berechnet 6,0 % Stickstoff. 0,8892 g ergaben nach Gunning 0,0315 g = 3,55 % Stickstoff, 0,4148 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,02485 g = 6 % Stickstoff.

6. Antipyrin. Berechnet 14,89 % Stickstoff. 0,7075 g nach Gunning-Arnold 2 $\frac{1}{2}$ Stunden gekocht ergaben 0,0672 g = 9,6 % Stickstoff. 0,6221 g nach Gunning-Arnold 30 Minuten gekocht ergaben 0,0602 g = 9,69 % Stickstoff. 0,4356 g nach Gunning-Arnold 2 Stunden gekocht und hierauf mit Kaliumpermanganat oxydirt ergaben 0,04148 g = 9,52 % Stickstoff. 0,658 g nach Gunning-Arnold fünf Stunden gekocht ergaben 0,0848 g = 12,90 % Stickstoff. Auch bei 10—15stündigem Kochen, bei nachfolgender Oxydation mit Kaliumpermanganat, Baryumsuperoxyd, Bleisuperoxyd etc., bei Zusatz von Phosphorsäureanhydrid konnten keine besseren Resultate erzielt werden. Vermehrung des Quecksilberoxyds oder Cuprisulfats auf das 3—6fache führten Stickstoffverluste herbei.

7. Orexin. Berechnet 11,49 % Stickstoff. 0,5065 g ergaben nach Gunning-Arnold 1 Stunde gekocht 0,0576 g = 11,40 % Stickstoff.

III. Verhalten von Verbindungen, welche durch Stickstoffatome verkettete Gruppen enthalten.

8. Akridin. Berechnet 7,82 % Stickstoff. 0,795 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,06265 g = 7,88 % Stickstoff.

9. Safranin. Berechnet 15,37 % Stickstoff. 0,5469 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0714 g = 13,06 % Stickstoff.

10. Magdalaroth. Berechnet 11,85 % Stickstoff. 0,5523 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0439 g = 7,9 % Stickstoff.

11. Orange 10. Gefunden nach Dumas 11,04 % Stickstoff. 0,4834 g ergaben nach Gunning-Arnold 1 Stunde gekocht 0,05372 g = 11,1 % Stickstoff.

12. Azobenzol. Berechnet 15,38 % Stickstoff. 0,4988 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0770 g = 15,44 % Stickstoff.

13. Azoxybenzol. Berechnet 14,14 % Stickstoff. 0,7484 g nach Gunning-Arnold 1 Stunde gekocht ergaben 0,08365 g = 11,20 % Stickstoff. 0,525 g nach Gunning-Arnold 3 Stunden gekocht ergaben 0,0504 g = 9,6 % Stickstoff. Im Halse des Kolbens befand sich ein braunes Sublimat, jedenfalls daher rührend, dass ein Theil des Azoxybenzols bei dem Siedepunkte der Mischung sich verflüchtigt.

14. Diazoamidobenzol. Berechnet 21,32 % Stickstoff. 0,3376 g ergaben nach Gunning-Arnold 0,0245 g = 7,25 % Stickstoff. Es wurde also nur der Stickstoff des Ammoniakrestes erhalten. Andere Diazoverbindungen bilden nur Spuren von Ammoniak.

IV. Verhalten einiger anderen Stickstoffverbindungen.

15. Guanidinrhodanid. Berechnet 47,46 %. 0,6011 *g* ergaben nach Gunning-Arnold 0,288 *g* = 47,40 % Stickstoff. Dasselbe Resultat wurde nach Gunning erhalten.

16. Phenacetin. Berechnet 7,82 % Stickstoff. 0,3956 *g* ergaben nach Gunning-Arnold 0,03087 *g* = 7,80 % Stickstoff. Dasselbe Resultat wurde nach Gunning gefunden.

17. Synthetischer Indigo. Berechnet 10,68 % Stickstoff. 0,4828 *g* ergaben nach Gunning 0,04707 *g* = 9,8 % Stickstoff. 0,2628 *g* ergaben nach Gunning-Arnold 0,0275 *g* = 10,5 % Stickstoff.

18. Sulfaminol. Berechnet 5,66 % Stickstoff. 0,5288 *g* ergaben 0,0304 *g* = 5,7 % Stickstoff.

19. Piperazin. Berechnet 32,55 % Stickstoff. Beim Uebergiessen mit der Schwefelsäure fand sofort Entwicklung weisser Nebel statt. Bei Anwendung verdünnter Schwefelsäure konnte keine Entwicklung von Dämpfen beobachtet werden. In allen Fällen wurde nur bis zur Hälfte des berechneten Stickstoffs erhalten.

20. Cyanursäure. Berechnet 32,55 % Stickstoff. 0,3907 *g* ergaben 0,127 *g* = 32,52 % Stickstoff.

Aus vorstehenden Versuchen, sowie aus einer Anzahl von Versuchen, welche der Raumersparniss wegen nicht weiter angeführt werden, ergibt sich Folgendes:

1. Durch Combination der Gunning'schen mit der Arnold'schen Modification (es wurden stets auf etwa 0,5 *g* der Substanz 30 bis 50 *g* Schwefelsäure, 15 bis 25 *g* Kaliumsulfat und je 1 *g* Quecksilberoxyd und Cuprisulfat verwendet) gelingt es, den Stickstoff einer Anzahl von Verbindungen in Ammoniak überzuführen, bei welchen alle anderen Modificationen der Kjeldahl'schen Methode im Stiche lassen. Es sind dies namentlich die Verbindungen der Akridin-, Chinolin- und Pyridingruppe und die Azoverbindungen, sofern die betreffenden Körper nicht schon unter dem Siedepunkte der Schwefelsäure flüchtig sind.

2. Verbindungen, welche mehrere Stickstoffatome in ringförmiger Bindung enthalten, lassen nur in manchen Fällen allen Stickstoff in Ammoniak überführen. Die leichtere oder schwerere Ueberführbarkeit des Stickstoffs in Ammoniak dürfte namentlich davon abhängen, ob die Stickstoff-Atome neben einander oder entfernter von einander liegen. Die Prüfung von Verbindungen der Pyridazin-, Pyrimidin-, Pyrazin-, Cinnolin-,

Chinazolin-, Chinoxalin-, Pyrazol-, Pyrazolgruppe etc., deren Beschaffung uns nicht gelang, dürfte weiteren Aufschluss über unsere Ansicht geben. Wird dieselbe bestätigt, so gibt die Kjeldahl'sche Methode ein wichtiges Hilfsmittel ab, um die Stellung der Stickstoffatome zu erforschen. Im Allgemeinen dürfte jedoch schon jetzt der Schluss erlaubt sein, dass eine Verbindung, welche bei der einfachen Behandlung nach Kjeldahl weniger Ammoniak liefert, als nach der Gunning-Arnold'schen Modification, ringförmig gebundene Stickstoffatome im Molecül enthält.

3. Die Kjeldahl'sche Methode, respective ihre Modificationen, sind auch für solche Verbindungen, welche keine Oxyde des Stickstoffs enthalten, nicht von allgemeiner Anwendbarkeit; jedoch dürften die natürlich vorkommenden Stickstoffverbindungen nach der Gunning-Arnold'schen Methode sämtlich analysirbar sein, während nach der ursprünglichen Kjeldahl'schen Methode z. B. der Stickstoff der Alkaloide nicht vollkommen in Ammoniak übergeführt werden konnte.

4. Die Versuche mit Antipyrin zeigen, wie man bei Einhaltung gleicher Bedingungen unter Umständen übereinstimmende Resultate und also scheinbar richtige Analysen erhalten kann.

V. Vergleichende Bestimmungen des Stickstoffs in Verbindungen, welche Oxyde desselben enthalten.

Bereits im Jahre 1886 wurden von v. Asbóth¹⁾ und Arnold²⁾ Methoden zur Bestimmung solcher Verbindungen angegeben und nicht nur die Anwendbarkeit derselben für Kaliumnitrat, sondern für zahlreiche andere Verbindungen bewiesen. Ferner veröffentlichten Jodlbauer³⁾ und Förster⁴⁾ Methoden, welche jedoch von denselben nur für Kalium-, respective Natriumnitrat geprüft zu sein scheinen, wie nachstehende Versuche mit anderen Verbindungen ergaben. Am besten für die Bestimmung der Alkalinitrate hat sich bei uns die Förster'sche Methode bewährt, während sowohl bei der Jodlbauer'schen wie bei der Arnold'schen Methode während des Nitrireus leicht Verluste eintreten können. Zur Bestimmung sowohl organischer wie anorganischer

1) Chem. Centralbl. **17**, 161; diese Zeitschrift **25**, 575.

2) Archiv d. Pharm. **224**, 785; diese Zeitschrift **26**, 249.

3) Chem. Centralbl. **17**, 433; diese Zeitschrift **26**, 92.

4) Diese Zeitschrift **28**, 422.

Nitrite, ferner des Nitroprussidnatriums und des Pyridinnitrats sind alle drei Methoden unbrauchbar und auch zur Bestimmung der Nitrate, ausgenommen der Alkalinitrate, ist sowohl die Jodlbauer'sche, wie die Förster'sche Methode ungeeignet, wie man sich schon durch einen qualitativen Versuch überzeugen kann, indem man in den Kolben, in welchem die Mischung der Substanzen stattfand, einen mit Diphenylaminschwefelsäure befeuchteten Glasstab hineinhält; man wird entweder sofort oder beim gelinden Anwärmen stets Stickoxyde in der Luft des Kolbens nachweisen können; dem entsprechend fielen die quantitativen Versuche mit Blei-, Quecksilber-, Silber- und Baryumnitrat stets 0,5—1% zu niedrig aus. Um die Oxydation des bei den vorstehenden Methoden zugefügten Phenols zu beschleunigen, wurde zum Theil die Gunning'sche, respective Gunning-Arnold'sche, Modification bei den Versuchen angewendet, ohne dass dabei die Resultate anders ausfielen. Es wurden z. B. bei nachfolgenden Stickstoffbestimmungen nach Förster auf etwa 0,5 g der Substanz 1,2 g Phenol, 40 g Schwefelsäure, 1,5—3 g Natriumthiosulfat, 1 g Cuprisulfat, 1 g Quecksilberoxyd genommen und nach 15 bis 20 Minuten langem Kochen noch 10—20 g Kaliumsulfat hinzugefügt; die Zeitdauer bis zum Eintritt der grünen Farbe wurde auf $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ der ohne Zusätze nothwendigen herabgesetzt und durch den vorherigen Zusatz der übrigen Reagentien das sonst stets mit Kaliumsulfat auftretende störende Schäumen vermieden.

1. Kaliumnitrat. Berechnet 13,86 % Stickstoff. 0,4815 g ergaben 0,06692 g = 13,77 % Stickstoff, 0,5449 g ergaben 0,07604 g = 13,90 % Stickstoff.

2. Strychninnitrat. Berechnet 10,60 % Stickstoff. 0,4073 g ergaben 0,0428 g = 10,52 % Stickstoff.

3. Nitrosalicylsäure. Berechnet 7,65 % Stickstoff. 0,4878 g ergaben 0,03810 g = 7,80 % Stickstoff.

4. Orange 10. Gefunden nach Dumas 11,04 % Stickstoff. 0,3534 g ergaben 0,03885 g = 10,99 % Stickstoff.

5. Nitronaphtalin. Berechnet 8,18 % Stickstoff. 0,3765 g ergaben 0,029925 g = 7,96 % Stickstoff.

6. Nitrobenzylidenketon. Berechnet 7,33 % Stickstoff. 0,920 g ergaben 0,0665 g = 7,40 % Stickstoff.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die Anwendbarkeit der Förster'schen Methode auch für organische Nitrate und Nitroverbindungen. Die

Resultate sind jedoch nur dann befriedigende, wenn man genau nach den Angaben Förster's¹⁾ arbeitet.

VI. Neue Methoden zur Bestimmung des Stickstoffs in Verbindungen, welche Oxyde desselben enthalten.

Zahlreiche qualitative Versuche mit Ersatzmitteln des Phenols (z. B. mit Hydrochinon, Pyrogallol etc.) zeigten uns, dass zur Nitrirung sich am besten die Benzoë- und die Salicylsäure eignen und dass dieselben in einem ganz bestimmten Mengenverhältnisse zu dem zu analysirenden Körper stehen müssen.

A. Versuche mit 3 g Salicylsäure, 40 cc Schwefelsäure, 1 g Quecksilberoxyd und Cuprisulfat, zum Theil auch unter Zusatz von 10—20 g Kaliumsulfat.

1. Kaliumnitrat. Berechnet 13,86 % Stickstoff. 0,3267 g ergaben 0,04497 g = 13,79 % Stickstoff.

2. Baryumnitrat. Berechnet 10,73 % Stickstoff. 0,6129 g ergaben 0,06552 g = 10,69 % Stickstoff.

3. Mercuronitrat. Berechnet 5 % Stickstoff. 1,004 g ergaben 0,05057 g = 5 % Stickstoff.

4. Silbernitrat. Berechnet 8,23 % Stickstoff. 0,6466 g ergaben 0,0532 g = 8,23 % Stickstoff.

5. Strychninnitrat. Berechnet 10,68 % Stickstoff. 0,4911 g ergaben 0,0519 g = 10,60 % Stickstoff.

6. Bleinitrat. Berechnet 8,47 % Stickstoff. 0,9352 g ergaben 0,0785 g = 8,4 % Stickstoff.

7. Ammoniumnitrat. Berechnet 35 % Stickstoff. 0,3537 g ergaben 0,1235 g = 35 % Stickstoff. Dieser Versuch wurde mehrmals unter gleichzeitiger Oxydation mit Kaliumpermanganat (1—1,5 g) wiederholt. Wir erhielten gleich günstige Resultate und konnten auch bei anderen Bestimmungen einen Nachtheil bei der Anwendung von Kaliumpermanganat nicht beobachten, wenn die Mengen desselben nicht zu grosse waren.

8. Azobenzol. Berechnet 15,38 % Stickstoff. 0,3056 g ergaben ohne Kaliumsulfat 0,0462 g = 15,10 % Stickstoff, 0,260 g ergaben mit Kaliumsulfat 0,04025 g = 15,45 % Stickstoff.

¹⁾ Diese Zeitschrift 28, 422.

Bi- und Trinitroverbindungen, sowie Pyridinnitrat ergaben bei Anwendung von Salicylsäure stets 0,5—0,8 % zu niedrige Resultate, und liessen sich Oxyde des Stickstoffs in der Luft des Kolbens durch die Diphenylaminprobe nachweisen.

B. Versuche zum Ersatze der Salicylsäure durch 3 g Benzoësäure.

1. Die Resultate mit anorganischen Nitraten waren dieselben befriedigenden wie mit Salicylsäure, ebenso Versuche mit den oben erwähnten organischen Nitroverbindungen etc.

2. Pyridinnitrat. Berechnet 19,79 % Stickstoff. 0,3146 g ergaben ohne Kaliumsulfat 0,04252 g = 13,5 % Stickstoff, 0,466 g ergaben mit Kaliumsulfat 0,0927 g = 19,90 % Stickstoff.

3. Binitrobenzol. Berechnet 16,66 % Stickstoff. 0,530 g ergaben 0,0882 g = 16,64 % Stickstoff.

4. Propylderivat $C_{13}H_{14}N_2O_2$. Berechnet 12,18 % Stickstoff. 0,3262 g ergaben 0,0386 g = 11,99 % Stickstoff.

5. Pikrinsäure. Berechnet 18,35 % Stickstoff. 0,5209 g ergaben 0,09572 g = 18,35 % Stickstoff.

Zur Ausführung dieser Methode bemerken wir Folgendes: Die erkaltete Lösung der Benzoësäure in der Schwefelsäure 3 g : 40 cc wird auf die in einem enghalsigen Kolben befindliche, zu analysirende, feinst gepulverte Substanz gegossen, vorsichtig einige Minuten umgeschwenkt, damit sich keine Klumpen bilden, und hierauf auf einer kleinen Flamme direct so lange erwärmt, bis Schwefelsäuredämpfe entweichen; hierauf setzt man die übrigen Substanzen, respective das Kaliumsulfat zur Vermeidung von Schäumen erst nach 10—15 Minuten langem Kochen, hinzu. Ein sich zuweilen im Halse der Kolben ansetzendes Sublimat besteht aus reiner Benzoësäure und ist ohne Einfluss auf die Resultate. Wir glauben nach unseren Erfahrungen diese Methode als einfachste und doch vollkommen zuverlässige empfehlen zu können. Zum Titriren benutzten wir $\frac{1}{4}$ Normallösungen von Ammoniak und Schwefelsäure, als Indicator diente stets Fluoresceïn.