

32. Einfacher Feinnachweis von Schwefel in organischen Verbindungen

von G. Bussmann.

(20. XII. 48.)

Die qualitative Mikrochemie, von *Emich* vor mehr als 40 Jahren ins Leben gerufen, ist leider viel zu wenig bekannt. Dies ist um so mehr zu bedauern, als die Vorteile der Mikroverfahren, nämlich die grosse Ersparnis an Zeit, Arbeit und Material, nirgends so sehr hervortreten wie hier. Auch sind die Mikronachweise meist nicht nur einfacher, sondern auch sicherer als die gebräuchlichen Verfahren. So z. B. versagt bekanntlich die *Lassaigue'sche* Probe auf Stickstoff — Aufschluss mit Natrium und Nachweis als Berliner Blau — nicht selten, im Gegensatz zum Mikronachweis von *Emich*¹⁾ — Zersetzung durch Kalk, evtl. unter Zusatz von Kupferpulver, und Auffangen des Ammoniaks an schwach angesäuertem Lackmus.

Ein Schwefelnachweis, der ebenso einfach und sicher wäre, ist bisher nicht bekannt. *Emich* schmilzt die Substanz mit Chlorat und erfasst den Schwefel als Bariumsulfat. Bei sehr kleinen Mengen wirkt jedoch die Eigenschaft des Bariumsulfats, aus verdünnten Lösungen nur zögernd auszufallen, ungünstig auf die Empfindlichkeit der Probe.

Zum Nachweis kleiner Schwefelmengen wird man sich mit Vorteil der Umsetzung von Schwefelwasserstoff mit Bleisalzen bedienen, nachdem der Schwefel mit starken Mitteln reduziert worden ist. Das Arbeiten mit metallischem Natrium läßt sich umgehen, wenn man die Substanz mit einem Gemisch von Magnesiumpulver und Kaliumcarbonat erhitzt. Diese Umsetzung, schon 1904 von *Castellana*²⁾ erprobt, wird neuerdings auch von *Baker* und *Barkenbus*³⁾ sowie von *Foulke* und *Schneider*⁴⁾ verwendet. *Baker* und *Barkenbus* arbeiten noch in kleinen Reagensgläsern, während *Foulke* und *Schneider* einen Mikronachweis beschreiben. Das Verfahren ist jedoch etwas umständlich. Ihre Kapillaren sind aus Hartglas, das nicht immer zur Hand ist; unvorteilhaft ist auch die zweimal gebogene Form der Röhren, das Einführen der Substanz in die enge, schon mit Reduktionsgemisch

¹⁾ Für Einzelheiten der Ausführung vgl. *F. Emich*, Methoden der Mikrochemie, in: *Abderhaldens Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden*, Bd. I, 3, S. 97 (Berlin-Wien 1921); oder *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum, München, 1. Aufl. 1924, S. 124.

²⁾ *Castellana*, G. **34**, **II**, 357 (1904).

³⁾ *R. H. Baker* und *Ch. Barkenbus*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **9**, 135 (1937).

⁴⁾ *D. G. Foulke* und *F. Schneider*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **10**, 104 (1938).

beschickte Kapillare, das Verdrängen der Luft durch Äther und endlich der Umstand, dass die Substanz in einem verhältnismässig grossen Raum verdampft und zum glühenden Reaktionsgemisch hinübergetrieben werden muss.

Die im folgenden beschriebene Ausführung der Schwefelprobe vermeidet diese Nachteile. Sie ist sicher, empfindlich und einfach. Als Feinnachweis mit einigen Zehntel Milligramm Substanz lässt sie sich jederzeit und in jedem Laboratorium mühelos ausführen, während der Geübtere mit dem empfindlichen Mikronachweis bis herab zu 1 γ Schwefel erfassen kann. Für die Praxis ist besonders wichtig, dass die Probe auch ermöglicht, in Substanzen von sehr geringem Schwefelgehalt diese Spuren sicher nachzuweisen, und zwar bis zu 0,5% S in 3—5 mg Substanz.

Zubehör.

1. Aufschlussröhrchen: Man zieht gewöhnliches Glasrohr zu einer 2—3 mm weiten Kapillare aus, die nicht zu dünnwandig sein darf¹⁾. Daraus stellt man einseitig geschlossene, 5—6 cm lange Röhrchen her.

2. Kapillaren von 1—2 mm Durchmesser.

3. Reduktionsgemisch: 2 Teile wasserfreies Kaliumcarbonat und 1 Teil Magnesiumpulver werden fein zerrieben, dann bei 100° getrocknet. Das Gemisch ist hygroskopisch und muss gut verschlossen aufbewahrt werden.

4. 1-n. Bleiacetatlösung, mit einigen Tropfen Eisessig angesäuert.

5. Bleipapier: Filterpapierstreifen werden mit vorstehender Lösung getränkt, getrocknet und verschlossen aufbewahrt.

6. Eisessig.

Ausführung der Probe.

1. Feinnachweis.

Man beschickt ein Aufschlussröhrchen mit einigen Körnchen Substanz (0,2—0,5 mg), wobei man wie beim Füllen von Schmelzpunktröhrchen vorgeht. Dann folgt Reduktionsgemisch in einer Höhe von etwa 1 cm. Man schichtet nicht zu fest, weil beim Erhitzen Feuchtigkeit und eingeschlossene Luft das Pulver in der Kapillare nach oben treiben. Wenn nötig, wird leicht an das schräg gehaltene Röhrchen geklopft, damit das Pulver etwas auseinander fällt. Den Aufschluss führt man in einem gewöhnlichen Bunsenbrenner (ohne Sparbrenner) in kleiner, leuchtender Flamme durch. Damit die Pulverschicht nicht auseinander gerissen wird, wärmt man zuerst schwach an, indem man mit dem unteren Ende der Kapillare einige Male durch die Flamme fährt. Dann erhitzt man, vom oberen Ende beginnend, zuerst das Reduktionsgemisch und, wenn dieses zu glühen beginnt, auch das Ende des Röhrchens mit der Substanz. Wenn alles schwach glüht, ist die Umsetzung beendet.

Das Ende des erkalteten Röhrchens, das die Schmelze enthält, wird abgeschnitten und in einen kleinen Mörser²⁾ gelegt. Man befeuchtet mit einem kleinen Tropfen destilliertem Wasser, den man mit einer etwa 1 mm weiten Kapillare zusetzt, zerdrückt das Röhrchen mit dem Pistill und gibt noch 1—2 Tropfen Wasser dazu. Nun muss der Auszug von Kohlen- und Glasteilchen gereinigt werden. Dies geschieht entweder mit der Filterkapillare oder, wenn eine Handzentrifuge vorhanden ist, mit der Kapillarpipette.

¹⁾ Dünnwandiges Glas kann durch die heftige Reaktion des Reduktionsgemisches aufgeblasen werden.

²⁾ Durchmesser 6 cm oder weniger.

Die Filterkapillare¹⁾ wird hergestellt, indem man das Ende einer 1—2 mm weiten Kapillare durch ein winziges, zusammengerolltes Stück Filterpapier verstopft; das aus der Kapillare herausragende Papierende wird auf dem Fingernagel platt gedrückt und dann die Flüssigkeit durch das Filter eingesaugt. — Die Kapillarpipette²⁾ besteht aus einer Kapillare, deren eines Ende zu einer haarfeinen, etwa 0,1 mm weiten Spitze ausgezogen ist. Saugt man die Flüssigkeit ein, so steigen meist Kohlenteilchen mit hoch. Um diese abzutrennen, schmilzt man die Kapillare am weiten Ende zu und zentrifugiert die Flüssigkeit in der Handzentrifuge ans geschlossene Ende der Kapillare. Dann schneidet man die Spitze, worin die Kohlenteilchen sitzen, ab. Bei der Filterkapillare wird einfach das Papierröllchen herausgezogen. Man bläst die Flüssigkeit auf eine Tüpfelplatte oder auf ein Uhrglas, das man auf weisses Papier stellt. Man säuert mit Eisessig an, der aus einer Kapillare zugegeben wird, und setzt aus einer Kapillare einen Tropfen Bleiacetat-lösung zu. Je nach der Schwefelmenge entsteht ein schwarzer Niederschlag oder eine mehr oder weniger starke Braunfärbung.

2. Mikroausführung.

Sehr kleine Mengen schwefelhaltiger Substanz werden in ein nicht zu weites Aufschlussröhrchen gebracht; darüber gibt man etwa die 10-fache Menge³⁾ Reduktionsgemisch. Dann erhitzt man, von oben beginnend, in der kleinen leuchtenden Flamme des Bunsenbrenners. Die Spitze des Röhrchens wird abgeschnitten, auf der Tüpfelplatte mit einem kleinen Tropfen Wasser (Kapillare!) befeuchtet und mit dem dünnen Ende des Pistills zerdrückt. Zum Abtrennen von den Kohlenteilchen ist hier die Verwendung von Kapillarpipette und Zentrifuge unerlässlich, denn die kleinen Schwefelmengen würden durch das Papier der Filterkapillare adsorbiert werden. Ist die zentrifugierte Flüssigkeitsmenge nur sehr klein, so schneidet man das Röhrchen dicht über der Flüssigkeit ab und lässt diese in eine sehr feine Kapillarpipette eintreten. So vermeidet man, dass Kohlenteilchen wieder in das Zentrifugat gelangen. Man bringt einen Teil der Flüssigkeit auf Bleipapier, worauf je nach der Schwefelmenge ein brauner bis schwarzer Fleck entsteht. Man kann aus einer Kapillarpipette ein Tröpfchen Eisessig darüber geben.

War das Zentrifugat nicht ganz klar, so verursachen Kohlenteilchen auf dem Bleipapier einen dunklen Fleck, der aber im Unterschied zum braunschwarzen Sulfid grauschwarz ist. Im Zweifelsfall beobachtet man mit der Lupe und stellt mit dem Rest der Lösung auf gewöhnlichem Filterpapier eine Gegenprobe an.

Empfindlichkeit der Mikroprobe: Bei einem Schwefelgehalt von 10—15% kann auf diese Weise bis zu 1 γ Schwefel nachgewiesen werden (Substanzmenge also etwa 10 γ).

3. Spurennachweis.

Liegen nur geringe Schwefelgehalte vor, z. B. weniger als 2%, so muss die Probe mit ziemlich viel Substanz ausgeführt werden. Es braucht grössere Röhrchen, mehr Reduktionsgemisch und grössere Wassermengen, wodurch der Nachweis weniger empfindlich wird.

Man führt die Probe aus, wie beim Feinnachweis beschrieben. Für das Aufschlussröhrchen nimmt man die Seite der Kapillare, die sich gegen das ausgezogene Glasrohr hin langsam erweitert. An einer 3—4 mm weiten Stelle wird abgeschmolzen, wodurch das Aufschlussröhrchen unten birnförmig wird. Man füllt 3—5 mg Substanz ein und schiebt 6—10 mg Aufschlussgemisch darüber. Beim Erhitzen beachte man die oben angegebenen Vorsichtsmassnahmen. Es ist wichtig, dass die Zersetzungsprodukte der Substanz langsam durch das heisse Aufschlussgemisch streichen. Dieses braucht nicht zu glühen, da in diesem Fall die Reaktion so heftig vor sich gehen kann, dass der Inhalt

¹⁾ H. Schmalzfuss und H. Barthmeyer, *Microch.* **8**, 247 (1930).

²⁾ Foulke und Schneider, l. c.

³⁾ Bei sehr kleinen Mengen ist eine rohe Wägung auf der Mikrowaage zu empfehlen.

aus dem Röhrchen geschleudert wird. Man zieht in der Reibschale aus, zentrifugiert die Lösung wie oben angegeben und prüft auf Bleipapier. Um Täuschungen zu vermeiden, ist auch hier nur mit ganz sauberen Zentrifugaten zu arbeiten.

Empfindlichkeit der Spurenprobe: 0,5% Schwefel in 3–5 mg Substanz können gut nachgewiesen werden, was 15–25 γ Schwefel entspricht.

4. Blindproben.

Selbstverständlich müssen die Reagentien, besonders beim Nachweis kleinster Mengen und bei der Spurensuche, im Blindversuch auf Schwefelfreiheit geprüft werden.

Zusammenfassung.

Es wird ein einfacher, sicherer und empfindlicher Mikronachweis von organisch gebundenem Schwefel beschrieben. Etwa 0,5 mg Substanz werden in einer Kapillare durch Erhitzen mit Kaliumcarbonat-Magnesium-Gemisch reduziert und der Schwefelwasserstoff durch Bleiacetat nachgewiesen.

Empfindlichkeit: Bei Substanzen von mittlerem Schwefelgehalt (etwa 10% S) kann bis zu 1 γ Schwefel erfasst werden. Bei kleinen Schwefelgehalten gelingt der Nachweis dieser Spuren bis zu 0,5 %S in 3–5 mg Substanz.

Zürich, Chemisches Institut der Universität,
Mikroanalytisches Laboratorium.

33. Über die quantitative Bestimmung kleiner Mengen Glykokoll in Blut, Harn und Proteinhydrolysaten

von R. Krueger.

(20. XII. 48.)

Das Glykokoll ist schon seit 1820 bekannt, doch standen bis 1930 nur Isolierungsmethoden für seine Bestimmung zur Verfügung. Schon daraus lässt sich erkennen, wie schwierig es war, die einfachste Aminosäure mit einer spezifischen Reaktion quantitativ zu fassen. Der Orthophtaldialdehyd *Zimmermann's*¹⁾, der unter gewissen Bedingungen mit Glykokoll eine Färbung entstehen lässt, war das erste Reagens, mit dem eine kolorimetrische Bestimmung versucht wurde. Trotz mannigfacher Bearbeitungen der Methodik von *Klein* und *Linser*²⁾, *Patton*³⁾ und *Abderhalden* und *Neumann*⁴⁾ gelang es am Ende doch nicht, eine einfache, streng spezifische Bestimmung auf dieser Farbreaktion aufzubauen.

¹⁾ *W. Zimmermann*, Z. physiol. Ch. **189**, 4 (1930).

²⁾ *G. Klein* und *H. Linser*, Z. physiol. Ch. **205**, 251 (1932).

³⁾ *A. R. Patton*, J. Biol. Chem. **108**, 267 (1935).

⁴⁾ *E. Abderhalden* und *A. Neumann*, Z. physiol. Ch. **238**, 177 (1936).