

## Läßt sich der Stickstoffgehalt in Lysin und ähnlichen Verbindungen nach Kjeldahl bestimmen?

Von

S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen.

(Der Redaktion zugegangen am 3. April 1905.)

Vor ca. 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Jahren haben S. P. L. Sörensen und C. Pedersen eine Abhandlung veröffentlicht,<sup>1)</sup> in welcher nachgewiesen wurde, daß es, im Gegensatze zu den Angaben von Fr. Kutscher und H. Steudel,<sup>2)</sup> sehr wohl tunlich ist, den Stickstoffgehalt in Stoffen, wie Kreatin, Kreatinin, Harnsäure und Lysin nach Kjeldahl zu bestimmen. Es stellte sich jedoch heraus, wie es im Schlusse der Abhandlung erwähnt wurde, daß, während die drei erstgenannten Stoffe leicht und glatt nach Kjeldahl analysiert werden konnten, dies beim Lysin nicht zutreffend war; dasselbe gehörte zu den Substanzen, welche durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure nur schwierig den gesamten Stickstoff als Ammoniak abspalten. Bei einigen später ausgeführten Analysen eines Lysinsubstitutionsprodukts, der Lysursäure (Dibenzoyllysin), traten diese Schwierigkeiten noch stärker hervor, indem es sich als unmöglich erwies, durch eine gewöhnliche Kjeldahl'sche Bestimmung, selbst mit einer Kochdauer von 24 Stunden, mehr als 7,56% Stickstoff in reiner Lysursäure zu finden, während der berechnete Stickstoffgehalt 7,93% betrug. Die Abweichung ist gewiß viel geringer als die, welche Kutscher und Steudel<sup>3)</sup> sowohl wie früher Y. Henderson<sup>4)</sup> bei Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl in Lysinverbindungen gefunden haben, aber doch groß genug, um ernstliches Bedenken

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 513 (1903).

<sup>2)</sup> Ibid., Bd. XXXIX, S. 12 (1903).

<sup>3)</sup> i. c.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 322 (1900).

erregen zu können. Das Lysin ist ja ein sehr wichtiges Zersetzungsprodukt der meisten Proteinstoffe und der Stickstoff des Lysins ist wohl in den Proteinstoffen auf ähnliche Weise wie in der Lysursäure gebunden,  $—\overset{|}{\text{C}}—\text{NH}—\text{CO}—$ , so daß der Stickstoffbestimmung in beiden Fällen dieselben Schwierigkeiten anhaften: diese treten natürlich bei der Proteinanalyse nicht so stark hervor, weil der Lysinstickstoff hier nur einen Teil des gesamten Proteinstickstoffs ausmacht. Daß der Fehler von um so größerer Bedeutung ist, je höher der Lysingehalt der zur Analyse vorliegenden Substanz ist — es möge nun ein Proteinstoff oder Spaltungsprodukte desselben vorliegen — ist selbstverständlich; wir haben daher gemeint, daß es von großem Interesse sein würde, feststellen zu können:

1. warum bei der gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung die Lysinverbindungen nur schwierig den gesamten Stickstoff als Ammoniak abgeben, und

2. auf welche Weise diese Schwierigkeiten beseitigt werden können.

Schon Henderson äußert, allerdings nur auf einen einzigen Versuch gestützt, daß es ihm scheint, als ob eine flüchtige, stickstoffhaltige Substanz durch lange dauerndes Erhitzen des Lysins mit konzentrierter Schwefelsäure verflüchtigt werde. Kutscher und Steudel geben dieser Äußerung eine festere Form, indem sie, gestützt sowohl auf eigene Versuche, wie auf diejenigen von Zickgraf<sup>1)</sup> und Herzog<sup>2)</sup> — durch welche es nachgewiesen worden ist, daß Lysin, Histidin, Kreatin und Kreatinin durch Oxydation mit Baryumpermanganat Blausäure geben können — die Vermutung aussprechen, daß vielleicht auch durch Erhitzen der genannten Stoffe mit konzentrierter Schwefelsäure eine Entwicklung von Blausäure stattfinden könne. Diese Erklärungsweise hat auch schon in den Handbüchern Platz gefunden: so schreibt O. Cohnheim in der letzten Ausgabe (1904) seiner «Chemie der Eiweißkörper» bei der Besprechung des Lysins (S. 27): «Nach Henderson,

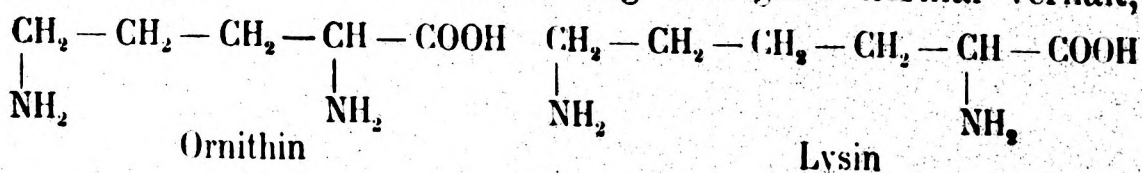
<sup>1)</sup> Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 3401 (1902).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 248 (1903).

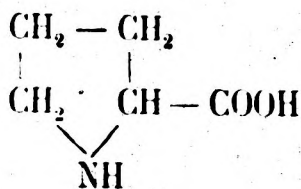
Kutscher und Steudel liefert die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl nicht immer richtige Werte, vielleicht weil ein Teil des Stickstoffs zu Blausäure wird, wie dies bei der Oxydation mit Baryumpermanganat Zickgraf beobachtet hat.

Es wird im folgenden nachgewiesen werden, daß diese Erklärungsweise nicht richtig ist; Lysinverbindungen können ohne Stickstoffverlust beliebig lange mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt werden, die Erklärung muß anderwärts gesucht werden.

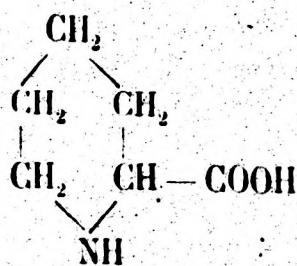
Vergleicht man die rationellen Formeln für Ornithin und Lysin, von welchen Verbindungen die erstere bei der gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung sich ganz normal verhält,



ersieht man, daß der ganze Unterschied in einer  $\text{CH}_2$ -Gruppe besteht, und es ist nicht leicht einzusehen, warum der einen Verbindung in höherem Grad als der andern eine Neigung zur Entwicklung von Blausäure oder einer anderen flüchtigen stickstoffhaltigen, nicht alkalischen Substanz beim Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure beizumessen wäre. Dagegen wäre es leicht verständlich, wenn diese Diaminoverbindungen durch Erwärmen mit starken Säuren Ammoniak abspalten könnten, indem gleichzeitig  $\alpha$ -Pyrrolidinkarbonsäure bzw.  $\alpha$ -Piperidinkarbonsäure



$\alpha$ -Pyrrolidinkarbonsäure



$\alpha$ -Piperidinkarbonsäure

gebildet würde, und daß solche ringförmige Verbindungen durch Erhitzen mit Schwefelsäure verschieden leicht zersetzt werden, scheint uns ganz natürlich. Das oben erwähnte abnormale Verhalten des Lysins bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl dürfte wohl auf diesem Wege seine Erklärung finden, denn es hat sich erwiesen, daß sowohl  $\alpha$ -Pyrrolidinkarbonsäure

selbst als auch eine Reihe Aminosäuren ( $\alpha$ -Amino- $\delta$ -oxyvaleriansäure,  $\alpha$ - $\delta$ -Diaminovaleriansäure u. dergl.), welche durch Ringschließung Pyrrolidinverbindungen geben können, leicht und glatt nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode analysiert werden können. Dagegen läßt es sich nicht oder nur sehr schwierig tun, in Pyridin, Piperidin oder in solchen Substanzen, welche durch Ringschließung Piperidinverbindungen geben können (z. B. Lysin,  $\alpha$ - $\epsilon$ -Diaminopimelinsäure u. dergl.), den Stickstoffgehalt auf diese Weise zu bestimmen.<sup>1)</sup> Bei solchen Verbindungen muß die Kjeldahlsche Methode modifiziert werden, um eine stärkere Wirkung der Schwefelsäure zu erzielen. Am einfachsten scheint es wohl, den Siedepunkt der Schwefelsäure durch Zusatz von Kaliumsulfat zu erhöhen, wie Gunning<sup>2)</sup> es vorgeschlagen hat. Es erwies sich dann wirklich auch, daß alle die oben erwähnten schwierig zersetzlichen Verbindungen sich nach der Gunningschen Modifikation analysieren ließen, es war aber bisweilen eine lange Kochdauer erforderlich, um allen Stickstoff in Ammoniak umzuwandeln. Am leichtesten und schnellsten wurde die Zersetzung nach der zuerst von Arnold und Wedemeyer<sup>3)</sup> vorgeschlagenen Kombination der von Gunning und andererseits der von Arnold eingeführten Modifikation vorgenommen, bei welcher Kombination, wie bekannt, ein Zusatz von sowohl Kaliumsulfat, wie auch von den katalytisch wirkenden Oxyden von Quecksilber und Kupfer angewendet wird.<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> In diesem Zusammenhang möge es auch erwähnt werden, daß K. Andrlík (Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen, Bd. XXVI, S. 667 [1902]) gefunden hat, daß verschiedene stickstoffhaltige Abfallsprodukte bei der Zuckerfabrikation wie auch solche Stoffe wie Betain und Coffein durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure neben Ammoniak auch schwierig zersetzliche Amine geben. Im Anschluß hieran führen Kutscher und Steudel in ihrer oben erwähnten Abhandlung die Möglichkeit an, daß die von ihnen gerügten Schwierigkeiten bei der Kjeldahlschen Stickstoffbestimmung auf ähnliche Weise erklärt werden können.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. anal. Chemie, Bd. XXVIII, S. 188 (1889).

<sup>3)</sup> Zeitschrift f. anal. Chemie, Bd. XXXI, S. 525 (1892).

<sup>4)</sup> Vergleiche die schöne Arbeit von G. Bredig und J. W. Brown, «Katalytische Oxydationen organischer Substanzen mit konzentrierter Schwefelsäure» (Zeitschrift f. physik. Chemie, Bd. XLVI, S. 502 [1903]),

Hiernach ließ es sich denn auch leicht feststellen, daß kein Stickstoff bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung weggeht, denn nachdem das Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure und ein wenig Kupferoxyd wie gewöhnlich vorgenommen worden war, konnten Kaliumsulfat, Kupferoxyd und Quecksilberoxyd zugesetzt, und darnach die Zersetzung durch erneuertes Kochen zum Ende geführt werden, — auch auf diese Weise erhielt man den gesamten Stickstoff als Ammoniak.

Es ist also ersichtlich, daß diese Verbindungen beim Kochen mit konzentrierter Schwefelsäure sich ganz so verhalten, wie es nach der Konstitution derselben zu erwarten wäre: in dieser Beziehung besteht kein Wesens-, wohl aber ein Gradunterschied zwischen diesen und allen anderen aliphatischen Aminoverbindungen, einige werden leichter als andere zersetzt, die hier in Rede stehenden gehören zu den am schwierigsten zersetzlichen: ein Verlust an Stickstoff während des Erhitzens mit Schwefelsäure findet aber nicht statt.

Es ist also bisher unter den Zersetzungsprodukten der Proteinstoffe keine Verbindung isoliert worden, die ihren Stickstoff in der Art gebunden enthält, daß derselbe durch passendes Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure nicht vollständig in Ammoniak übergeführt werden kann. Aus dem oben angeführten geht es andererseits hervor, daß sich unter den Zersetzungsprodukten solche Stoffe vorfinden können, die nur schwierig und bisweilen nur unvollständig bei der gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung zerlegt werden. Es empfiehlt sich daher, bei der Analyse von Proteinstoffen oder von Zersetzungsprodukten derselben immer zu untersuchen, ob eine Stickstoffbestimmung nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode den gleichen Stickstoffgehalt wie eine Bestimmung nach der kombinierten Gunning-Arnoldschen Modifikation gibt, und nur

---

in welcher es u. a. nachgewiesen wird, teils daß Kaliumsulfat nicht katalytisch wirkt, sondern nur höhere Temperaturen ermöglicht, teils daß ein Gemisch von Kupfer und Quecksilber katalytisch erheblich wirksamer ist, als sich aus der Summe der Einzelwirkung dieser Metalle additiv berechnen läßt.

wenn dieses der Fall ist, darf die einfachere Kjeldahlsche Bestimmungsweise verwendet werden. Bei einer solchen Kontrollbestimmung nach Gunning-Arnold ist es ratsam, mindestens 3 Stunden zu kochen (siehe Versuch Nr. 50—59, S. 444).

Arnold und Wedemeyer haben untersucht, auf welche Weise eine Reihe Verbindungen mit ringförmig gebundenem Stickstoff den verschiedenen Modifikationen der Kjeldahlschen Methode gegenüber sich verhalten, und aus ihren Versuchen ziehen sie u. a. den Schluß,<sup>1)</sup> daß eine Verbindung, welche bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung weniger Ammoniak als bei der Gunning-Arnoldschen Modifikation gibt, ringförmig gebundenen Stickstoff enthalten müsse. Hiermit übereinstimmend hat man die Tatsache, daß die Protein- stoffe und ihre Zersetzungsprodukte sich nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode analysieren lassen, immer als einen Beweis dafür angesehen, daß in diesen Stoffen kein ringförmig gebundener Stickstoff vorhanden sein kann. Diese Ansicht wird durch die in dieser Abhandlung mitgeteilten Resultate nicht erschüttert, dieselben deuten aber darauf hin, daß dem oben zitierten Satze von Arnold und Wedemeyer, wenigstens betreffs der Protein- stoffe und ihrer Zersetzungsprodukte, die folgende, ein wenig erweiterte, Form gegeben werden muß: Wenn ein Protein- stoff oder ein Zersetzungsprodukt desselben bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung weniger Ammoniak als bei einer Gunning-Arnoldschen Bestimmung gibt, enthält er entweder schwierig zersetzliche Stoffe mit ringförmig gebundenem Stickstoff (z. B. Pyridin- oder Piperidinverbindungen) oder Verbindungen, die durch Ringschließung solche Stoffe bilden können.

<sup>1)</sup> l. c. S. 530.

Die im folgenden tabellarisch zusammengestellten Stickstoffbestimmungen wurden auf verschiedene Weise ausgeführt:

a) Bestimmungen nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode<sup>1)</sup> (mit Kj. bezeichnet).

b) Bestimmungen nach der Gunningschen Modifikation (mit G. bezeichnet): bei jedem Versuch wurden 20 g Kaliumsulfat und 20 ccm konz. Schwefelsäure verwendet.

c) Bestimmungen nach der Gunning-Arnoldschen Modifikation (mit G.-A. bezeichnet): die Substanz wurde mit einem Gemisch von 1 g Quecksilberoxyd, 0,5 g Kupferoxyd, 5 g Kaliumsulfat und 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure in  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde erwärmt, wonach die Lösung grün erschien; danach wurden außerdem 15 g Kaliumsulfat zugesetzt, und das Erhitzen weitergeführt. Beim Abdestillieren des Ammoniaks wurde sowohl hier wie bei den unter d) erwähnten Bestimmungen eine Mischung von Natriumhydroxyd und Natriumsulfhydroxyd verwendet.

d) Bestimmungen (mit Kj. — G.-A. bezeichnet), bei welchen die Substanz zuerst längere Zeit mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure und ein wenig Kupferoxyd wie bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung gekocht wurde; danach wurden 1 g Quecksilberoxyd, 0,5 g Kupferoxyd und 20 g Kaliumsulfat zugesetzt, und das Erhitzen wurde weitergeführt, wie bei einer Gunning-Arnoldschen Bestimmung.

Die Kochdauer ist bei jedem einzelnen Versuch angegeben. Eine Oxydation mit Kaliumpermanganat wurde nur bei den gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmungen benutzt.

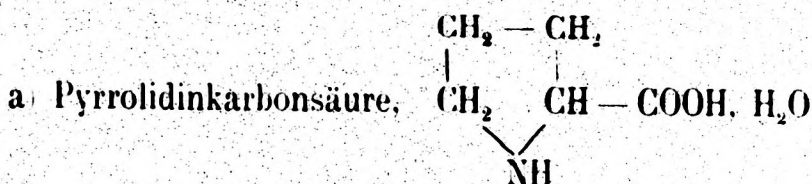
Die Versuche wurden mit folgenden Stoffen ausgeführt:

A. Verbindungen, welche einen fünfgliedrigen Ring, aus vier Kohlenstoffatomen und einem Stickstoffatom bestehend, entweder enthalten oder durch Ringschließung bilden können.

Alle solche Verbindungen ließen sich nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode analysieren.

---

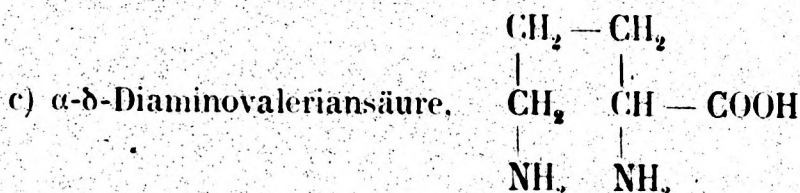
<sup>1)</sup> Ausführlich beschrieben in dieser Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 517 (1903).



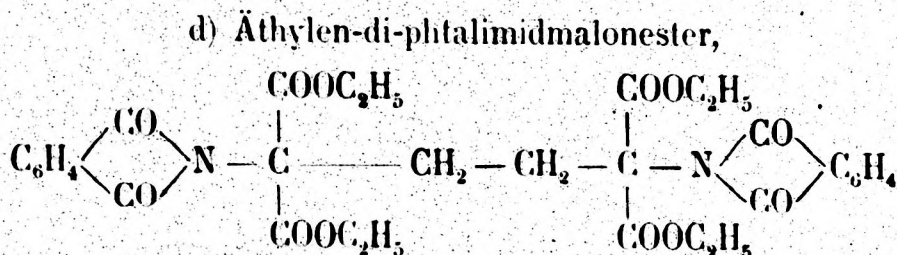
Einige Analysen, teils von der Säure selbst (gefunden 10,38% Stickstoff, berechnet 10,55%), teils von dem Kupfersalz, welches 2 Mol. Kristallwasser für jedes Atom Kupfer enthält (gefunden 8,51—8,56% Stickstoff, berechnet 8,57%), sind in den Comptes-rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 156, 157, 175 und 181 (1905) veröffentlicht worden.



Eine Reihe Analysen, teils von der Säure selbst (gefunden 10,48—10,57% Stickstoff, berechnet 10,55%), teils von dem Kupfersalz (gefunden 8,53—8,58% Stickstoff, berechnet 8,57%) sind in den Comptes rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 161 und 163 (1905) veröffentlicht.



Analysen von einer Reihe Substitutionsprodukten dieser Säure (z. B.  $\alpha$ - $\delta$ -Dibenzoyl-diaminovaleriansäure, Ornithursäure: gefunden 8,14—8,20% Stickstoff, berechnet 8,24%) sind in den Comptes rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 32—57 (1902) veröffentlicht.



Die Verbindung wurde durch passende Behandlung von Natrium-phthalimidmalonester mit Äthylenbromid dargestellt.<sup>1)</sup>

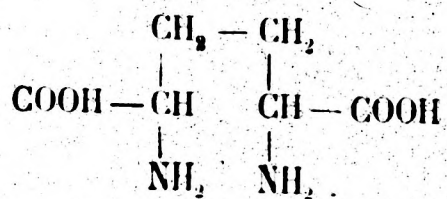
<sup>1)</sup> Comptes-rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 147 (1905) (Vorläufige Mitteilung; siehe auch Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 451 (1905)).



Stickstoffbestimmungen (berechnet 4,41% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfatlösung (n/14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung; die Kochdauer
1	0,4195	18,26	4,35	Kj. Rein grün nach 7stündigem Kochen; im ganzen wurde 7 Stunden erwärmt
2	0,4055	17,66	4,36	Kj. Wie Nr. 1, jedoch wurde im ganzen 9 Stunden erwärmt
3	0,4554	19,91	4,37	Kj. Wie Nr. 1, jedoch wurde im ganzen 11 Stunden erwärmt
4	0,4361	19,06	4,37	Kj. Wie Nr. 1, jedoch wurde im ganzen 20 Stunden erwärmt
5	0,4365	19,06	4,37	G.-A. Rein grün nach Verlauf einer halben Stunde; danach wurde noch 2 Stunden erwärmt.

e)  $\alpha$ - $\delta$ -Diaminoadipinsäure,



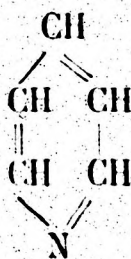
Stickstoffbestimmungen (berechnet 15,94% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfatlösung (n 14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung; die Kochdauer
6	0,0994	15,65	15,74	Kj. Rein grün nach 1stündigem Kochen; im ganzen wurde 3 Stunden erwärmt
7	0,1293	20,40	15,78	Kj. Wie Nr. 6, jedoch wurde im ganzen 10 Stunden erwärmt
8	0,1192	18,80	15,77	Kj. Wie Nr. 6, jedoch wurde im ganzen 22 Stunden erwärmt
9	0,1753	27,72	15,81	G.-A. Im ganzen 3 Stunden erwärmt

Diese Säure wurde aus dem oben erwähnten Äthylen-diphthalimidmalonester durch Verseifung mit Baryumhydroxyd und nachfolgende Eindampfung mit Salzsäure dargestellt.<sup>1)</sup>

B. Verbindungen, welche einen sechsgliedrigen Ring, aus fünf Kohlenstoffatomen und einem Stickstoffatom bestehend, entweder enthalten oder durch Ringschließung bilden können.

a) Pyridin,



Das für die Analysen verwendete Pyridin war nicht ganz rein, denn eine Bestimmung nach Dumas, welche hier wie gewöhnlich wohl ein ein wenig zu hohes Resultat gegeben hat, ergab nur einen Gehalt an 17,63% Stickstoff (berechnet 17,75%). Hiermit übereinstimmend<sup>2)</sup> wurden durch die Gunning-Arnoldsche Modifikation 17,36% Stickstoff gefunden, während der wahre Stickstoffgehalt wahrscheinlich ca. 17,5% gewesen ist.

20 ccm konzentrierter Schwefelsäure wurden in einen justierten 100-ccm-Kolben gebracht, wonach derselbe mit Tarekolben gewogen wurde. Hiernach wurden ca. 1,5 ccm Pyridin zugesetzt und der Kolben wieder gewogen: abgewogene Pyridinmenge 1,4027 g. Nach Stehenlassen bis zum nächsten Tage wurde Wasser bis zur Marke zugesetzt. Für jede Analyse wurden 10 ccm dieser Lösung, 0,1403 g Pyridin entsprechend, verwendet. Nach Zusatz von 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure wurde das Wasser im Trockenkasten bei 120° verdampft, wonach die Bestimmung wie gewöhnlich ausgeführt wurde. Durch Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure wurde eine Verkohlung nicht beobachtet.

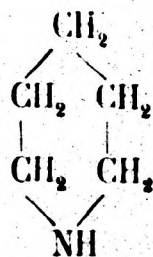
<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Vergl. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 525 oben (1903).

## Stickstoffbestimmungen.

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfatlösung (n. 14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung; die Kochdauer
10	0,1403	22,95	16,36	Kj. Im ganzen 2 $\frac{1}{4}$ Stunden erwärmt
11	0,1403	22,75	16,22	Kj. Im ganzen 4 $\frac{1}{4}$ Stunden erwärmt
12	0,1403	23,05	16,43	Kj. Im ganzen 6 $\frac{1}{4}$ Stunden erwärmt
13	0,1403	22,95	16,36	Kj. Im ganzen 22 Stunden erwärmt
14	0,1403	24,35	17,36	G.-A. Im ganzen 2 $\frac{1}{4}$ Stunden erwärmt

b) Piperidin



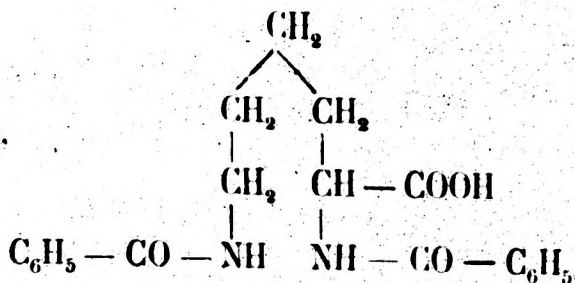
Auf ähnliche Weise, wie bei Pyridin erwähnt, wurden zwei Lösungen von Piperidin in verdünnter Schwefelsäure dargestellt: in 10 ccm enthielt die erste 0,1721 g, die zweite 0,1518 g Piperidin. Bei den Versuchen Nr. 15, 16 und 17 wurden 10 ccm, bei allen anderen Versuchen 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure verwendet. Auch hier wurde keine Verkohlung beobachtet.

## Stickstoffbestimmungen (berechnet 16,49% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfat- lösung (n/14,04) ccm	Stickstoff- menge %	Die Art der Bestimmung: die Kochdauer
15	0,1721	24,60	14,29	Kj. Im ganzen 3 $\frac{1}{2}$ Stunden erwärmt
16	0,1721	24,90	14,47	Kj. Im ganzen 10 Stunden erwärmt
17	0,1721	25,30	14,70	Kj. Im ganzen 24 Stunden erwärmt
18	0,1721	25,40	14,76	Kj. Im ganzen 36 Stunden erwärmt
19	0,1721	18,60	10,81	Kj. Im ganzen 36 Stunden erwärmt; keine Oxydation mit Kalium- permanganat
20	0,1721	28,15	16,36	G.-A. Im ganzen 2 $\frac{1}{2}$ Stunden erwärmt
21	0,1721	28,15	16,36	G.-A. Im ganzen 2 $\frac{1}{2}$ Stunden erwärmt
22	0,1518	22,95	15,12	Kj. Im ganzen 12 Stunden erwärmt
23	0,1518	24,60	16,21	G. Im ganzen 12 Stunden erwärmt
24	0,1518	24,80	16,34	G. Im ganzen 18 Stunden erwärmt
25	0,1518	24,90	16,40	G.-A. Im ganzen 2 $\frac{1}{2}$ Stunden erwärmt
26	0,1518	24,90	16,40	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 16 Stunden und danach als G.-A. in 2 Stunden
27	0,1518	24,80	16,34	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 16 Stunden und danach als G.-A. in 2 Stunden

Schon in der voran erwähnten Abhandlung haben S. P. L. Sørensen und C. Pedersen<sup>1)</sup> darauf aufmerksam gemacht, daß eine Oxydation durch Kaliumpermanganat bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung notwendig sein kann, selbst wenn die Flüssigkeit eine rein grüne Farbe angenommen hat, weil trotzdem die Zersetzung noch nicht zu Ende geführt ist. Die Versuche Nr. 15—19 liefern hierfür ein gutes Beispiel. Die Lösung ist während der ganzen Kochzeit rein grün geblieben, jedoch ist selbst nach 36stündigem Kochen (Nr. 18 und 19) die Zersetzung bei weitem nicht vollendet. Bei der Oxydation durch Kaliumpermanganat wurden nämlich sowohl bei dem Versuch Nr. 18 wie bei den Versuchen Nr. 15—17 reichliche Mengen Permanganat verbraucht, bevor aller organische Stoff oxydiert worden war, und der schmutzig dunkelgrüne Niederschlag<sup>2)</sup> sich abzusecheiden begann. Wenn Oxydation mit Permanganat benutzt wurde, gelang es bei einer gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung, den bei weitem größten Teil des Stickstoffs als Ammoniak zu erhalten, wie es aus den Versuchen Nr. 15—18 hervorgeht. Bei Versuch Nr. 19, wo dagegen keine Oxydation mit Permanganat stattgefunden hatte, waren kaum  $\frac{2}{3}$  der ganzen anwesenden Stickstoffmenge in Ammoniak übergeführt worden; übrigens zeigte eine ganz ungewöhnlich starke «Nachblauung» bei der jodometrischen Säuretitrierung des letzterwähnten Versuches, daß in das Destillat andere Stoffe als Ammoniak übergegangen waren.

c) Lysursäure.



Die Lysursäure wurde aus synthetischem, racemischem Lysin<sup>3)</sup> durch Benzoylierung in schwach alkalischer Lösung und nachfolgendes Ansäuern mit Salzsäure dargestellt. Die freie Benzoesäure wurde durch Petroläther extrahiert, und die rückständige Lysursäure aus Aceton umgelöst. Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab einen Gehalt an 7,98% Stickstoff.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX. S. 516 (1903).

<sup>2)</sup> l. c. S. 518, unten.

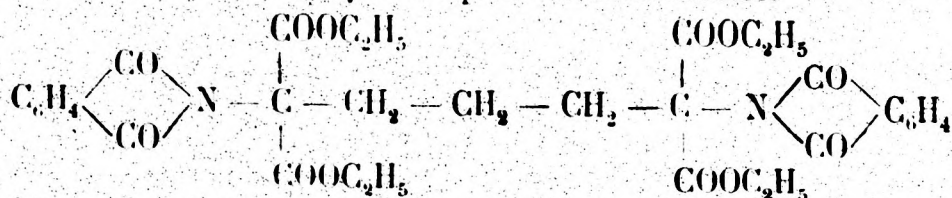
<sup>3)</sup> Comptes rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 60 (1902).

## Stickstoffbestimmungen (berechnet 7,93% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfatlösung (n/14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung: die Kochdauer
28	0,1942	13,97	7,19	Kj. Rein grün nach 5stündigem Kochen; im ganzen wurde 5 Stunden erwärmt
29	0,2443	18,21	7,45	Kj. Rein grün nach 6stündigem Kochen; im ganzen wurde 8 Stunden erwärmt
30	0,2338	17,42	7,45	Kj. Wie Nr. 29, jedoch wurde im ganzen 10 Stunden erwärmt
31	0,2160	16,32	7,56	Kj. Wie Nr. 29, jedoch wurde im ganzen 24 Stunden gekocht
32	0,2713	19,80	7,30	Kj. Rein grün nach 7stündigem Kochen; im ganzen 36 Stund. erwärmt
33	0,3178	24,85	7,82	G.-A. Im ganzen 2½ Stunden erwärmt
34	0,1844	14,45	7,84	G.-A. Wie Nr. 33
35	0,2273	17,85	7,85	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 34 Stunden und danach als G.-A. in 2 Stunden

Bei den Versuchen Nr. 28—31 sind 10 ccm, bei den anderen 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure verwendet worden.

d) Trimethylen-di-phthalimidmalonester.



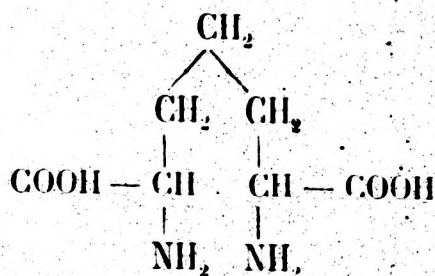
Die Verbindung wurde durch passende Behandlung des Natrium-phthalimidmalonesters mit Trimethylenbromid dargestellt.<sup>1)</sup> Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab einen Gehalt an 4,43% Stickstoff.

<sup>1)</sup> Comptes-rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 147 (1905) (Vorläufige Mitteilung); siehe auch Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 451 (1905).

Stickstoffbestimmungen (berechnet 4,32% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfatlösung (n 11,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung; die Kochdauer
36	0,3982	16,22	4,07	Kj. Rein grün nach 7stündigem Kochen; im ganzen wurde 7 Stunden erwärmt
37	0,4045	16,42	4,06	Kj. Wie Nr. 36, jedoch wurde im ganzen 9 Stunden erwärmt
38	0,3456	13,88	4,02	Kj. Wie Nr. 36, jedoch wurde im ganzen 10 Stunden erwärmt
39	0,4336	17,56	4,05	Kj. Wie Nr. 36, jedoch wurde im ganzen 12½ Stunden erwärmt
40	0,4156	16,62	4,00	Kj. Wie Nr. 36, jedoch wurde im ganzen 24 Stunden erwärmt
41	0,4807	20,41	4,25	G.-A. Im ganzen 2½ Stunden erwärmt

e) α-ε-Diaminopimelinsäure.



Diese Säure wurde aus dem oben erwähnten Trimethylen-di-phthalimidmalonester durch Verseifung mit Baryumhydroxyd und nachfolgendem Eindampfen mit Salzsäure dargestellt.<sup>1)</sup> Bei einigen der unten tabellarisch zusammengestellten Versuchen sind abgewogene Mengen der Säure verwendet worden, bei andern kam eine, wie bei Pyridin erwähnt (siehe S. 438), dargestellte, schwach schwefelsaure Lösung, die in 10 ccm 0,1473 g der Säure enthielt, zur Verwendung. Es wurde keine Verkohlung durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure beobachtet. Bei den gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmungen (Nr. 42—45) wurden 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure angewendet, und es wurden reichliche Mengen Kaliumpermanganat verbraucht, bevor der schmutzig dunkelgrüne Niederschlag er-

<sup>1)</sup> l. c.

schien. Bei den anderen Versuchen kamen 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure zur Verwendung.

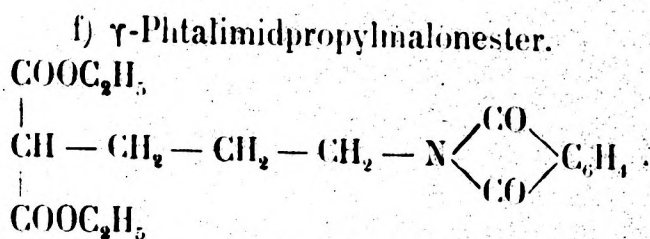
Stickstoffbestimmungen (berechnet 14,76% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfat- lösung (0,14,04) ccm	Stickstoff- menge %	Die Art der Bestimmung: die Kochdauer
42	0,1511	20,80	13,77	Kj. Im ganzen 3 Stunden erwärmt
43	0,1473	19,85	13,48	Kj. Im ganzen 6 Stunden erwärmt
44	0,1473	20,15	13,68	Kj. Im ganzen 12 Stunden erwärmt
45	0,1471	20,00	13,60	Kj. Im ganzen 18 Stunden erwärmt
46	0,1473	21,50	14,60	G. Im ganzen 6 Stunden erwärmt
47	0,1473	21,45	14,56	G. Im ganzen 12 Stunden erwärmt
48	0,1338	19,45	14,54	G. Im ganzen 18 Stunden erwärmt
49	0,1473	21,55	14,63	G. Im ganzen 24 Stunden erwärmt
50	0,1404	20,45	14,57	G.-A. Im ganzen 2½ Stunden erwärmt
51	0,1473	21,45	14,56	G.-A. Wie Nr. 50
52	0,1247	18,20	14,59	G.-A. Im ganzen 3 Stunden erwärmt
53	0,1473	21,60	14,66	G.-A. Im ganzen 4 Stunden erwärmt
54	0,1473	21,45	14,56	G.-A. Im ganzen 8 Stunden erwärmt
55	0,1382	19,55	14,15	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 16 Stunden und danach als G.-A. in 2 Stunden
56	0,1319	19,30	14,63	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 16 Stunden und danach als G.-A. in 4 Stunden
57	0,1473	20,75	14,09	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 18 Stunden und danach als G.-A. in 2 Stunden
58	0,1473	21,55	14,63	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 18 Stunden und danach als G.-A. in 4 Stunden
59	0,1473	21,45	14,56	Kj. — G.-A. Gekocht als Kj. in 18 Stunden und danach als G.-A. in 8 Stunden

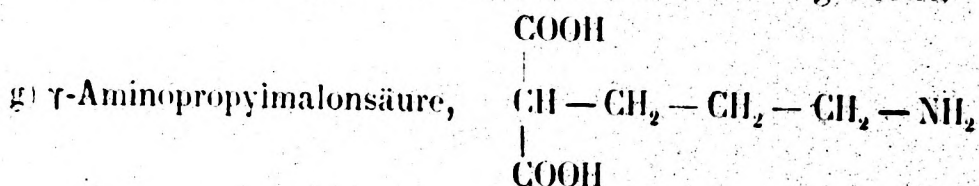


Es hat sich also erwiesen, daß die drei letzt-erwähnten Stoffe (Lysursäure, Trimethylen-di-phthalimidmalonester und  $\alpha$ - $\epsilon$ -Diaminopimelinsäure), welche durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure unter Ammoniakabspaltung zur Bildung eines Piperidinringes Anlaß geben können, sich wie das Piperidin selbst verhalten; sie geben bei der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode weniger Ammoniak als bei der Gunningschen oder der Gunning-Arnoldschen Modifikation.

Wird in dem Piperidinring eine  $\text{CH}_2$ -Gruppe gegen eine CO-Gruppe umgetauscht, wird der Ring leichter zersetzlich. So läßt sich nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode das Piperidon selbst analysieren, und dasselbe gilt der  $\gamma$ -Aminopropylmalonsäure, die durch einfache Destillation unter Verlust von Kohlensäure und Wasser Piperidon bilden kann. Um so merkwürdiger scheint es uns, daß der als Ausgangsmaterial für die Darstellung der eben erwähnten  $\gamma$ -Aminopropylmalonsäure angewandte, zuerst von S. Gabriel<sup>1)</sup> dargestellte  $\gamma$ -Phthalimidpropylmalonester bei der gewöhnlichen Kjeldahlschen Bestimmung selbst nach langdauerndem Kochen einen ein wenig zu niedrigen Stickstoffgehalt erweist.



Die Verbindung wurde nach Gabriel dargestellt.



Die Säure wurde aus dem  $\gamma$ -Phthalimidpropylmalonester durch Zersetzung mit Baryumhydroxyd und nachfolgende passende Behandlung mit Salzsäure dargestellt.

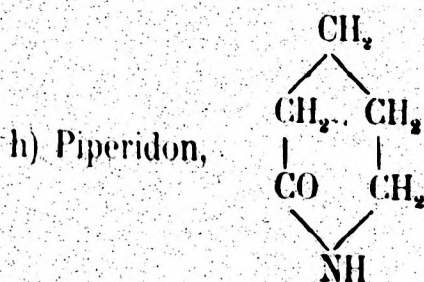
<sup>1)</sup> Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. XXIII, S. 1767 (1890) und Bd. XXIV, S. 1364 (1891).

Stickstoffbestimmungen in  $\gamma$ -Phtalimidpropylmalonester  
(berechnet 4,04% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entspr. Thiosulfatlösung (n/14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung: die Kochdauer
60	0,3711	13,14	3,54	Kj. Im ganzen 5 Stunden erwärmt
61	0,2329	8,75	3,76	Kj. Im ganzen 16 Stunden erwärmt
62	0,2770	10,85	3,92	Kj. Im ganzen 24 Stunden erwärmt
63	0,7451	30,49	4,09	G.-A. Im ganzen 2 Stunden erwärmt

Stickstoffbestimmungen in  $\gamma$ -Aminopropylmalonsäure  
(berechnet 8,71% Stickstoff).

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entspr. Thiosulfatlösung (n/14,04) ccm	Stickstoffmenge %	Die Art der Bestimmung: die Kochdauer
64	0,1694	14,60	8,62	Kj. Im ganzen 3 Stunden erwärmt
65	0,1473	12,80	8,69	Kj. Im ganzen 6 Stunden erwärmt
66	0,1488	12,90	8,67	Kj. Im ganzen 10 Stunden erwärmt
67	0,2057	17,90	8,70	Kj. Im ganzen 21 Stunden erwärmt
68	0,1714	14,95	8,72	G.-A. Im ganzen 2½ Stunden erwärmt



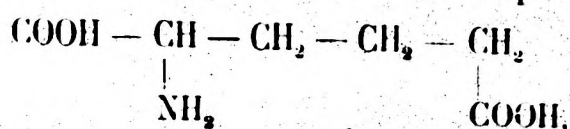
Die Verbindung wurde aus der oben erwähnten  $\gamma$ -Aminopropylmalonsäure durch Erhitzen in einem Fraktionskolben im

Ölbad dargestellt. Hierdurch entweichen zuerst Kohlensäure und Wasser, wonach bei 250—257° ein gelbes Öl überdestillierte; dasselbe bestand wahrscheinlich aus Piperidon mit ein wenig Wasser gemischt, denn es war bei gewöhnlicher Temperatur nur zum Teil, bei 0° dagegen vollständig kristallisiert. Hiermit übereinstimmend wurde der Stickstoffgehalt ein wenig niedriger als der berechnete (14,17%) gefunden, und — was uns bei dieser Gelegenheit allein interessiert hat — die gewöhnliche Kjeldahlsche und die Gunning-Arnoldsche Methode haben dasselbe Resultat ergeben.

### Stickstoffbestimmungen.

Nr. des Versuches	Abgewogene Stoffmenge g	Ammoniakmenge entsprech. Thiosulfat- lösung (0/14,04) ccm	Stickstoffmenge „	Die Art der Bestimmung; die Kochdauer
69	0.1611	22,00	13,66	Kj. Im ganzen 6 Stunden erwärmt
70	0.1611	22,10	13,72	Kj. Im ganzen 10 Stunden erwärmt
71	0.1611	22,20	13,78	Kj. Im ganzen 17 Stunden erwärmt
72	0.1611	22,20	13,78	G.-A. Im ganzen 2 1/2 Stunden erwärmt

Schließlich möge in diesem Zusammenhang darauf aufmerksam gemacht werden, daß  $\alpha$ -Aminoadipinsäure



aus welcher durch Wasserabspaltung eine Bildung von Piperidonkarbonsäure leicht denkbar ist, nach der gewöhnlichen Kjeldahlschen Methode sich analysieren läßt.<sup>1)</sup>

Carlsberg Laboratorium, Valby, Kopenhagen,  
März 1905.

<sup>1)</sup> Comptes-rendus du Lab. de Carlsberg, Bd. VI, S. 20—32 (1902).