

## Die Formoltitrierung zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs.

Von

Dr. L. de Jager zu Stiens (Niederland).

(Der Redaktion zugegangen am 26. April 1910.)

Die Kjeldahl-Methode zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs hat einen Übelstand, welcher die Methode weniger geeignet macht für den, der nicht über die Hilfsmittel eines Laboratoriums verfügt. Ich meine das Abdestillieren des gebildeten Ammoniaks. Wo alle Hilfsmittel zur Verfügung stehen, bietet die Destillation keine Schwierigkeiten, aber immerhin bleibt es eine langwierige Operation.

Es schien mir die Formoltitrierung dazu geeignet, die Ammoniakbestimmung im Reaktionsprodukt abzukürzen und somit die Methode einfacher zu gestalten.

Mag man Kupfersulfat oder Quecksilber bei der Schwefelsäureeinwirkung benutzen, das Reaktionsprodukt ist ohne weiteres zur Formoltitrierung nicht geeignet. Die von mir angewandte Methode ist eine Modifikation der Methode, wie sie von Huppert-Neubauer angegeben wird: 5 ccm Harn werden mit 0,500 g  $\text{CuSO}_4$ , 3,0 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  und 5 ccm Schwefelsäure im Kjeldahl-Kolben erhitzt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Um diese Lösung zur Formoltitrierung geeignet zu machen, muß das Kupfer entfernt werden. Ferner erschien es mir empfehlenswert, die Phosphate zu entfernen. Man konnte dann in der von Phosphorsäure und Kupfer befreiten Lösung nach der Methode von Sörensen den Ammoniakgehalt bestimmen. Die Lösung soll für Lackmuspapier neutralisiert und nach Formalinzusatz unter Benutzung von Phenolphthalein als Indikator aufs neue neutralisiert werden. Die Entfernung der Phosphorsäure aus dem Harn mittels Baryumchlorid und Barytwasser ist nicht statthaft, weil dadurch u. a. auch die Harnsäure niedergeschlagen wird. Es gelang mir, dieses Ziel durch Eisenchlorid zu erreichen. Ich versetze 40 ccm Harn mit 5 g Natriumacetat, füge soviel einer 10%igen Eisenchloridlösung hinzu, bis die

Farbe rotbraun erscheint, und fülle bis zu 50 ccm an. Die Mischung wird in ein Erlenmeyersches Kölbchen gegossen, dasselbe genau gewogen und zum Kochen erhitzt, wobei die Phosphorsäure als Eisenphosphat gefällt wird, während das überschüssige Eisen als basisch essigsaures Salz niedergeschlagen wird. Das Kölbchen wird auf die Wage gestellt und soviel Wasser hinzugefügt, bis das anfängliche Gewicht wieder erreicht ist, noch einmal auf die Flamme gestellt und heiß filtriert. Von dem Filtrat wird nach dem Abkühlen 10 ccm entsprechend 8 ccm Harn abgemessen und im Kjeldahl-Kolben mit 0,5 g  $\text{CuSO}_4$ , 3 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  und 8 ccm Schwefelsäure erhitzt.

Das Kupfer kann auf verschiedene Weise entfernt werden, als Hydrat, Cyanür oder Sulfid.

Fällung des Kupfers als Hydrat durch überschüssige Natronlauge ergab einen Verlust an Ammoniak. Durch Ferricyankalium wird das Kupfer nicht vollständig ausgefällt. Ein völlig befriedigendes Resultat erhielt ich durch die Fällung als Kupfersulfid. Zu dem in Wasser gelösten Reaktionsprodukt setze ich langsam 10 ccm einer 10%igen Lösung von Natriumsulfid und erhitze, um den überschüssigen Schwefelwasserstoff zu entfernen. Wenn die Flamme nicht zu groß ist, setzt sich das Kupfersulfid an den Wandungen des Kolbens an, und es wird die Flüssigkeit ganz klar. Wenn dieses erreicht ist, ist der Schwefelwasserstoff ausgetrieben. Das Filtrat bleibt nach Zusatz von Kupfersulfat klar.

Der Inhalt des Kjeldahl-Kolbens wird in ein Meßkölbchen gebracht und das Spülwasser nachgefüllt. Nachdem bis auf Zimmertemperatur abgekühlt ist, wird auf 100 ccm angefüllt und 50 ccm von der Lösung, entsprechend 4 ccm ursprünglichen Harns, abfiltriert.

Man hat jetzt eine Lösung von Ammoniumsulfat, welche außer geringen Mengen anderer anorganischer Salze der Hauptsache nach nur Sulfate und Schwefelsäure enthält. Letztere wird mit starker Natronlauge neutralisiert. Man konnte nun nach Neutralisierung für Lackmuspapier mit der Formolmethode den Ammoniakgehalt bestimmen.

Kontrollversuche ergaben nun ein unerwartetes Resultat.

Eine Lösung von Ammoniak wurde unter Anwendung von Alizarin als Indikator mit Salzsäure neutralisiert. 10 ccm entsprechen 24 ccm Zehntelnormalsalzsäure. Mit Lackmuspapier wird dieselbe Menge Säure festgestellt. Eine neue Probe wird nach Zusatz von 24 ccm Zehntelnormalsalzsäure mit Phenolphthalein versetzt. Zur Rotfärbung sind 0,6 ccm Zehntelnatronlauge erforderlich. Nach Zugabe von 4 ccm neutralisierten Formalins sind im ganzen 24,2 ccm Zehntelnatronlauge erforderlich.

Es werden jetzt 10 ccm der Ammoniaklösung mit 0,5 g  $\text{CuSO}_4$ , 3,0 ccm  $\text{K}_2\text{SO}_4$  und 5 ccm Schwefelsäure versetzt, und nachdem alles gelöst ist, 10 ccm einer 10%igen Natriumsulfidlösung hinzugesetzt, gekocht, auf 100 ccm angefüllt und 50 ccm des Filtrats auf Ammoniak untersucht. Durch Zusatz von Natronlauge wird für Lackmuspapier neutralisiert und Phenolphthalein hinzugesetzt. Bis zur Rotfärbung sind noch 2,3 ccm Zehntelnatronlauge nötig. Nach Zugabe von Formalin tritt die rote Farbe auf, nachdem 14,3 ccm Zehntelnatronlauge hinzugesetzt sind, anstatt, wie zu erwarten war, 12 ccm. Wenn somit vor dem Zusatz von Formalin der Neutralisationspunkt nicht mit Lackmuspapier, sondern mit Phenolphthalein bestimmt war, wurde der genaue Wert:  $14,3 - 2,3 = 12,0$  ccm gefunden.

Ich habe diesen Versuch mehrmals mit Ammoniak und Salmiaklösungen wiederholt und immer genaue Werte gefunden, wenn Phenolphthalein als Indikator benutzt wurde, während die vorherige Neutralisierung mit Lackmuspapier zu hohe Werte ergab. Einige Zahlen mögen genügen.

Vorhandenes Ammoniak	Gefunden wurden in Kubikzentimeter $n_{10}$ -NaOH	
	mit Lackmus	mit Phenolphthalein
20,9	25,3	21,1
17,7	18,0	17,3
19,0	19,8	19,0
19,0	—	19,5
19,0	—	18,5
18,0	—	17,8
13,5	—	13,5

Die Lackmuswerte sind sehr unregelmäßig und es gelang mir nicht, mit Lackmuspapier den Neutralisationspunkt genau zu bestimmen. Doch war die Flüssigkeit immer stark alkalisch für Lackmus, wenn dieselbe für Phenolphthalein neutral war. Es war also wahrscheinlich, daß durch die konzentrierte Sulfatlösung der Neutralisationspunkt verschoben wird. Der Versuch bestätigte dieses. Es ist bekannt, daß zu einer Lösung von Salmiak Alkali hinzugesetzt werden muß, bevor Phenolphthalein rotgefärbt wird. Eine Lösung von 50 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}$  wurde mit 5 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  versetzt. Es genügte jetzt ein Tropfen Zehntelnormallauge, um Rotfärbung hervorzurufen. Nach Zugabe von Kaliumsulfat zu einer Salmiaklösung kann der Ammoniakgehalt genau bestimmt werden, wenn sowohl vor als nach dem Formalinzusatz Phenolphthalein als Indikator benutzt wird und bis zur Rosafärbung titriert wird.

Der Einfluß des Sulfats ist leicht verständlich. Ammoniumchlorid ist für Phenolphthaleinsauer, weil die H-Ionenkonzentration zu hoch ist. Dasselbe ist auch der Fall, wenn auch in geringerem Maße, wenn das Ammoniak durch Formol gebunden ist. Durch Zusatz einer größeren Menge eines Neutralsalzes wird die Ionisation verringert und es wird die Flüssigkeit tatsächlich neutral, so daß eine Spur eines Alkalis genügt, die OH-Ionenkonzentration so weit zu erhöhen, daß die Zwischenfarbe des Phenolphthaleins zum Vorschein gerufen wird.

Dasselbe fand Folin<sup>1)</sup> nach Zusatz von Kaliumoxalat. Auch dadurch wurde die saure Reaktion von Ammoniakverbindungen zu einer neutralen.

Die Bestimmung gestaltet sich nun überaus einfach. Die 4 ccm des ursprünglichen Harns entsprechenden 50 ccm des von Kupfer befreiten Filtrats werden mit starker Natronlauge unter Zusatz von 3 Tropfen einer Phenolphthaleinlösung bis zur Rotfärbung neutralisiert und soviel starke Salzsäure hinzugesetzt, bis die rote Farbe eben verschwunden ist. Mit Zehntelnormalnatronlauge wird jetzt bis zur Rosafärbung titriert, 6 ccm neutralisiertes Formalin zugesetzt und wieder bis zur Rosafärbung Lauge hinzugesetzt.

<sup>1)</sup> American Journal of Physiology, Bd. IX, Nr. 5.

Käuflicher Harnstoff, auf diese Weise behandelt, gab folgendes Resultat:

Vorhandener Harnstoff mg	Gefunden	
	in mg	in %
147,0	140,4	93,5
117,6	118,2	100,5
73,5	69,0	93,9
75,0	72,9	97,2

Mit käuflichem Glykokoll erhielt ich folgende Werte. 150 mg erheischen nach Formalinzusatz 18,8 ccm Zehntelnormalnatronlauge. In drei Bestimmungen fand ich 18,8, 18,8 und 18,85 ccm Zehntelnormalnatronlauge entsprechend je 141,0, 141,0 und 141,375 mg Glykokoll. Wenn das Glykokoll ganz rein gewesen wäre, würden 94 resp. 94,4% gefunden worden sein.

Ich verfüge leider nicht über Kontrollbestimmungen mit Harn, weil das Abdestillieren des Ammoniaks mir nicht möglich ist. Nur eine Bestimmung kann ich mitteilen, bei der ich das Ammoniak anstatt durch Destillation im Schloesing-Apparat bestimmt habe. Ich fand nach 10tägigem Stehen in 5 ccm Harn eine Ammoniakmenge entsprechend 38 ccm Zehntelnormallauge. Nach der oben beschriebenen Methode fand ich in 4 ccm Harn mit Lackmus 32,8 ccm, mit Phenolphthalein 31,2 ccm Zehntelnormallauge. Diese Zahlen ergeben für 5 ccm Harn je 41,0 und 39,0 ccm Zehntelnormallauge. Der Stickstoffgehalt würde somit nach der Schloesingschen Methode 1,064%, nach meiner Methode 1,092%, wenn Lackmuspapier benutzt wurde, 1,148% betragen. Zwar sind noch mehrere Kontrollbestimmungen erwünscht, doch scheint mir die Kontrolle mit Ammoniaklösungen von bekanntem Gehalte genug beweisend zu sein, weil diese Lösungen bis auf geringe Mengen anorganischer Verbindungen, welche keinen Einfluß auszuüben imstande sind, genau mit der aus Harn dargestellten übereinstimmen.

Sowohl bei der Schloesingschen Methode als bei dem Abdestillieren des Ammoniaks hat man immer mit zwei Versuchsfehlern zu rechnen, nämlich daß nicht alles Ammoniak

ausgetrieben und nicht alles ausgetriebene Ammoniak aufgefangen worden ist. Bei der von mir angegebenen Methode wird das Ammoniak in der Lösung, in welcher dasselbe anwesend ist, bestimmt.

Ein Verlust an Ammoniak ist auszuschließen. Bei dem Kochen des Harns mit Natriumacetat und Eisenchlorid wird eine beträchtliche Menge Essigsäure gebildet, wodurch die Verdunstung von Ammoniak verhindert wird. Es ist daher empfehlenswert, nicht zu wenig Eisenchlorid zuzufügen.

Durch die Fällung des Kupfersulfids geht, wie die Kontrollbestimmungen zeigen, kein Ammoniak verloren.

Nur ein möglicher Fehler ist zu beachten. Wenn das von Kupfer befreite Reaktionsprodukt mit Natronlauge neutralisiert wird, erwärmt sich die Lösung. Wenn mehr Lauge hinzugesetzt wird, als zur Neutralisation der freien Säure erforderlich ist, so wird Ammoniak ausgetrieben. Die Lauge muß vorsichtig zugegeben werden und wenn ein Zuviel an Lauge zugesetzt ist, wie die Rotfärbung der Flüssigkeit angibt, so soll der Überschuß sofort durch Säurezusatz gesättigt werden. Die von mir mitgeteilten Zahlen geben nicht immer den richtigen Gehalt. Die Ursache ist zum Teil darin zu suchen, daß bisweilen zuviel Lauge verbraucht wurde und zweitens, daß ich im Anfang bis zum deutlich roten Farbenton titrierte. Wenn in diesem Fall der Farbenton vor und nach dem Formalinzusatz nicht genau derselbe ist, so kann ein zu hoher oder zu niedriger Wert gefunden werden. Beim Innehalten der Rosafärbung sind die gefundenen Werte bis auf geringe Abweichungen genau. Ich fand höchstens einen Fehler von 2,6%, indes braucht diese Fehlerhöhe nicht erreicht zu werden.

#### Nachtrag.

Ich habe früher<sup>1)</sup> darauf hingewiesen, daß der Gehalt des Harns an Aminosäure nach der Sörensenschen Methode und bei einfacher Titrierung unter Zusatz von Kaliumoxalat ungefähr dieselben Werte ergibt. Es ist mir nun wahrscheinlich, daß gerade durch den Zusatz des Kaliumoxalats der störende

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXV, S. 189.

Einfluß der Ammoniaksalze beim Gebrauch von Phenolphthalein als Indikator aufgehoben wird. Durch das Oxalat und die anwesenden Harnsalze wird die Ionisation verringert und es gibt Phenolphthalein jetzt richtige Zahlen. Ich versetzte eine Harnprobe zu 20 ccm mit 5 g Kaliumsulfat und erhielt jetzt bei der Formoltitrierung genau denselben Wert wie bei Oxalatzusatz. Sörensen hat seine Methode, bei welcher die Phosphate zuerst entfernt werden, angegeben, weil die Ammoniumverbindungen Phenolphthalein als Indikator ausschließen. Wo dieser Einfluß der Ammoniaksalze durch Zusatz neutraler Salze u. a. Oxalate oder Sulfate aufgehoben werden kann, da erscheint mir diese Methode der einfacheren Titrierung unter Oxalatzusatz gegenüber überflüssig.

---