

Über die Bestimmung des Stickstoffs in geringsten Mengen organischer Substanzen.

Von
E. Abrahameczik, Heidelberg.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 11. Mai 1946. Vorgelegt in der Sitzung am 27. Juni 1946.)

Bei den Arbeiten über Vitamine, Hormone, Farbstoffe aus dem Tier- und Pflanzenreich und vielen anderen wichtigen Inhaltsstoffen der lebenden Zelle opfert der Forscher nur ungern für die Elementaranalyse und die Bestimmung verschiedener Molekülgruppen kostbare Substanzmengen in der Größenordnung von 10 bis 100 Milligramm. Oft besitzt er solche Mengen gar nicht. Es liegt daher das Bedürfnis vor, für solche Fälle über Analysenverfahren zu verfügen, bei denen die angewandte Substanzmenge um eine oder sogar zwei Zehnerpotenzen unter der für die Mikroanalyse bisher üblichen Menge liegt, also statt Milligrammen nun Zehntel oder eventuell Hundertstel Milligramm beträgt. Während meiner Tätigkeit am 1. Chemischen Institut der Universität Wien erhielt ich daher von Herrn Professor *H. Mark* die Anregung, mich mit der Ausarbeitung solcher Methoden zu befassen. Die am leichtesten zu lösende Teilaufgabe schien mir die „Submikro“-Bestimmung des Stickstoffs zu sein.

Außerdem erforderten in den Jahren 1935 und 1936 angestellte Untersuchungen über die Beeinflussung der Permeabilität von Pflanzenzellen durch Amine¹ eine sehr empfindliche Methode zur Bestimmung organisch gebundenen Stickstoffs. Wollte man die Aufarbeitung sehr großer Mengen Pflanzenmaterials vermeiden, so mußten etwa 1 bis 3 γ Stickstoff nach Überführung in Ammoniak genau bestimmt werden.

Eine auf dem Prinzip der gasvolumetrischen Messung des elementaren Stickstoffs oder der acidimetrischen Titration des nach *Kjeldahl* erhaltenen Ammoniaks beruhende Bestimmung erschien unvorteilhaft. Wir griffen

¹ *R. Raff* und *E. Abrahameczik*, Z. exp. Med. **97**, 835 (1936).

daher auf die empfindlichste Reaktion des Ammoniaks zurück, die Farb-reaktion mit *Nesslers* Reagens. Führt man diese Reaktion in der Weise aus, wie sie bei der Bestimmung des NH_3 in natürlichen Wässern² zumeist vorgenommen wird, nämlich in Glasrohren von etwa 16 mm Durchmesser und einem Fassungsvermögen von 50 ccm, wobei die gefärbte Lösung eine Schicht von 250 mm Höhe einnimmt, so lassen sich $5 \cdot 10^{-7}$ g N eben noch nachweisen (Erfassungsgrenze im Sinne *Feigls*), wobei die Grenzkonzentration $1 : 10^8$ beträgt. Bei visuellem Vergleich und bei der photometrischen Messung im *Pulfrich*-Photometer erzielt man die größte Genauigkeit bei Gehalten von etwa 1 bis $4 \cdot 10^{-5}$ g N. Sie beträgt im ersten Fall etwa 5%, photometrisch etwa 1%. Bei Substanzen mit einem Gehalt von 5 bis 20% N ist die anzuwendende Substanzmenge dann etwa 0,1 bis 0,5 mg. Ohne also an den in der Wasseranalyse üblichen Geräten und Verfahren — Messung in 250 mm langer Schicht, 50 ccm Gesamtvolumen — etwas zu ändern, läßt sich bereits die gewünschte Herabsetzung der angewandten Substanzmenge auf Zehntel Milligramme erreichen.

Zehntel-Milligramm-Verfahren; kolorimetrische oder photometrische Messung in 250 mm hoher Schicht bei 50 ccm Bestimmungsvolumen.

Als Waage läßt sich zur Not, wenn die Genauigkeitsansprüche nicht sehr groß sind, eine der üblichen Mikrowaagen verwenden, auf welcher Wägungen auf 1 bis 2 γ genau erfolgen können. Vorteilhafter ist es, die Einwaagen auf einer Spezialtorsionswaage (z. B. einer *Nernst*-Waage) auf 0,1 γ genau auszuführen. Eine solche Waage hat zwar keine hohe Belastbarkeit, dies ist aber auch nicht nötig, da man die Einwaage fester Substanzen auf einem Stückchen Stanniol oder Aluminiumfolie vornimmt, das höchstens ein Gewicht von 0,2 mg hat. Flüssigkeiten werden in ein auf Zehntel Millimeter Lumen ausgezogenes Glasröhrchen eingewogen.

Der Aufschluß nach *Kjeldahl* erfolgt in den üblichen Mikro-*Kjeldahl*-Kolben unter Zusatz von 2 ccm H_2SO_4 , die nötigenfalls destilliert werden muß, falls sie einen zu hohen N-Blindwert aufweist und einigen Milligrammen Selengemisch nach *Wieninger* oder dem üblichen Zusatz von K_2SO_4 und CuSO_4 , die bei derart geringen Mengen organischer Substanz ebenfalls eine genügend rasche Mineralisierung des Stickstoffs gestatten. Bei Anwesenheit von Nitro- oder Nitrosostickstoff wird mit Titantrichlorid reduziert oder der Aufschluß unter Zusatz von Glukose vorgenommen.³

² *F. Ruttner*, Arch. Hydrobiologie, Suppl. VIII, Tropische Binnengewässer 205 (1931). — *H. Müller*, Int. Rev. Hydrobiol. Hydrogr. 36 (1938).

³ *A. Elek* und *H. Sobotka*, J. Amer. chem. Soc. 48. 501 (1926).

Besser und allgemeiner verwendbar ist die Reduktion nach *Friedrich*⁴ mit Jodwasserstoffsäure. Nach Beendigung des Aufschlusses wird im Destillationsapparat nach *Pregl* oder *Parnas-Wagner* destilliert, wozu durch Auskochen blindwertfrei gemachte Lauge verwendet wird. Die Schlauchverbindungen der Apparatur müssen auf das unumgängliche Mindestmaß gekürzt werden, denn sie geben dauernd geringe Mengen Ammoniak, bzw. mit *Nesslers* Reagens unter Gelbfärbung reagierende Stoffe ab. Durch Auskochen der Schläuche mit Lauge,⁵ durch mehrstündiges Ausdämpfen der Apparatur, kann der Blindwert auf ein erträgliches Maß beschränkt werden. Gänzlich zum Verschwinden bringt man ihn fast nie. Deshalb wird auch von mehreren Seiten⁶ vollständige Vermeidung von Gummistopfen und Schläuchen gefordert. Das Destillat wird ohne Vorlage von Säure aufgefangen, entweder in einem 50 ccm Maßkölbehen oder direkt im Kolorimeterrohr. Die geringen Mengen Ammoniak, um die es sich bei der Bestimmung handelt, sind quantitativ in dem Destillat enthalten. Verluste durch Entweichen gasförmigen Ammoniaks sind nicht zu befürchten.

Man versetzt das Destillat mit 0,5 ccm Seignettesalzlösung nach *Winkler*⁷ und 1 ccm käuflichem Reagens nach *Nessler* oder 2,5 ccm des ohne Kaliumjodid bereiteten Reagens nach *Winkler*⁷ und mischt jedesmal gut durch. Zur photometrischen Messung verwendet man z. B. das *Pulfrich*-Photometer von *Zeiß* mit der Einrichtung für 250 mm lange Mikroabsorptionsrohre auf der optischen Bank. Die Herstellung einer Eichkurve wird in der üblichen Weise⁸ aufs sorgfältigste vorgenommen. In Ermangelung eines Photometers oder auch wenn keine große Genauigkeit erforderlich ist, nimmt man den kolorimetrischen Farbvergleich wie üblich vor, z. B. durch Vergleich mit einer Standardreihe aus Proben bekannten Gehaltes oder einer Dauervergleichsreihe aus farbigen Lösungen anorganischer Salze.⁹ Zur Ausschaltung des Blindwertes wird das Destillat eines Leerversuches mit den Reagenzien versetzt und in den Vergleichsstrahlengang geschaltet, oder es werden die Eichlösungen mit dem Leerversuchsdestillat angesetzt.

Um mit der *Nessler*-Reaktion kleinere Ammoniakgehalte, als bisher besprochen, bestimmen zu können, sei kurz eine aus dem *Lambert-Beerschen*

⁴ *A. Friedrich*, Die Praxis der quantitativen organischen Mikroanalyse. Leipzig-Wien: Deuticke, 1933.

⁵ *H. T. Brown*, Proc. Roy. Soc. (London) 18, 286 (1870).

⁶ *K. Buch*, Conseil Permanent int., Rapports et proc.-verb. 53, 36 (1929). — *H. Chr. Geelmuyden*, Z. analyt. Chem. 42, 276 (1903). — *G. Kemmerer* und *L. T. Hallett*, Ind. Enging. Chem. 19, 1295 (1927). — *E. Raben*, Wissenschaft. Meeresuntersuchungen, Kiel 8, 83 (1904).

⁷ *L. W. Winkler*, Z. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel 49, 163 (1925).

⁸ Vgl. *C. Urbach*, Mikrochem. 11, 50 (1932):

⁹ *D. D. Jackson*, Technology Quarterly 13, 314 (1900).

Gesetz folgende Erwägung angestellt: Bei Vergrößerung der Schichtdicke, aber Beibehaltung des Rohrdurchmessers wird die erfaßbare Absolutmenge des Ammoniaks nicht geändert; da aber das angewandte Flüssigkeitsvolumen entsprechend der größeren Rohrlänge größer ist, wird die erfaßbare Konzentration und damit auch die Grenzkonzentration (im Sinne *Feigls*) herabgesetzt. Für unsere Zwecke bedeutet dieser Weg keinen Vorteil. Hält man aber die Schichthöhe konstant und verringert man den Rohrdurchmesser und damit das angewandte Flüssigkeitsvolumen, so erhält man zwar bei derselben Ammoniakkonzentration in Gefäßen verschiedenen Durchmessers stets dieselbe Farbtiefe (die Grenzkonzentration bleibt konstant), diese wird aber bei geringerem Volumen durch eine geringere absolute Ammoniakmenge hervorgerufen. Dies ist der Weg, den man einschlagen muß, wenn man kleinere Einwaagen mit geringeren Stickstoffmengen für die Bestimmung anwenden will.

Hundertstel-Milligramm-Verfahren; photometrische oder kolorimetrische Messung in 250 mm hoher Schicht bei 5 ccm Bestimmungsvolumen.

Eine für die Einwaage von hundertstel Milligrammen geeignete Waage gibt es zur Zeit noch nicht. Es sind zwar Waagen verschiedener Bauart beschrieben, mit denen Genauigkeiten von 0,01 γ erreicht werden können, doch sind diese Systeme im allgemeinen noch zu kompliziert, als daß Wägungen damit serienmäßig für chemische Bestimmungen ausgeführt werden können. Für unsere Zwecke benötigen wir auch kaum eine solche Waage. Man behilft sich, indem man auf der Torsionswaage eine Einwaage in der Größenordnung von $\frac{1}{10}$ mg macht, löst diese in einem geeigneten Lösungsmittel und entnimmt äquivalente Teile für die Stickstoffbestimmung und eventuelle andere Bestimmungsverfahren.

Man schließt die Substanz ebenfalls in dem normalen Mikro-*Kjeldahl*-Kolben auf, nur verringert man die Schwefelsäuremenge auf $\frac{1}{2}$ ccm, die anderen Zusätze entsprechend. Um sicher zu sein, daß kein Substanzverlust durch trockene Verkohlung eintritt, verwendet man für das Aufschlußgestell eine Platte mit nur 1 cm weiten Heizöffnungen. Es gelingt das Ammoniak im *Parnas-Wagner*-Apparat in 5 ccm Destillat quantitativ überzutreiben, wenn das Volumen der Flüssigkeit im Destillationskolben 7 ccm nicht überschreitet. Man muß daher beim Auswaschen des Zersetzungskölbchens sehr sparsam sein. Einfacher ist es, aus dem Aufschlußkolben abzudestillieren, wie es nach dem alten *Pregl*-schen Verfahren geschieht. Wird die Bestimmung später durch kolorimetrischen Vergleich vorgenommen, so destilliert man, wie für das Zehntel-Milligramm-Verfahren angegeben, ohne Säure vorzulegen, direkt in das Kolorimeterrohr. Dieses hat nunmehr ein Volumen von 5 ccm.

Seine lichte Weite beträgt 5 mm. In diese engen Rohre lassen sich die Flüssigkeiten noch genügend leicht einfüllen, auch das Durchmischen mittels eines dünnen Stäbchens mit kugelig erweitertem Ende geht glatt vonstatten.

Gegenüber den 16 mm weiten Rohren macht sich bei den 5 mm-Rohren für kolorimetrischen Vergleich sehr störend bemerkbar, daß der Flüssigkeitsmeniskus viel stärker gekrümmt ist und daher die leuchtende Boden-

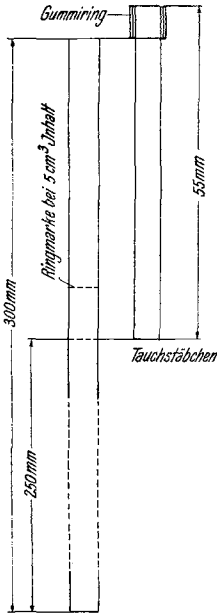


Abb. 1. Kolorimeterrohr für 5 cm Bestimmungsvolumen.

fläche des Rohres nur als winziger Punkt, umgeben von dunklen konzentrischen Ringen erscheint. Dem kann auf verschiedene Art abgeholfen werden. Man füllt z. B. das Rohr nach Vornahme der Reaktion bis zum oberen Rand mit destilliertem Wasser auf und bedeckt mit einem Stückchen Mikroskopdeckglas, das eine vollkommen ebene Blickfläche erzeugt und den Boden des Kolorimeterrohres in wahrer Größe erscheinen läßt. Dadurch verschwinden die durch mehrfache Lichtbrechung entstehenden dunklen Ringe vollkommen und der Vergleich wird wesentlich erleichtert. Das Abdecken mit einem einfachen Glasplättchen hat den Nachteil, daß bei längerem Stehen der Proben, besonders in der warmen Jahreszeit, Flüssigkeit verdunstet und sich unter dem Glasplättchen eine Luftblase bildet. Dies vermeidet man, indem man statt des Plättchens ein zylindrisches, auf $\frac{1}{2}$ mm genau in das Lumen des Kolorimeterrohres passendes Stäbchen aus farblosem Glas einführt, das an den beiden Enden plan geschliffen ist und am oberen Ende einen Gummiring trägt, mit dem es auf dem Rande des Rohres aufruhrt (Abb. 1). Die Länge des Stäbchens wird so bemessen, daß es

genau bis zu einer Flüssigkeitshöhe von 250 mm eintaucht. Mit diesem Kunstgriff läßt sich zugleich der Fehler ausschalten, der durch ungleichen Durchmesser der Rohre entsteht. Bei den 16 mm-Rohren und insbesondere bei den 5 mm weiten zeigt sich nämlich in höchst störender Weise, daß Röhren desselben Ursprunges, ja selbst aus der gleichen Röhre geschnittene Kolorimeterrohre erheblich im Durchmesser verschieden sind. Die Schichthöhen von 50 bzw. 5 cm schwanken mitunter um mehr als 20 mm, was bedeutende Fehler verursachen würde, wenn es unberücksichtigt bliebe. Zur Ausschaltung des Fehlers verwendet man nur Rohre, bei denen die 50 bzw. 5 cm Inhalt eine Schicht von 250 mm oder mehr, aber nicht weniger einnehmen. Man verdrängt die über 250 mm hoch stehende Flüssigkeit durch Einführen des Tauch-

stäbchens und erzielt so automatisch auch in Rohren verschiedensten Durchmessers eine konstante Schichthöhe bei gleichem angewandten Bestimmungsvolumen.¹⁰

Für die Bestimmung im Photometer verwendet man Rohre von etwa 4,5 bis 5,0 mm lichter Weite. Mit diesen lassen sich die Messungen noch ziemlich genau durchführen, nur ist die Justierung der Rohre etwas schwieriger.

Das 5 ccm-Destillat versetzt man mit einem Tropfen Seignettesalzlösung und dem zehnten Teil der für das 50 ccm-Rohr angegebenen Menge *Nessler*-Reagens. Die Erfassungsgrenze ist 0,05 γ N, um eine Zehnerpotenz niedriger als in den 50 ccm-Rohren. Die größte Genauigkeit erzielt man bei Gehalten zwischen 1 und 4 γ N.

Weitere Herabsetzung der Erfassungsgrenze. Kolorimetrische Messung in 250 mm hoher Schicht bei 0,5 ccm Volumen.

Nicht für die Elementaranalyse, aber für Arbeiten über verschiedene physiologisch-chemische Fragen ist es erwünscht, die Erfassungsgrenze noch weiter herabzudrücken. Verringert man das Volumen nochmals auf den zehnten Teil, auf 0,5 ccm, so muß der lichte Durchmesser der Rohre auf 1,6 mm herabgesetzt werden. Gegenüber den 50 ccm-Rohren ist die Erfassungsgrenze um zwei Zehnerpotenzen auf 0,005 γ N ($= 5 \cdot 10^{-9}$ g N) herabgedrückt und dementsprechend liegt der Bereich der genauesten Bestimmung zwischen 0,1 und 0,4 γ N. Das Mischen von Probelösung und Reagenzien kann man hier nicht mehr im Kolorimeterrohr vornehmen, sondern bringt gemessene Mengen der beiden auf einem kleinen Uhrglas zusammen, mischt und saugt die Lösung in das beiderseits offene Kolorimeterrohr von genau 250 mm Länge ein und verschließt durch Deckgläschen, die durch Gummiringe gehalten und abgedichtet werden. Bei einiger Übung sind auch diese nur 2 qmm großen Flächen mit halbwegs ausreichender Genauigkeit vergleichbar.

Eine Anwendung dieses Rohrdurchmessers stößt beim *Pulfrich*-Photometer bereits auf größere Schwierigkeiten, da die Gleichmäßigkeit des Lichtdurchganges infolge unserer improvisierten Auflage der Rohre auf die Justierschrauben der Reiterfüße nicht reproduzierbar gegeben war. Es wurde daher von einer photometrischen Auswertung abgesehen und nur visueller kolorimetrischer Vergleich vorgenommen.

Für die 0,5 ccm-Rohre kann man nicht mehr den Aufschluß im normalen Mikro-*Kjeldahl*-Kolben vornehmen. In kleineren Kölbchen kann man wegen Siedeverzugserscheinungen, die zu Substanzverlusten führen, nicht aufschließen. Besser eignen sich zur Zersetzung kleine Kristallisier-

¹⁰ Vgl. *H. Müller*, *Mikrochem.* 12, 307 (1933).

schälchen von etwa 1 cm Durchmesser mit ebengeschliffenem Rand, in denen die Substanz mit einem Tropfen Schwefelsäure (+ Zusätzen) auf einem mit Mikrobrenner geheizten Messingblech vorsichtig erwärmt wird. Nach beendigem Aufschluß wird mit einigen Tropfen Wasser verdünnt, erkalten gelassen, ein Plätzchen Lauge zugefügt und das Schälchen sofort mit einem Mikroskopdeckglas bedeckt, an dessen Unterseite ein Wassertropfen hängt, in den man ein Kriställchen Borsäure gebracht hat. Man stellt das Schälchen mitsamt seiner Unterlage in einen leeren Vakuumexsikkator; nach 2 Stunden evakuiert man vorsichtig und läßt bis zum nächsten Tage stehen. Das Ammoniak befindet sich praktisch quantitativ in dem Borsäuretropfen, der eingetrocknet oder zumindest wesentlich kleiner geworden ist, in welchem Fall man ihn auf dem Wasserbad vollends eintrocknet, nachdem man vor dem Öffnen den Exsikkator mit ammoniakfreier (säuregewaschener) Luft gefüllt hat. Man reinigt sodann das Schälchen und trocknet es, hält das Deckglas so darüber, daß es auf einer Ecke steht und spült es mit genau 0,5 ccm Wasser ab, die man aus einer Mikrobürette tropfen läßt. Man versetzt mit einem Mikrotropfen Seignettesalzlösung und 0,025 ccm *Nessler*-Reagens, saugt in das Kolorimeterrohr ein und vergleicht mit gleichbehandelten Proben bekannten Gehaltes oder mit einer Dauervergleichsreihe aus anorganischen gefärbten Salzlösungen.¹¹

Kolorimetrie in Röhren von 0,05 ccm Inhalt, das sind Kapillaren von 0,5 mm Weite, ist praktisch nicht mehr durchführbar. Für einen quali-

Volumen der Probelösung ccm	50	5	0,5	0,05
Schichthöhe mm	250	250	250	250
Innendurchmesser . . . mm	15,96	5,046	1,596	0,505
Einwaage mg	0,2—0,3	0,02—0,03		
Schwefelsäure (+ Zu- sätze) ccm	2	0,5	0,05	
Glukose mg	3	0,3	0,03	
Seignettesalzlösung . . ccm	0,5	0,05	Mikro- tröpfchen	
<i>Nesslers</i> Reagens . . . ccm	1,0	0,1	0,01	
Erfassungsgrenze N . . . g	$5 \cdot 10^{-7}$ g (= 0,5 γ)	$5 \cdot 10^{-8}$ (= 0,05 γ)	$5 \cdot 10^{-9}$ (= 0,005 γ)	10^{-9} (= 0,001 γ)
Größte Genauigkeit im Bereich von	20 γ	2 γ	0,2 γ	
Grenzkonzentration	$1 : 10^8$	$1 : 10^8$	$1 : 10^8$	$2 : 10^8$

¹¹ Man kann auch die Austreibung des Ammoniaks in vielen Fällen ganz unterlassen und nach *Folin* und *Denis* [*J. biol. Chemistry* **26**, 473 (1916)] direkt nesslerisieren.

tativen Ammoniaknachweis sind solche Röhre aber noch brauchbar. Die Erfassungsgrenze ist etwa 10^{-9} g N. In der Tabelle (S. 382) sind die Daten der Bestimmungsformen zum Vergleich zusammengestellt.

Um zu zeigen, was die Methode in der Anwendung in der Elementaranalyse leistet, seien kurz einige Analysen als Beleg angeführt:

Substanz	% N berechnet	% N photometrisch gefunden bei 10 Bestimmungen in:	
		Zehntel-mg-Verfahren	Hundertstel-mg-Verfahren
Harnstoff	46,66	45,4 bis 46,9	45,1 bis 47,0
p-Toluidin	13,08	12,9 „ 13,2	12,6 „ 13,2
Theobromin	31,11	30,8 „ 31,3	30,3 „ 31,4
p-Bromnitrobenzol	6,94	6,84 „ 7,05	6,81 „ 7,00

Anwendung des Verfahrens auf die Untersuchung von Pflanzenmaterial.

Untersuchungen, welche Permeabilitätsänderungen von Pflanzenzellen unter dem Einfluß von Aminenzum Gegenstand hatten, wurden bereits eingangs erwähnt. Es sollte festgestellt werden, ob Änderungen der Permeabilität für Stickstoffverbindungen eintreten, wenn Amine oder deren Salze zugegen sind. Als Objekt wurden zwei Armleuchteralgen gewählt, *Chara ceratophylla* und noch eine andere *Chara*spezies.¹² Sprosse dieser Pflanzen wurden in 0,01 bis 0,1-molare Lösungen von Stickstoffverbindungen in Standortwasser eingelegt. Parallel wurden Pflanzen untersucht, die in unversetztem Wasser, in Wasser mit Zusatz von Amin und in Wasser mit Stickstoffverbindungen + Amin gleich lang eingelegt wurden. Nach gleichen Zeitabständen wurden aus allen Lösungen Sprosse entnommen, ganz kurz abgespült und je eine Riesenzelle aus dem Stengel an beiden Enden aufgeschnitten. Der röhrenförmige Zelleib wurde in

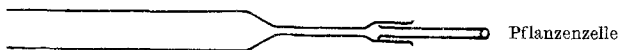


Abb. 2. Gekröpftes Röhrrhen.

ein gekröpftes Röhrrhen (Abb. 2) eingezwängt und durch einen ganz langsamen Wasserstrom, etwa 0,1 ccm pro Minute, der Zellsaft herausgespült, ohne den Plasmabelag der Zellwand mitzureißen. Geschah dies doch, was mitunter vorkam, so wurde die Probe verworfen. Der verdünnte Zellsaft wurde in kleinen Glastuben aufgefangen, mit der für den Aufschluß nötigen Menge Schwefelsäure versetzt und das Röhrrhen zugeschmolzen. An der Riesenzelle wurde die Länge und mit dem Okular-

¹² Vgl. *R. Collander* und *H. Bärlund*, *Acta botanica fennica* (Helsingfors) 11 (1933).

mikrometer der Innendurchmesser gemessen und aus den beiden Werten das Volumen des Zellsaftes und die Oberfläche des Plasmaschlauches berechnet. Während die Untersuchung bis zu diesem Punkt am Standort der Algen vorgenommen wurden, wurden die verschlossenen Röhrchen ins Institut gebracht und ihr Inhalt nach dem oben geschilderten Verfahren für die 5 ccm-Kolorimeterröhren aufgearbeitet. Die erhaltenen Stickstoffwerte wurden nach den gleichzeitig angestellten Blindwerten (für zelleigenen Stickstoff und permeierten Aminstickstoff) reduziert und der Rest auf organische Substanz umgerechnet, die je Zeiteinheit und je Oberflächeneinheit permeiert ist.

Zusammenfassung.

Es werden Verfahren beschrieben, die gestatten, den Stickstoffgehalt organischer Körper in Mengen bis herab zu 0,01 mg der Substanz mit einer Genauigkeit von ± 1 bis 2% bei photometrischer bzw. 5% bei kolorimetrischer Arbeitsweise zu bestimmen. Die geringste nach dem geschilderten Verfahren noch erkennbare Menge Stickstoff in Form von Ammoniak ist etwa 10^{-9} g N. Die Substanzen werden nach dem *Kjeldahl*-Verfahren verascht, das Ammoniak überdestilliert und in besonderen Kolorimeterrohren die Bestimmung durch Vergleich oder photometrische Messung vorgenommen. Es werden die Ergebnisse einiger Testanalysen angeführt und das Verfahren für die Bestimmung des Stickstoffs im Zellsaft einer einzigen Pflanzenzelle geschildert.