

Über die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl im Kreatin.

Von

C. Beger, G. Fingerling und A. Morgen (Referent).

(Aus der agrikultur-chemischen Versuchsstation Hohenheim.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Juli 1903.)

In Band XXXIX, Seite 12, dieser Zeitschrift veröffentlichten Fr. Kutscher und H. Steudel Untersuchungen über die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, bei welchen sie zu dem Resultat gelangen, daß diese Methode für die Untersuchung von Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Lysin, Histidin nicht brauchbar ist. Dieses Resultat mußte befremden, da die Methode von Kjeldahl an zahlreichen Instituten, besonders agrikultur-chemischen Laboratorien, seit fast zwei Jahrzehnten zur Untersuchung der verschiedenartigsten Substanzen verwendet wird und sich hierbei niemals irgendwelche Schwierigkeit gezeigt hat, so daß die Methode für die Stickstoffbestimmung in allen Stoffen, mit Ausnahme solcher, die Stickstoffoxyde oder Cyanverbindungen etc. enthalten und für welche das Verfahren, wie schon Kjeldahl selbst angegeben hat, nicht anwendbar ist, als durchaus brauchbar bezeichnet werden muß. Die Beobachtung von Kutscher und Steudel interessierte uns um so mehr, als der eine von uns (Morgen) sehr bald nach Bekanntwerden der Kjeldahlschen Methode, im Verein mit Heffter und Hollrung¹⁾ eine größere Anzahl von vergleichenden Untersuchungen ausgeführt und die große Genauigkeit der Kjeldahlschen Methode dadurch nachgewiesen hat. Es kommt hinzu, daß bei den von

¹⁾ Chemikerzeitung, Bd. 8, 1884, S. 432.

Kutscher und Steudel verwendeten Substanzen ein Versagen der Kjeldahlschen Methode auch auf Grund der chemischen Konstitution dieser Verbindungen nicht anzunehmen ist, und weiter hat auch bereits Kjeldahl¹⁾ die Brauchbarkeit seiner Methode für eine ganze Reihe der verschiedensten Körper (Triäthylamin, Asparagin, Harnstoff, salzsaures Anilin, Hippursäure, salzsaures Morphin, salzsaures Chinin, Indigotin und auch Harnsäure) dargetan. Auffallend war uns weiter bei den Untersuchungen von Kutscher und Steudel, daß dieselben mitunter auch richtige Zahlen gefunden haben. Dieses wäre, unseres Erachtens, ausgeschlossen, wenn die Methode infolge der Konstitution der untersuchten Stoffe für diese nicht anwendbar wäre, wie dies z. B. bei Nitraten der Fall ist, bei denen man, wenn man nicht ganz besondere Modifikationen anwendet, niemals die richtige Zahl nach dem Verfahren von Kjeldahl finden wird. Nur durch ein merkwürdiges Zusammenreffen sich gegenseitig kompensierender Fehler wäre es möglich, durch eine im Prinzip nicht anwendbare Methode ausnahmsweise einmal auch die richtige Zahl zu erhalten. Erhält man aber mehrmals richtige Zahlen, so ist daraus doch wohl zu schließen, daß die Methode im Prinzip auch für die Untersuchung der betreffenden Substanz zulässig ist und daß abweichende, also falsche Zahlen, wie Kutscher und Steudel sie bei der Mehrzahl ihrer Bestimmungen erhalten haben, daher nicht auf die Methode als solche, sondern auf die Art der Ausführung der Methode zurückgeführt werden müssen.

Wir haben uns nun veranlaßt gesehen, mit Kreatin einige Bestimmungen auszuführen. Das Präparat stammte von Merck, enthielt 10,04% Wasser, ermittelt durch Trocknen im Wassertrockenschrank bei ca. 97° C., also 89,96% Trockensubstanz.

Die mit diesem Präparat ausgeführten Stickstoffbestimmungen, von denen einige nach der üblichen Methode von Kjeldahl, einige auch nach der von Gunning angegebenen Modifikation ausgeführt wurden, ergaben folgende Resultate:

¹⁾ Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 22, S. 366.

Lfd. Nr.	An-gewandte Substanz g	NaOH ccm ¹⁾	N g	% N in der frischen Sub- stanz	% N in der Trocken- Substanz	Differenz gegen den theo- retischen Wert in der Trocken- Substanz ²⁾	Bemerkungen
1	0,500	60,1	0,1440	28,80	32,01	— 0,05	
2	0,500	59,6	0,1428	28,56	31,75	— 0,31	
3	0,300	36,0	0,08626	28,75	31,96	— 0,10	Nach Gunning
4	0,300	35,95	0,08614	28,71	31,91	— 0,15	> >
5	0,300	35,95	0,08614	28,71	31,91	— 0,15	> >
6	0,300	35,80	0,08578	28,59	31,78	— 0,28	
(7	0,300	35,60	0,08530	28,43	31,60	— 0,46)	
8	0,300	36,10	0,08650	28,83	32,05	— 0,01	
9	0,250	30,05	0,07200	28,80	32,01	— 0,05	
10	0,200	23,80	0,05703	28,52	31,70	— 0,36	
11	0,150	18,00	0,04313	28,75	31,96	— 0,10	
12	0,150	17,90	0,04289	28,59	31,78	— 0,28	Nach Gunning
Mittel aller Analysen					31,87	— 0,19	
Mittel aller Analysen (Nr. 7 ausgeschaltet)					31,89	— 0,17	

Die Differenz zwischen den einzelnen Bestimmungen wäre noch geringer ausgefallen, wenn wir für jede Bestimmung eine größere Menge Substanz verwendet hätten. Aus Rücksicht auf die Kostbarkeit des Präparats haben wir kleine Mengen verwendet, wodurch natürlich die Genauigkeit beeinträchtigt werden muß, da bei so kleinen Substanzmengen schon die unvermeidlichen Fehler bei der Titration sich bedeutender bemerkbar machen.

Im Mittel aller Analysen wurden 31,87% Stickstoff erhalten, also eine Differenz von — 0,19% gegen die berechnete Menge. Läßt man die Bestimmung Nr. 7, bei welcher ein kleines Versehen passierte und die also nicht zuverlässig ist, die wir aber mitgeteilt haben, um sämtliche Analysen, die wir ausgeführt haben, anzuführen, für die Berechnung des Mittels fort, so ergibt sich als Mittel 31,89% Stickstoff, also nur eine Differenz von — 0,17% gegenüber der theoretischen Zahl.

¹⁾ 1 ccm NaOH = 0,002396 g N.

²⁾ theoretisch = 32,06% N.

Aus diesen Zahlen muß man wohl den Schluß ziehen, daß die Methode von Kjeldahl für die Bestimmung des Stickstoffs im Kreatin durchaus brauchbar und zuverlässig ist, und daß die Schlußfolgerung, welche Kutscher und Steudel aus ihren Untersuchungen ziehen, nicht richtig und durch falsche Ausführung der Methode veranlaßt ist.

Es fragt sich nun, worin sind die so abweichenden Resultate, welche Kutscher und Steudel erhalten haben, begründet. Man könnte an eine unreine oder sonst abnorme Beschaffenheit des Präparates denken; dies erscheint aber nicht zutreffend, wenn man berücksichtigt, daß die genannten Forscher mit demselben Präparat die allerverschiedensten Zahlen erhalten haben; auch haben dieselben bei der Bestimmung nach Dumas Zahlen erhalten, welche für die Reinheit des Präparats sprechen. Es muß daher, wie wir schon oben anführten, die Ursache der Differenzen in der Ausführung der Bestimmung gesucht werden.

Auffallend ist, daß Kutscher und Steudel die alte Methode der Oxydation mit Permanganat noch anwenden, welche Kjeldahl ursprünglich vorgeschlagen hat. Allerdings lassen sich auch auf diese Weise durchaus brauchbare Resultate erhalten, wie das unter anderem auch die Untersuchungen von Heffter, Hollrung und Morgen zeigen, welche seiner Zeit auch nach diesem ursprünglichen Verfahren ausgeführt wurden. Die Oxydation mit Permanganat ist aber eine nicht saubere, wenig angenehme Arbeit, welche auch leicht zu Verlusten führen kann, wenn man die Operation nicht mit größter Vorsicht ausführt.¹⁾ Man hat daher bald dieses Verfahren verlassen und die Zerstörung der organischen Substanz durch Zusatz von Kupfersulfat bewirkt, wodurch das Verfahren wesentlich vereinfacht und verbessert wurde. Dann hat man das Kupfersulfat durch metallisches Quecksilber ersetzt und damit die Operation noch mehr beschleunigt, und dieses letztere

¹⁾ Daß die Oxydation mit Permanganat bedenklich ist, zeigen auch die Zahlen von Kutscher und Steudel, welche gerade bei Anwendung von Permanganat gewöhnlich noch größere Differenzen fanden, als ohne Permanganat.

Verfahren wird wohl seit etwa 1¹/₂ Jahrzehnten, wenigstens in den agrikultur-chemischen Laboratorien, ausschließlich verwendet; neuerdings hat man dann noch die Modifikation nach Gunning (Zusatz von Kaliumsulfat) geprüft und dieses Verfahren insofern als besonders brauchbar befunden, als dadurch die Aufschließungsdauer noch wesentlich abgekürzt werden kann. Die Aufschließungsdauer scheint uns in erster Linie die Ursache der Differenz bei Kutscher und Steudel zu sein; dieselben geben eine Kochdauer von 5 bis 30 Minuten an, in einigen Fällen auch 60 Minuten. Greifen wir gleich die erste Bestimmung, ohne Kupfersulfat und Permanganat, auf Seite 15 heraus, so zeigt sich hier der Einfluß der Kochdauer sehr deutlich, denn es betrug die Differenz bei 5 Minuten — 2,55, bei 10 Minuten — 1,01 und bei 20 Minuten — 0,21%; wir glauben daher, daß die zu kurze Kochdauer in erster Linie die falschen Zahlen verursacht hat. Zu dieser kurzen Kochdauer haben sich Kutscher und Steudel wohl dadurch verleiten lassen, daß die Flüssigkeit bei Verwendung von Kreatin, also einer verhältnismäßig kohlenstoffarmen Verbindung, schon nach kurzer Zeit farblos wird. Diese Farblosigkeit ist aber nicht immer ein sicheres Kriterium dafür, daß die vollständige Umwandlung des Stickstoffs in Ammoniak stattgefunden hat. Bei Substanzen, die sehr kohlenstoffreich sind, wo also eine lange Kochdauer bis zur Farblosigkeit erforderlich ist und wo durch die reduzierende Wirkung der Kohle die Ammoniakbildung noch begünstigt wird, da mag das Eintreten der Farblosigkeit ein sicheres Zeichen für die Beendigung der Reaktion sein, dies ist aber nicht der Fall bei solchen Substanzen, die infolge ihrer Konstitution und Zusammensetzung schon nach kurzer Zeit farblos werden, bei denen dann aber die Umwandlung des Stickstoffs in Ammoniak noch nicht vollständig vollzogen ist.

Kutscher und Steudel geben auch Seite 15 an, daß bei der Destillation die letzten Spuren Ammoniak nur äußerst langsam abgegeben wurden; ferner, daß bei der Destillation überriechende, alkalisch reagierende Dämpfe äußerst langsam übergingen, so daß diese selbst noch nach 1¹/₂ stündigem

Destillieren nachweisbar waren. Dieses deutet, unseres Erachtens, darauf hin, daß nicht lange genug mit Schwefelsäure aufgeschlossen war, so daß noch organische (amidartige) Verbindungen vorhanden waren und noch nicht aller Stickstoff in Ammoniak umgewandelt war. Trifft dies aber zu, so mußte natürlich zu wenig Stickstoff gefunden werden, und tatsächlich haben auch Kutscher und Steudel bei 31 der von ihnen mit Kreatin ausgeführten 35 Bestimmungen zu wenig gefunden. Auch bei den anderen Substanzen lag das Resultat in 29 von 34 Fällen unter der theoretischen Zahl.

Die Vorschrift zur Ausführung der Kjeldahlschen Stickstoffbestimmung an den Landw. Versuchsstationen lautet folgendermaßen:

1. Gewöhnliches Verfahren:

Zur Aufschließung wird eine stickstofffreie konzentrierte Schwefelsäure benutzt, in welcher pro Liter 200 g Phosphorsäureanhydrid aufgelöst sind; dem Aufschließungsgemisch wird bei jeder Bestimmung ein Tropfen (ca. 1 g) Quecksilber zugesetzt; die Aufschließungsdauer beträgt durchweg drei Stunden.

2. Modifikation nach Gunning:

1—2 g Substanz werden mit 20 ccm stickstofffreier konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz von etwas (ca. 1 g) Quecksilber bis zur Auflösung erhitzt, was in ungefähr 15 Minuten erreicht ist; darauf werden 15—18 g stickstofffreien Kaliumsulfates zugegeben und die Mischung wird weiter gekocht; nach eingetretener Farblosigkeit wird das Erhitzen noch 15 Minuten fortgesetzt. Die aufgeschlossene Masse wird nach etwa 10 Minuten langem Stehen mit Wasser verdünnt. Bei Substanzen, welche erfahrungsgemäß nicht schäumen, kann das Kaliumsulfat gleich zu Anfang zugegeben werden.

Nach dieser Vorschrift beträgt also die Kochdauer nach dem gewöhnlichen Verfahren durchweg drei Stunden, bei der Modifikation nach Gunning ist sie, je nach der Natur der Substanz, kürzer, dauert aber, alles in allem, auch etwa eine Stunde.

Nach dieser Vorschrift haben wir unsere Untersuchungen des Kreatins ausgeführt und, wie unsere Befunde zeigen, stets richtige Zahlen erhalten.

Es liegt daher gar kein Grund vor, die Brauchbarkeit der Kjeldahlschen Methode, wenn sie so ausgeführt wird, wie sie ausgeführt werden soll, für die Untersuchung des Kreatins anzuzweifeln. Es sind auch keine Vorarbeiten zur Ermittlung des Optimums, wie Kutscher und Steudel meinen, erforderlich; sobald man die Methode richtig ausführt, erhält man, wie die außerordentlich große Zahl der nach dieser Methode bisher untersuchten, sehr verschiedenartigen Substanzen wohl genügend erwiesen hat, auch unter allen Umständen richtige Resultate. Die übrigen von Kutscher und Steudel geprüften Substanzen haben wir nicht untersucht, glauben aber auf Grund der schon oben gemachten Darlegungen annehmen zu dürfen, daß es sich auch bei diesen Substanzen ebenso verhalten wird, wie beim Kreatin; bezüglich der Harnsäure hat ja auch bereits Kjeldahl die Brauchbarkeit seines Verfahrens bewiesen.
