

Zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Eiweissstoffe,

nach Untersuchungen von Dr. O. Abesser referirt

von

Professor **Max Märcker** zu Halle a./S.

Die Methoden der Bestimmung des Stickstoffs in den Eiweissstoffen sind in der letzten Zeit von Nowak (Wiener Sitzungsberichte 64. Bd.) und in einer neueren Abhandlung auch von Nowak und Seegen (Pflüger's Archiv Bd. VII, 284) einer eingehenden Prüfung unterworfen, deren Resultat gewesen ist, dass die bisher allgemein als brauchbar geltende Methode des Glühens mit Natronkalk und Bestimmens des Ammoniaks nach Varrentrapp und Will unrichtige Resultate gebe und mehrere Procente Stickstoff zu wenig finden lasse.

Da in der nachstehenden Publikation häufig auf die Nowak-Seegen'schen Zahlen recurirt werden muss, so gebe ich dieselben auszüglich aus den oben citirten Untersuchungen:

I. Nowak:	n. Dumas.	Varrentrapp-Will.			Differenz der
	Mittel.	Mittel.	Höchste.	Niedrigste.	Mittel.
Pferdefleisch a)	14,46	12,67	12,87	12,46	1,79 ‰
b)	14,01	11,60	11,92	11,28	2,41 „
Hundefleisch a)	12,41	11,55	11,72	11,38	0,86 „
b)	13,24	12,09	12,26	11,82	1,15 „
c)	16,42	13,68	13,92	13,44	2,74 „
Rindfleisch	15,11	12,30	12,40	12,10	2,81 „
Menschenfleisch	15,86	13,10	—	—	2,76 „
II. Nowak & Seegen:	n. Dumas.	Varrentrapp-Will.			Differenz der
	Mittel.	Mittel.	Höchste.	Niedrigste.	Mittel.
Albumin	15,25	11,79	11,87	11,68	3,46 ‰
Casein	14,50	12,26	—	—	2,24 „
Kleber	14,80	13,30	13,30	13,20	1,50 „
Syntonin	16,84	15,34	15,40	15,28	1,50 „
Fibrin	16,17	15,20	15,40	15,00	0,97 „
Legumin	16,60	14,30	14,30	14,20	2,30 „
Fleisch I.	13,19	11,34	11,41	11,27	1,85 „
„ II.	14,10	12,20	12,30	12,00	1,90 „
„ III.	14,20	11,80	11,90	11,70	2,40 „

Es steht dieses von Nowak und Seegen erhaltene Resultat im Widerspruch mit den bisher hierüber ausgeführten Controle-Analysen (z. B. von Petersen und Huppert), nach welchen

man berechtigt war, das Gegentheil der von Nowak und Seegen ausgesprochenen Behauptung anzunehmen. Die Wichtigkeit des Gegenstandes für Physiologie und Agriculturchemie, über welche kaum Worte zu verlieren sind, da es im höchsten Grade erwünscht sein muss, eine in der Ausführung so einfache und schnelle Methode der Stickstoffbestimmung, wie es die Varrentrapp-Will'sche Methode ist, zur Untersuchung der Albuminate oder albuminatreicher Theile des Thier- und Pflanzenkörpers anwenden zu können, hat den Verfasser bewogen, zahlreiche Controle-Analysen über die Stickstoffbestimmungsmethode nach Varrentrapp und Will ausführen zu lassen, deren Resultat hiermit der Oeffentlichkeit übergeben wird.

Die Ausführung der Bestimmungen ist durch Herrn Dr. O. Abesser, Assistenten der agric. chem. Versuchs-Station zu Halle a./S. geschehen.

Zunächst kommt es darauf an, festzustellen, in wie weit man, unabhängig von der zu analysirenden Substanz der Varrentrapp-Will'schen Methode überhaupt sicher ist, und es wurden zu diesem Zwecke reine Substanzen, deren Stickstoff durch Natronkalk unzweifelhaft als Ammoniak ausgetrieben werden kann, nach Varrentrapp und Will untersucht, um zu erfahren, wie gross der in der Methode liegende längst bekannte Fehler ¹⁾, welcher dadurch verursacht wird, dass geringe Mengen von Ammoniak durch den glühenden Natronkalk zersetzt werden, sei. Die Bestimmungen wurden in Asparagin und schwefelsaurem Ammoniak ausgeführt und ergaben folgendes Resultat:

1) In einer kurzen Mittheilung habe ich in der Naturforscher-Versammlung zu Leipzig obige Verhältnisse angedeutet. Nach den Protokollen der Versammlung hat mich Seegen offenbar falsch verstanden, wenn er in seiner oben citirten Arbeit sagt: „Die Durchführung einer vergleichenden Analyse, angestellt mit schwefelsaurem Ammoniak, erscheint uns für die Entscheidung der vorliegenden Frage „ganz ungenügend“, weil darüber, dass Ammoniaksalze durch Alkalien eine vollständige Zerlegung erfahren, kein Zweifel besteht.“ Selbstverständlich sind die Controleversuche mit Ammoniaksalzen nicht ausgeführt, um die Brauchbarkeit der Methode in diesen, gegenüber den Albuminaten, zu prüfen, sondern lediglich zu dem Zwecke, um zu erfahren, wie gross die Ammonmengen seien, welche durch glühenden Natronkalk unter den Verhältnissen, welche wir bei unseren Bestimmungen eingehalten haben, zersetzt werden. Dass eine solche, die Genauigkeit der Analyse schädigende Zerlegung von Ammoniak stattfindet, scheint Seegen und Nowak unbekannt zu sein.

(20 Ccm. Schwefelsäure vorgeschlagen tit. = 0,1838 Gr. N.; zurück titirt mit Barytwasser 1 Ccm. = 0,0022 Gr. N.)

Schwefelsaures Ammoniak:

0,7906 Gr. Subst. = 7,5 Ccm. Barytw. = 0,1673 Gr. N. = 21,16 %

0,7758 „ „ = 9,2 „ „ = 0,1636 „ „ = 21,09 „

Asparagin (100° C.):

0,6614 Gr. Subst. = 20,0 „ „ = 0,1398 „ „ = 21,14 „

0,6944 „ „ = 17,2 „ „ = 0,1460 „ „ = 21,03 „

Mittel 21,105

Asparagin sowohl wie schwefelsaures Ammoniak enthält **21,21 pCt. Stickstoff.**

Im Mittel der obigen Bestimmungen werden daher durch die Varrentrapp-Will'sche Methode:

99,5 pCt.

der theoretischen Stickstoffmenge gefunden. Da die Varrentrapp-Will'sche Methode nach den auch anderweit gemachten Erfahrungen durch die stattfindende Zersetzung von Ammoniak regelmässig einen Fehler in sich birgt, so hat es der Verfasser für zulässig erachtet, bei den nachstehenden Stickstoffbestimmungen eine Correction nach obigem Verhältniss anzubringen.

Ebenso wurde die Dumas'sche (absolute) Stickstoffbestimmungsmethode auf ihre Genauigkeit für die Verhältnisse, wie dieselben bei der vorliegenden Arbeit gleichmässig eingehalten wurden, geprüft. Die Ausführung geschah genau nach der von Nowak (Wiener Sitzungsber. Bd. 64) gegebenen Vorschrift, mit dem einzigen Unterschied, dass es die Zeit nicht erlaubte, eine ebenso lange Dauer des Durchleitens der Kohlensäure einzuhalten, wie dasselbe von Nowak geschehen ist. Es musste leider auf die von Nowak und Seegen bei ihren Controlebestimmungen erreichte vorzügliche Genauigkeit verzichtet werden, da es trotz 3stündigen Ueberleitens von Kohlensäure nicht gelang, alle Luft auszutreiben. Trotzdem sind die erhaltenen Resultate noch befriedigend.

Schwefelsaures Ammoniak:

0,3300 Gr. Subst. = 62,1 Ccm. N.; 753 B.; 17° C. t. = 0,0713 Gr. N. = 21,61 %

0,3290 „ „ = 62,0 „ „ 753 „ 18 „ „ = 0,0709 „ „ = 21,55 „

Asparagin (100° C.):

0,3484 Gr. Subst. = 65,3 „ „ 742 „ 15 „ „ = 0,0745 „ „ = 21,39 „

0,3246 „ „ = 62,0 „ „ 742 „ 18 „ „ = 0,0697 „ „ = 21,47 „

gefunden im Mittel 21,51

berechnet 21,21

Da der Fehler nach der Dumas'schen Methode, wie dieselbe ausgeführt wurde, ein constanter ist und von der in dem porösen Kupferoxyd zurückbleibenden Luft herrührt, so habe ich mich auch hier für berechtigt gehalten, eine Correction für denselben anzubringen und es ist bei den corrigirten Zahlen unter Berücksichtigung der obigen Verhältnisse eine Stickstoffmenge von 0,9 Ccm. (0° C. 760 B.) = 0,0011 Gr. Stickstoff von dem abgelesenen Gasvolumen in Abzug gebracht.

Uebrigens ändert weder die Correction beim Varrentrapp-Will'schen, noch beim Dumas'schen Verfahren das Gesamtergebn wesentlich, da dieselbe bei Anwendung von 0,5 — 0,7 Gr. Substanz zur Analyse in maximo 0,2 pCt. ausmacht.

Zur Untersuchung wurden von stickstoffhaltigen Substanzen gewählt:

- I. Kleber, aus Weizenmehl, als Nebenprodukt der Stärkefabrikation nach dem Martin'schen Verfahren erhalten.
- II. Pferdefleisch, von Fett möglichst befreit, getrocknet und gepulvert.
- III. Blutalbumin, käuflich, in der Färberei vielfach gebraucht.

I. Kleber.	Volumetrische Bestimmungen.					pCt.
Trockensubstanz.	N.	B.	t.	Gr. N.	Gr. N.	N.
	Ccm.				(corr.)	
0,4289 Gr.	50,1	753	17	0,0576	0,0565	13,17
0,3164 „	37,0	753	16	0,0427	0,0416	13,15
	Mittel 13,16 pCt. N.					

Bestimmungen nach Varrentrapp-Will.

20 Ccm. SO³ = 0,1872 Gr. N.; 1 Ccm. Barytwasser = 0,0022 Gr. N.

Trockensubst.	Barytw. Ccm.	N.		N.	
		Gr.	Pct.	Pct. (corr.)	N.
1,0104	28,0	0,1290	12,77	12,83	
0,8852	34,4	0,1156	13,06	13,13	
0,9848	30,4	0,1240	12,59	12,65	
0,7838	41,1	0,1017	12,99	13,05	
0,7872	41,2	0,1015	13,02	13,08	
0,8369	38,4	0,1073	12,82	12,88	

Mittel 12,94 pCt. N.

II. Pferdefleisch.	Volumetrische Bestimmungen.					pCt.
Trockensubstanz.	N.	B.	t.	Gr. N.	Gr. N.	N.
	Ccm.				(corr.)	
0,3904	48,7	753,5	19	0,0553	0,0542	13,88
0,3567	45,2	753,5	19	0,0501	0,0501	14,05
Mittel 13,97 pCt. N.						

Bestimmungen nach Varrentrapp-Will.20 Ccm. $\text{SO}^3 = 0,1872$ Gr. N.; 1 Ccm. Barytwasser = 0,00208 N.

Trockensubst.	Barytw.	N.	N.	N.
	Ccm.	Gr.	Pct.	Pct. (corr.)
0,7203	44,0	0,0957	13,29	13,37
0,9536	26,2	0,1327	13,92	13,99
1,0668	19,6	0,1464	13,72	13,79
0,8661	32,1	0,1264	13,90	13,97
0,6100	50,9	0,0813	13,33	13,40
0,5705	52,0	0,0790	13,85	13,92

Mittel **13,74** pCt. N.

III. Blotalbumin.	Volumetrische Bestimmungen.					pCt.
Trockensubst.	N.	B.	t.	N.	N.	N.
Gr.	Ccm.			Gr.	Gr. (corr.)	
0,4547	57,1	752	20,0	0,0645	0,0634	13,94
0,5187	62,0	771	17,0	0,0731	0,0720	13,88

Mittel **13,91** pCt. N.**Bestimmungen nach Varrentrapp-Will.**20 Ccm. $\text{SO}^3 = 0,1838$ Gr. N.; 1 Ccm. Barytwasser = 0,00214 Gr. N.

Trockensubst.	Barytw.	N.	N.	N.
Gr.	Ccm.	Gr.	Pct.	Pct. (corr.)
0,8737	31,8	0,1157	13,24	13,31
0,8969	29,8	0,1200	13,38	13,45
0,8023	34,4	0,1102	13,74	13,81
0,7581	38,4	0,1016	13,40	13,47
0,8281	33,2	0,1128	13,62	13,69
0,9854	23,0	0,1346	13,66	13,73

Mittel **13,58** pCt. N.**Zusammenstellung.**

	Volumetrisch.	n. Varrentrapp-Will.	Differenz.
Kleber	13,16	12,94	0,22
Pferdefleisch	13,97	13,74	0,23
Blotalbumin	13,91	13,58	0,33

Wenn man die vorstehenden Zahlen mit den von Nowak und Seegen erhaltenen Resultaten, welche Eingangs dieser Abhandlung aufgeführt wurden, vergleicht, so darf man sich nach denselben ohne Weiteres den Schlüssen von Nowak und Seegen über die Unbrauchbarkeit der Varrentrapp-Will'schen Methode in Albuminaten nicht anschliessen, wie folgende Erörterungen zeigen sollen. Zunächst kommen die aus den von uns angeführten Bestimmungen gezogenen Mittelzahlen nach der Varrentrapp-Will'schen Methode viel näher an den wirklichen Stickstoffgehalt der Albuminate heran, als dieses jemals bei den Nowak-Seegen'schen der Fall gewesen. Die

Differenzen waren z. B. nach N. u. S. im Kleber, Pferdefleisch und Albumin folgende:

	Nowak-Seegen.	Abesser-Märcker.
Kleber	1,50	0,22 pCt. N.
Pferdefleisch	2,10	0,23 „ „
Albumin	3,46	0,33 „ „

Allerdings existiren ja auch bei unsern Bestimmungen Differenzen gegen den wirklichen Gehalt, dieselben sind aber um das Zehnfache geringer, wie die von Nowak und Seegen beobachteten und keineswegs so bedeutend, um der Varrentrapp-Will'schen Methode den Stab ohne Weiteres zu brechen, wie dasselbe von Seiten der Herren Nowak und Seegen geschehen ist.

Ein Urtheil darüber zu fällen, worin der schlechtere Ausfall der von Nowak und Seegen ausgeführten Controle-Bestimmungen begründet ¹⁾ sein kann, dürfte kaum möglich sein, da die Art der Ausführung der Stickstoffbestimmung, die Beschaffenheit des benutzten Natronkalkes mir unbekannt ist. Nach den Erfahrungen, welche der Verfasser in langer Praxis gemacht hat und welche demselben von vielen Seiten bestätigt sind, ist es jedoch nicht unmöglich, dass vielleicht gerade eine in bester Absicht von Nowak und Seegen ausgeübte übertriebene Sorgfalt schädlich gewesen ist. Wenn man nämlich zur Will-Varrentrapp'schen Bestimmung sehr lange Röhren verwendet, wenn man die vor der Substanz liegende Schicht von Natronkalk zu sehr starkem Glühen erhitzt und wenn man endlich die Verbrennung sehr langsam vor sich gehen lässt, dann zeigen die auf diese Weise ausgeführten Bestimmungen häufig untereinander eine schlechtere Uebereinstimmung, als diejenigen, bei welchen anscheinend sorg-

1) Nowak und Seegen sprachen sich übrigens im Anfang ihrer Arbeit sehr reservirt über den Grund der von ihnen beobachteten Differenzen aus und halten es für nicht unmöglich, dass es gelingen könne, durch bestimmte Modificationen der Natronkalkbestimmung zutreffende Resultate zu erhalten. Aus den im weitem Verlauf der Arbeit gemachten Angaben scheint jedoch hervorzugehen, dass sie die Erklärung für den niedrigen Ausfall in der Constitution der Eiweisskörper suchen. Nowak und Seegen würden sich anderen Falls nicht so bestimmt und absprechend über das Resultat unserer Bestimmungen, welche sie mehrfach als direct „unrichtig“ bezeichnen, geäußert haben, da sie unser Verfahren in seinen Einzelheiten nicht kannten.

loser operirt wurde. In den Laboratorien, welche zahlreiche Stickstoffbestimmungen auszuführen haben, ist es daher allgemein Gebrauch geworden, die Verbrennungsröhren nicht länger als 30—35 Cm. zu nehmen und die Verbrennung in Summa nicht länger als eine Stunde dauern zu lassen. Es ist vielleicht nicht unmöglich, dass von Nowak und Seegen hiergegen gefehlt ist und dass bei den betreffenden Controlebestimmungen wesentliche Mengen von Ammoniak bei sehr langsamer Leitung der Operation durch eine lange Schicht stark glühenden Natronkalks zersetzt sind. Ich kann mich wenigstens noch nicht der Ueberzeugung hingeben, dass der von Nowak und Seegen beobachtete schlechte Ausfall der Varrentrapp-Will'schen Methode in Albuminaten, in der Beschaffenheit der Albuminate und nicht in der Art der Ausführung der Stickstoffbestimmungen begründet sei.

Verfasser will es sich nicht versagen, hier auf einen Einwurf, der ihm von Nowak und Seegen in ungerechtfertigter Weise gemacht ist, einzugehen.

Bei Besprechung der Nasse'schen Arbeit über die Eiweisskörper (Pflüger's Archiv Bd. VI) bedauern Nowak und Seegen zunächst, dass Nasse die Verbrennung mit Natronkalk für genügend erachtet habe, um die wirklichen Stickstoffwerthe der Eiweisskörper festzustellen und fahren dann fort:

„Die niederen Stickstoffwerthe, die er (Nasse) für die meisten Eiweisskörper gefunden hat und die so beträchtlich von den durch andere Analytiker auf anderm Wege gefunden, abweichen, hätten ihm sagen müssen, dass Märcker's Ansicht, die Will-Varrentrapp'sche Methode gäbe bei Eiweisskörpern dieselben Resultate, wie die Kupferoxydbestimmung nicht richtig sein könne. Wenn berücksichtigt wird, dass Nasse die von ihm untersuchten Eiweissstoffe mit grosser Sorgfalt und möglichst rein darstellte, sind die kleinen von ihm gefundenen Stickstoffzahlen eine eclatante Bestätigung unserer Erfahrung, dass ein beträchtlicher Theil des Stickstoffgehaltes der Eiweisskörper durch einfache Natronkalkverbrennung nicht zur Entwicklung gelangt.“

Sehen wir, wie es mit der eclatanten Bestätigung von Nowak und Seegen's Ansicht durch Nasse's Arbeit steht!

Nasse untersuchte eine grosse Anzahl von Eiweisskörpern und deren Derivaten, um über die Form, in welcher der Stick-

stoff in denselben enthalten sei, Aufschluss zu erhalten und kam zu dem Resultat, dass Stickstoff in festerer und lockerer Form in denselben enthalten sei.

Die Nasse'schen Untersuchungen drehen sich nun um die Menge des locker gebundenen Stickstoffs in den Eiweisskörpern, d. h. um das Verhältniss von locker gebundenem Stickstoff zu Gesamtstickstoff.

Um dieses Verhältniss festzustellen war es natürlich unnöthig, den Gehalt der Trockensubstanz des zu den Bestimmungen verwendeten Materials an Stickstoff zu kennen, sondern es war einfacher, bequemer und, wegen der Hygroskopicität der betreffenden Körper, auch sicherer, zum Abwägen lufttrockene Materialien zu verwenden.

Und so ist es auch in den Nasse'schen Versuchen geschehen. Bei genauer Durchsicht derselben sieht man deutlich, und persönliche Mittheilungen meines Freundes O. Nasse haben es mir durchgehends bestätigt, dass keine einzige der von Nasse angegebenen Stickstoffzahlen sich auf Trockensubstanz bezieht, weil eben in diesem Falle für Nasse der Gehalt der Trockensubstanz an Stickstoff vollkommen gleichgültig war.

Die eclatante Bestätigung, welche Nowak und See gen aus den Nasse'schen Versuchen für ihre Ansicht herleiten wollen, scheint mir hiernach nicht mehr berechtigt, man dürfte vielmehr eher das Gegentheil aus denselben ableiten, dass nämlich Nasse in den lufttrockenen Materialien nicht mehr Stickstoff finden konnte und dass seine Stickstoffzahlen sehr annähernd richtig sind.

Jedoch ich kehre nach dieser Abschweifung zu den oben gegebenen analytischen Zahlen zurück.

Wenn man die Einzel-Bestimmungen von Kleber, Pferdefleisch und Blutalbumin in das Auge fasst, so sieht man, dass ein grosser Theil der Bestimmungen nach Varrentrapp-Will mit den wirklichen Gehalten sehr annähernd übereinstimmt.

Von den 6 jedesmal ausgeführten Bestimmungen kann man z. B. herausgreifen:

Kleber mit 13,16 pCt. N. nach Dumas,	
» » 13,05 » »	} nach Varrentrapp-Will.
» » 13,08 » »	
» » 13,13 » »	

Pferdefleisch	»	13,97	pCt. N. nach Dumas,	
»	»	13,92	» »	} nach Varrentrapp-Will.
»	»	13,97	» »	
»	»	13,99	» »	
Blutalbumin	»	13,91	» » nach Dumas,	
»	»	13,69	» »	} nach Varrentrapp-Will.
»	»	13,73	» »	
»	»	13,81	» »	

Wenn der zu niedrige Ausfall der Bestimmungen nach Will-Varrentrapp in dem Verhalten eines Theils des in den Eiweissstoffen enthaltenen Stickstoffs gegenüber dem Natronkalk begründet ist, dann dürften Bestimmungen, welche den wirklichen Werthen so nahe kommen, wie die obigen, in so grosser Zahl (die Hälfte sämtlicher Bestimmungen bildend) nicht vorkommen. Es ist aber gewiss nicht unberechtigt, wenn daraus, dass von je 6 Bestimmungen jedesmal 3 annähernd richtig ausfallen, geschlossen wird, dass es nicht dem Verhalten des Stickstoffgehaltes der Eiweissstoffe gegenüber dem Natronkalk, sondern anderweitigen Umständen zuzuschreiben ist, wenn Seegen und Nowak in den Eiweissstoffen zu wenig Stickstoff finden. Ebenso wenig kann man es nach obigen Zahlen für jetzt bereits zulässig halten, wenn Nowak und Seegen andeuten, dass es nicht unmöglich sei, aus den Mengen von Stickstoff, welche durch die einfache Natronkalkverbrennung nicht in Ammoniak übergeführt werden können, Schlüsse auf die Constitution der Eiweisskörper zu ziehen.

Endlich erübrigt es noch, die Zahlen der von uns ausgeführten Stickstoffbestimmungen auf ihre maximale Abweichung vom wirklichen Gehalt zu prüfen.

	N-Gehalt nach Dumas.	Varrentrapp-Will (Minim.)	Differenz.
I. Kleber:	13,16	12,83	0,33 pCt.
II. Pferdefleisch:	13,97	13,37	0,60 »
III. Blutalbumin:	13,91	13,31	0,60 »

Die höchste von uns während sämtlicher Bestimmungen beobachtete Differenz beträgt demnach 0,6 pCt.

Es liegt uns nun fern, das Vorkommen einer solchen Differenz für unwesentlich halten, oder die Natronkalkbestimmung, auch unter den Verhältnissen, wie wir dieselben eingehalten haben, in ihrer Genauigkeit mit der Kupferoxydbestimmung messen zu wollen. Wir geben gern zu, dass die Kupferoxydbestimmung in Bezug auf Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Natronkalkbestimmung überlegen ist, aber wir bestreiten es auf Grund

unserer Zahlen, dass man bei geübter Ausführung der Natronkalkbestimmung derartige Differenzen erhält, wie dieselben von Nowak und Seegen beobachtet und als der Natronkalkmethode eigenthümlich erklärt sind.

Wir stützen uns zur Begründung dieses Widerspruches auf die oben angeführten Bestimmungen und legen ein ganz besonderes Gewicht auf die Zahlen, welche darthun, dass bei unseren Analysen je 3 von 6 Bestimmungen mit den wirklichen Werthen sehr nahe übereinstimmen und dass unsere Mittelzahlen nicht mehr als 0,2—0,3 pCt. hinter denselben zurückbleiben.

Wenn es jedesmal unter sechs Bestimmungen dreimal gelungen ist, mit der Natronkalkmethode richtig zu analysiren, dann liegt gewiss der Schluss nahe, dass es nicht ein spezifisches Verhalten der Eiweisskörper zum Natronkalk sein kann, welches bei dem Nowak-Seegen'schen Verfahren Differenzen bis zu 3,5 pCt., bei den unserigen bis zu 0,6 pCt. verursacht hat, sondern dass es in der Art der Ausführung begründet ist, wenn mit der Natronkalkmethode zu wenig Stickstoff gefunden wird.

Wenn es unter 6 Malen 3 Mal gelungen ist, mit der Natronkalkbestimmung das Richtige zu treffen, so muss es auch gelingen, bei sorgfältigem Studium die Verhältnisse kennen zu lernen, unter welchen man immer die absolut richtigen Zahlen erhalten kann.

Einige der Umstände, welche von Einfluss auf den Ausfall des Resultats sein können, sind bereits oben angedeutet, es mag hier noch hinzugefügt werden, dass feinste Vertheilung der zu analysirenden Eiweissstoffe und innigste Mischung mit dem Natronkalk gewiss ein Erforderniss für den richtigen Ausfall der Stickstoffbestimmung ist. Beobachtet man diese Verhältnisse, so kann man, unserer Ueberzeugung nach, sicher sein, nicht grössere Differenzen zu erhalten, als wir dieselben beobachtet haben, d. h. man darf erwarten, mittelst der Natronkalkmethode den Stickstoffgehalt der Eiweissstoffe nur um ein Geringes niedriger als nach der Kupferoxydmethode zu finden. Allerdings ist die Kupferoxydmethode genauer und zuverlässiger, aber man wird kaum nach unsern um 0,2—0,3 pCt. zu niedrig ausgefallenen Mittelzahlen die Natronkalkmethode für vollkommen unbrauchbar erklären können, sondern es wird die

von uns mit der Natronkalkbestimmung erreichte Genauigkeit in den bei Weitem meisten Fällen genügen.

Dieser Ansicht ist auch Ritthausen bei seinen Untersuchungen der pflanzlichen Eiweissstoffe gewesen (Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte u. Oelsaamen, von Dr. H. Ritthausen, Bonn 1872 bei Max Cohen & Sohn), indem er bei den Hunderten von Bestimmungen des Stickstoffs stets die Varrentrapp-Will'sche Methode (Platinchlorid) angewendet hat. Dass es nicht an der Varrentrapp-Will'schen Methode als solcher, sondern an der Ausführung derselben durch Nowak und Seegen gelegen hat, wenn die Resultate derselben zu niedrig ausgefallen sind, ist z. B. evident aus der Untersuchung des Legumins, welche Nowak und Seegen gleichfalls ausführten, zu ersehen.

Das Legumin enthält nach Ritthausen

16,77 pCt. Stickstoff,

Nowak und Seegen fanden in ihrem Legumin damit vollkommen übereinstimmend

16,60 pCt. Stickstoff (nach Dumas),

aber nur 14,25 „ „ (nach Varrentrapp-Will).

Ritthausen hat also mit der Natronkalkbestimmung fast genau dieselbe Stickstoffmenge gefunden, wie Nowak und Seegen mit der Kupferoxydbestimmung, während Nowak und Seegen mit der Natronkalkbestimmung um 2,25 pCt. hinter dem wirklichen Gehalt zurückblieben.

Obgleich nun die von uns ausgeführten Analysen nur in einzelnen Fällen mehr als einige Zehntel Procent hinter den richtigen Werthen zurückgeblieben waren, so wurde es dennoch versucht, durch Modificationen in der Methode auch diese geringen Differenzen zum Verschwinden zu bringen.

Als nächstliegende Möglichkeit erschien es, dass sich beim Glühen der Eiweissstoffe mit Natronkalk anilinartige Producte bilden konnten, welche das bei der Analyse angewendete Zurücktitriren der durch Ammoniak nicht neutralisirten Schwefelsäure bei der Natronkalkbestimmung ungenau machten.

Nowak und Seegen finden es „höchst befremdend“, dass ich eine derartige Erklärung für die Differenzen der Will-Varrentrapp'schen Methode habe suchen können, da es unzweifelhaft sei, dass Anilin dasselbe Sättigungsvermögen besitze, wie Ammoniak,

es also für die Berechnung des Stickstoffgehalts ganz gleichgültig sei, ob die dieser Berechnung zu Grunde gelegte Menge der Säure durch Anilin oder Ammoniak neutralisirt sei.

Ich muss gestehen, dass ich erstaunt war, als ich den obigen Vorwurf in Nowak und Seegen's Arbeit fand.

Wenn man die Acidität einer zur Stickstoffbestimmung vorgeschlagenen Säure zurückmisst, so fügt man unter Zusatz von Lakmustinctur so lange Barytwasser oder Kalilauge hinzu, bis die rothe Farbe des Lakmus in Blau übergeht. Dieser Uebergang in Blau wird aber dadurch bewirkt, dass Baryt oder Kali freies Ammoniak aus dem gebundenen Ammoniak austreiben, es wird also die Blaufärbung in diesem Falle nicht durch Baryt oder Kali, sondern durch Ammoniak, welches durch dieselben frei gemacht wurde, bewirkt. Wenn man nun in der Flüssigkeit freie Schwefelsäure und Anilin hätte, so würde das Verhalten genau dasselbe sein, d. h. man müsste den Gehalt an Anilin durch Zurückmessen der Acidität bestimmen können, wenn Anilin ebenso wie Ammoniak im Stande wäre, rothe Lakmustinctur blau zu färben. Diese Eigenschaft fehlt aber dem Anilin (cfr. Gmelin, org. Chemie II, 706, wo es lakonisch heisst: Anilin bläut nicht geröthetes Lakmus“, unverdorben) und aus diesem Grunde ist Anilin auf dem Wege des Titrirens nicht zu bestimmen. Wenn man z. B. eine gemessene Menge titrirter Schwefelsäure mit Anilin versetzt, so hat man bis zum Eintreten der deutlichen Blaufärbung des zugesetzten Lakmus ebenso viel der Titerflüssigkeit von Barytwasser oder Kali zuzufügen, als wenn überhaupt gar kein Anilin zugesetzt wäre. Nowak und Seegen scheinen diese Eigenschaft des Anilins nicht zu kennen. Da also Anilin durch Titriren nicht zu bestimmen ist, so haben wir versucht, den bei eventueller Gegenwart von Anilin oder ähnlicher Verbindungen erwachsende Fehler dadurch zu umgehen, dass wir die Stickstoffbestimmung mit vorgelegter Salzsäure ausführten, die erhaltene Lösung eindampften, von den theerartigen Producten abfiltrirten, mit Platinchlorid versetzten und wieder eindampften. Wenn man den aus Chlorammonium, Platinchlorid und eventuell aus salzsaurem Anilin-Platinchlorid bestehenden Eindampfrückstand mit Aether, welcher nur wenig Alkohol enthält, versetzt, so bleibt das salzsaure Anilin, Platinchlorid, mit dem Chlorammonium-Platinchlorid ungelöst zurück und der Stick-

stoffgehalt desselben ist aus der beim Glühen bleibenden Platinsmenge zu bestimmen. (A. W. Hofmann aus Rose's analyt. Chemie, bearb. v. Finkener, S. 801.) ¹⁾

Die auf obige Weise im Kleber ausgeführten Bestimmungen haben ein so günstiges Resultat ergeben, dass ich hieraus die Berechtigung herleitete, mich auf der Leipziger Naturforscher-Versammlung im Sinne des Auftretens anilinartiger Producte bei der Verbrennung der Eiweisskörper mit Natronkalk auszusprechen.

Während durch die Kupferoxydbestimmung im Kleber

13,16 pCt. Stickstoff

gefunden wurden, ergaben die nach Varrentrapp-Will mit Platinchlorid ausgeführten Bestimmungen:

13,07	}	Mittel 13,10 pCt. Stickstoff.
13,11		
12,99		
13,07		
13,26		
13,09		

1) Als ich im Begriff war, die vorliegende Arbeit zusammenzustellen, schien es mir nicht unmöglich, dass manche der bei der Natronkalkbestimmung beobachteten Differenzen auf eine Bildung anilinähnlicher Producte, wie dieselbe oben angedeutet ist, zurückgeführt werden könne. So heben z. B. Nowak und Seegen in ihrer oft citirten Untersuchung hervor, dass Ritthausen und Kreusler im Leucin durch die Natronkalkbestimmung nur 7,9 pCt. Stickstoff anstatt der in demselben enthaltenen 10,68 pCt. gefunden hätten.

Als wir nach der Titrimethode den Stickstoffgehalt des Leucins bestimmten, erhielten wir allerdings ähnliche Zahlen, nämlich:

(20 Ccm. SO_3 = 0,20253 Grm. N.; 1 Ccm. Barytwasser = 0,0022 Grm. N.)
 0,3030 Grm. Leucin = 80,2 Ccm. Barytw. = 0,02609 Grm. N. = 8,61 pCt. N.
 0,5660 » » = 72,6 » » = 0,04261 » » = 7,53 » »

Mittel 8,07 pCt. N.

Corrigirt 8,11 » »

Als jedoch genau nach obiger Vorschrift, mit Platinchlorid, analysirt wurde, erhielten wir ein mit dem wirklichen Stickstoffgehalt sehr nahe übereinstimmendes Resultat:

0,5219 Grm. Leucin = 0,3850 Grm. Pt = 0,054496 Grm. N. = 10,44 pCt. N.

Corrigirt = 10,49 » »

Leucin enthält 10,68 » »

Differenz 0,19 pCt. N.

Ein mir zu Gebote stehendes, leider nicht vollkommen aschefreies Kreatin, ergab anstatt 32,06 pCt. Stickstoff, 31,0 pCt. Stickstoff. Leider war die Probe zu klein, um eine Aschebestimmung auszuführen. Ich

Die Uebereinstimmung lässt demnach nichts zu wünschen übrig.

Fast ebenso gut war dieselbe, als das beim Eindampfen zurückbleibende Chlor mit Silberlösung titirt wurde¹⁾.

13,00	}	Mittel 13,03 pCt. Stickstoff.
13,10		
12,95		
12,94		
13,13		
13,05		

Nach der Varrentrapp-Will'schen Methode waren durch Titriren gefunden

12,94 pCt. Stickstoff.

Es waren also mit Platinchlorid ohne Zweifel höhere und bessere Zahlen beim Kleber erhalten. Nowak und Seegen behaupten freilich, es sei nothwendig, dass man nach dieser Methode zu viel Stickstoff finde, da durch die theerartigen Destillationsproducte eine 0,7 pCt. Stickstoff entsprechende Platinmenge reducirt werde. Wir waren uns bei unsern Versuchen über diesen Fehler vollkommen klar, als wir jedoch gefunden hatten, dass durch Eindampfen, Lösen in Wasser und Filtriren die Destillationsproducte so zu entfernen seien, dass dieselben bei mehreren Controlebestimmungen nur noch Platin von 0,02 pCt Stickstoffwerth reducirten, glaubten wir, die Platinchloridbestimmungen getrost anwenden zu dürfen.

Während nun durch die Platinmethode der Stickstoff in dem Kleber mit grosser Genauigkeit zu bestimmen war, hat sich die Erwartung, dass dasselbe auch in den übrigen Eiweissstoffen der Fall sein werde, leider nicht bestätigt, wie nachstehende Zahlen beweisen.

Pferdefleisch	m.	13,97	pCt.	N.	Blutalbumin	m.	13,91	pCt.	N.
»	»	13,47	»	»	»	»	13,43	»	»
»	»	13,50	»	»	»	»	13,58	»	»
»	»	13,60	»	»					
»	»	13,46	»	»					
»	»	13,68	»	»					
»	»	13,93	»	»					

glaube jedoch hiernach allen Grund zur Vermuthung zu haben, dass auch im Kreatin mittelst Platinchlorid der Stickstoff nach Varrentrapp und Will exact zu bestimmen ist.

1) Fresenius weist in der Zeitschrift für analyt. Chemie 1873 p. 221 darauf hin, dass diese Methode von F. Mohr angegeben ist.

Die früher meinerseits ausgesprochene Hoffnung, dass es gelingen werde, die Genauigkeit der Varrentrapp-Will'schen Methode durch Bestimmung mit Platinchlorid zu erhöhen, ist daher unbegründet gewesen. Eine Erklärung dafür, wesshalb diese Modification der Methode beim Kleber so vorzügliche Resultate ergeben hat, bin ich ausser Stande zu geben.

Es wurde ferner versucht, ob durch Mengen der Substanz mit Zucker (gleiches Gewicht des angewandten Eiweissstoffs) die Genauigkeit der Natronkalkmethode zu erhöhen sei, und hierbei folgende Resultate erhalten:

Kleber mit 13,16 pCt. Stickstoff nach Dumas,			
»	»	12,94	» » » Varrentrapp-Will (ohne Zucker),
»	»	13,05	} Mittel 12,90 pCt. N. (mit Zucker).
»	»	13,11	
»	»	13,08	
»	»	12,90	
»	»	12,56	
»	»	12,70	
Pferdefleisch mit 13,97 pCt. Stickstoff nach Dumas,			
»	»	13,74	» » » Varrentrapp-Will (ohne Zucker),
»	»	13,64	} Mittel 13,45 pCt. N. (mit Zucker).
»	»	13,94	
»	»	13,14	
»	»	13,26	
»	»	13,40	
»	»	13,31	

Demnach hat der Zusatz von Zucker die Genauigkeit der Varrentrapp-Will'schen Methode nicht erhöhen können.

Dasselbe war der Fall, als zur Erzielung einer innigen Mischung die abgewogene Menge der Eiweissstoffe in einem feinern Glasschälchen (von Hofmeister zur Analyse des Harns angegeben) mit Zuckerlösung eingedampft und das Schälchen mit den Substanzen zerrieben und mit Natronkalk gemischt wurde. Ich unterlasse es, die hierbei erhaltenen Zahlen aufzuführen, dieselben ergeben kein günstigeres Resultat.

Endlich wurde noch ein von J. Lehmann angegebenes Verfahren, der Varrentrapp-Will'schen Methode, der Prüfung unterworfen. Dasselbe besteht darin, dass die Substanz in einem Wasserstoffstrom verbrannt wird. Der Zweck des Verfahrens ist es, die Verbrennungsproducte und mit denselben das Ammo-

niak schnell fortzuführen und nur möglichst kurze Zeit mit dem glühenden Natronkalk in Berührung zu lassen.

Kleber mit 13,16 pCt. Stickstoff, Pferdefleisch mit 13,97 pCt. Stickstoff, in Wasserstoffstrom nach Varrentrapp-Will.

»	»	13,00 pCt. Stickst.	Pferdefleisch mit 13,68 pCt. Stickst.
»	»	12,55 »	» » 13,59 » »
»	»	12,94 »	» » 13,46 » »
»	»	12,69 »	» » 14,06 » »
»	»	12,69 »	» » 13,66 » »
»	»	12,64 »	» » 13,78 » »
		12,75 pCt. N.	13,71 pCt. N.

Eine Besserung im Resultat konnte also auch durch die Anwendung des Wasserstoffstromes nicht erreicht werden.

Hiermit verlasse ich die Bestimmungen, welche mit Eiweissstoffen selbst angeführt wurden; als Resultat derselben mag nochmals hervorgehoben werden, dass ich mich nach den vorstehenden Bestimmungen für durchaus berechtigt halte, an meiner ausgesprochenen Ansicht:

„Man erhält, bei kundiger Ausführung der Varrentrapp-Will'schen Methode, vermittelt derselben den Stickstoffgehalt der Eiweissstoffe sehr annähernd richtig“, festzuhalten.

Die Zweifel, welche von Nowak und Seegen an der Brauchbarkeit der Methode ausgesprochen sind, haben uns veranlasst, noch einige weitere Versuche über die Varrentrapp-Will'sche Methode auszuführen, deren Resultat kurz in nachstehenden Zahlen gegeben wird.

Nowak und Seegen hatten bei der Analyse des Legumins eine Differenz von 2,30 pCt. nach der Varrentrapp-Will'schen Methode erhalten; da Nowak und Seegen ferner durch Beimengung von stickstofffreier organischer Substanz (Zucker) gleichfalls den vollen Stickstoffgehalt der Eiweissstoffe nach Varrentrapp-Will nicht erhalten konnten, so war es interessant zu untersuchen, bis zu welchem Grade der Genauigkeit die Varrentrapp-Will'sche Methode in Stoffen auszuführen war, welche neben sehr grossen Mengen von Eiweissstoffen auch gleichzeitig bedeutende Mengen von stickstofffreier organischer Substanz enthielten. Wenn der Fehler der Natronkalkmethode durch das

specifische Verhalten von Eiweissstoffen zu Natronkalk verursacht und durch Beimengung von Zucker nicht aufgehoben wird, so waren auch in eiweissreichen Stoffen ähnliche Differenzen zu erwarten.

Zur Untersuchung wurden Lupinen gewählt, welche nach Ritthausen zwar nicht Legumin, aber das dem Legumin sehr nahe verwandte Conglutin enthalten.

Volumetrische Analyse.

8,70 }
8,59 } Mittel 8,65 pCt. Stickstoff.

Bestimmungen nach Varrentrapp-Will (titrirt).

8,59 }
8,58 }
8,67 } Mittel 8,64 pCt. Stickstoff.
8,73 }
8,58 }
8,71 }

Mit Platinchlorid:

8,71 }
8,67 } Mittel 8,69 pCt. Stickstoff.

Die Uebereinstimmung der vorstehenden Bestimmungen ist eine vorzügliche, dieselbe bestätigt meine schon häufig ausgesprochene Ansicht, dass es nicht in der Constitution der Eiweisskörper begründet ist, wenn durch die Natronkalkbestimmung zu wenig Stickstoff gefunden wird.

Zur weitem Prüfung der Varrentrapp-Will'schen Methode sind auch stickstoffärmere Materialien vergleichend untersucht.

Kleeheu.

Volumetrisch: 4,02 }
4,19 } Mittel 4,12 pCt. Stickstoff.

Varrentrapp-Will (titrirt):

4,12 }
4,14 }
4,19 } Mittel 4,14 pCt. Stickstoff.
4,09 }
4,18 }
4,14 }

(Platinchlorid): 4,17 }
4,13 } Mittel 4,15 pCt. Stickstoff.

Wiesenheu.

Volumetrisch: 1,98 }
2,14 } Mittel 2,06 pCt. Stickstoff.

Varrentrapp-Will (titirt):

2,04	}	Mittel 2,03 pCt. Stickstoff.
2,04		
2,02		
2,00		
2,03		
2,03		
(Platinchlorid): 2,09	}	Mittel 2,05 pCt. Stickstoff.
2,00		

Endlich wurde, da wir einmal auf die vergleichenden Bestimmungen eingerichtet waren, auch Harn der Untersuchung nach Dumas und Varrentrapp-Will unterzogen. Derselbe stammte von Rindern. 25 Ccm. Harn enthielten:

Volumetrisch: **0,0542** Grm. Stickstoff.

Nach Varrentrapp-Will (titirt):

0,0543	}	0,0541 Grm. Stickstoff.
0,0546		
0,0538		
0,0545		
0,0533		
0,0543		
(Platinchlorid): 0,0534	}	0,0539 Grm. Stickstoff.
0,0542		

Eines Commentars bedürfen die vorstehenden Zahlen nicht, denn es stimmen in den stickstoffärmeren Materialien die auf verschiedenem Wege ausgeführten Stickstoffbestimmungen fast absolut untereinander überein.

Hiermit soll der Bericht über die von uns ausgeführten Controlebestimmungen geschlossen werden.

Wenn wir auf die in dem vorliegenden Bericht enthaltenen Zahlen zurückblicken, so wissen wir sehr wohl, dass durch dieselben die Frage über die Stickstoffbestimmung in den Eiweissstoffen noch keineswegs zum Abschluss gebracht ist, wir glauben aber den Beweiss geliefert zu haben, dass die Frage in dem von Nowak und Seegen behaupteten Sinne der Unbrauchbarkeit der Varrentrapp-Will'schen Methode ebenfalls noch durchaus nicht als abgeschlossen anzusehen ist. Es wäre wünschenswerth, wenn auch von anderer Seite eine Controlirung der von Nowak und Seegen sowie der von uns vorstehend publicirten Zahlen erfolgte.

Halle a. S., 28. August 1873.