

verkürzen (Theorie der Kautschukelastizität von *K. H. Meyer*, *v. Susich* und *Valkö*<sup>38</sup>). Auch beim Kristallisieren können sich die Segmente wie unabhängige Moleküle benehmen: Segmente einer Molekül können sich mit Segmenten benachbarter Moleküle zum Raumgitter zusammenlegen, während andere Segmente noch gelöst, d. h. von Lösungsmittel umgeben sind. Auf diese Weise erklärt sich die Bildung zusammenhängender Gele beim Abkühlen der Lösungen von Gelatine, Pektin usw. Die Molekelfäden werden durch kristalline Partien miteinander zu einem elastischen, mit Flüssigkeit gefüllten dreidimensionalen Netz verknüpft. Umgekehrt hängen die Kristallite, von *Gerngross*<sup>39</sup>, der dieses Bild zuerst gezeichnet hat, als „Fransenmicelle“ bezeichnet, miteinander durch Molekelfäden zusammen. Nach dem gleichen Prinzip ist auch das Stärkekorn aufgebaut: *Naegelis* kristalline Micellen sind Fransenmicellen, die durch Molekelfäden miteinander verknüpft sind<sup>40</sup>. Die Zweigstellen der Amylopektinmoleküle, die nicht in das regelmäßige Raumgitter der Kristallite hineinpassen, werden sich dabei in den freien „Fadenteilen“ des Korns befinden (Bild 9).

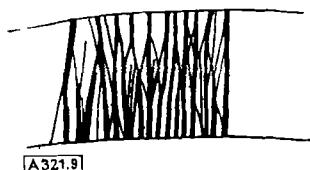


Bild 9  
Schema der Anordnung der kristallinen Micelle (dick gezeichnet) und der sie verbindenden Hauptvalenzketten in einer Schicht des Stärkekorns

Wenn nun Amylase auf Stärkekörner einwirkt, so wird sie zunächst die nicht kristallinen Partien angreifen können. Es entstehen die sog. Speichelskelette, die noch Sphärite sind, aber leicht in einzelne Kristallnadelchen zerfallen, da die verbindenden Molekelfäden zerschnitten sind. Anders wie in der wässrigen Lösung wird Amylose hier langsamer angegriffen als Amylopek-

<sup>38</sup>) Ebenda 59, 208 [1932].

<sup>39</sup>) Biochem. Z. 228, 409 [1930].

<sup>40</sup>) K. H. Meyer u. P. Bernfeld, Helv. Chim. Acta 24, 389 [1941].

tin, da erstere sich fast ausschließlich in kristallisierter Form befindet.

Werden die Stärkekörner in Wasser erwärmt, so schmelzen oder lösen sich die kristallinen Knüpfstellen teilweise auf. Die konzentrischen Schichten des Stärkekorns werden weitmaschige Netze (vgl. Bild 10), durch die Wasser ins Innere strömt. Die

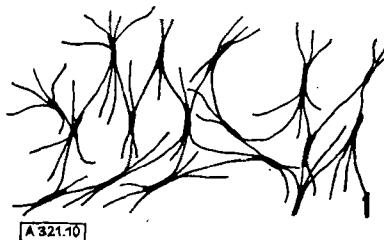


Bild 10  
Schematische Darstellung des losen Netzwerks der gequollenen Amylopektinschicht. Die kristallinen Knüpfstellen sind dick gezeichnet

Körner werden zu riesigen, wassergefüllten Blasen, die beim Fließen des Kleisters einen großen Widerstand bilden und die hohe Viscosität des Kleisters hervorrufen<sup>41</sup>). Wenn die Netzhülle dieser Blasen durch Amylase zerschnitten wird, so sinkt die Viscosität plötzlich stark ab. Schon bei sehr geringer Hydrolyse kann dies eintreten, was zu der Annahme geführt hat, daß ein besonderes verflüssigendes Enzym im Speichel enthalten ist. Doch hat sich diese Annahme als falsch erwiesen<sup>27, 42</sup>.

In den üblichen Kleistern finden sich Korntrümmer neben gelösten Stärkebestandteilen: wie die einzelnen Reaktionen in ihnen verlaufen, hängt u. a. von dem Grad des Aufschlusses der Kleister ab.

Somit läßt es sich nicht von vornherein sagen, wie der Stärkeabbau in den technischen Ansätzen verläuft, z. B. beim Mälzen oder in der Spritfabrikation. Dies müßte für jeden Fall mit Hilfe geeigneter Methoden, z. B. den hier benutzten, festgestellt werden.

Eingegangen am 18. Oktober 1950 [A 321]

<sup>41</sup>) K. H. Meyer u. M. Fuld, ebenda 24, 375 [1941].

<sup>42</sup>) K. H. Meyer, F. Duckert u. Ed. H. Fischer, ebenda 33, 207 [1950].

## Mikrochemie in den Vereinigten Staaten

Von Prof. Dr. A. A. BENEDETTI-PICHLER, Queens College, Flushing, N. Y.

Es sollen hier die bemerkenswertesten Züge mikrochemischer Arbeit in den USA gezeigt werden. Da es unmöglich ist, auf Einzelheiten einzugehen, sind die Literaturhinweise so gewählt, daß sie zur Erschließung der US.-Fachliteratur benutzt werden können. Die Kenntnis der deutschen Entwicklungen hingegen wird, als durch Spezialzeitschriften und Veröffentlichungen dieser Zeitschrift bekannt, vorausgesetzt.

### Einleitung

Jeder Wissenszweig wird sich in allen westlichen Ländern zwangsläufig gleichartig entwickeln. Örtliche Unterschiede mögen durch spezielle Bedürfnisse, qualitative oder quantitative Verschiedenheiten in den verfügbaren Mitteln, oder durch eine wirkungsvolle Persönlichkeit hervorgerufen werden. Alle diese Umstände scheinen in den Vereinigten Staaten zusammengewirkt zu haben, um der Entwicklung mikrochemischer Arbeit nach ursprünglicher Verzögerung einen besonderen Ansporn zu geben.

Während des ersten Viertels des Jahrhunderts stand die Entwicklung unter dem Einfluß von *Émile Monnin Chamot*, der *Heinrich Behrens* mikroanalytische Methoden in Delft studierte und *mikroskopische* Mikroskopie aus. Zusammen mit *C. W. Mason*<sup>1</sup>) lehrte er chemische Mikroskopie als Fachgebiet an der Cornell hatte, dann aber seinen eigenen Weg ging. Er bildete die chemische University in Ithaca, N. Y., und manche andere Schule ist dem Beispiel gefolgt. Diese Spezialausbildung im Mikroskopieren erweist sich für die Bearbeitung mancher industrieller Probleme sehr wertvoll.

<sup>1</sup>) E. M. Chamot u. C. W. Mason: Handbook of Chemical Microscopy, Volume I, Principles and Use of Microscopes and Accessories; Physical Methods for the Study of Chemical Problems. John Wiley & Sons, New York, N. Y., 2. Aufl., 1938. — Der zweite Teil beschäftigt sich hauptsächlich mit dem mikroskopischen Nachweis anorganischer Ionen und ist mit *Behrens-Kley*: Mikrochemische Analyse, I. Teil, zu vergleichen.

So sei eine geringe Menge eines Sedimentes die Ursache einer Betriebsstörung. Durch mikroskopische Untersuchung kann man rasch und mit verhältnismäßig geringer Mühe Metallteilchen, Haare, Fasern, Pflanzenteile, oder Teile von Insektenkörpern erkennen und damit auch die Herkunft des Sedimentes aufklären. Dazu braucht man eine Spezialausbildung, ebenso wie besondere Fähigkeit, gleich dem bildenden Künstler: Beobachtungsgabe und Gedächtnis für Form und Farbe. Der Spezialist wird gewohnheitsmäßig zum Studium der Feinstruktur schreiten, das oft den einzigen Weg zur einfachen Lösung einer anscheinend unverständlichen Erscheinung bietet. Erfahrung in solchen Arbeiten erleichtert auch die zuweilen notwendige mechanische Abtrennung mikroskopischer Objekte zur nachfolgenden mikrochemischen Analyse.

Das Polarisationsmikroskop wird heute noch an erster Stelle zur Untersuchung von Gesteins- und Bodenproben<sup>2)</sup>, von Mineralstaub und von in Gemälden verwendeten Pigmenten<sup>3)</sup>

<sup>2</sup>) W. H. Fry, Petrographic Methods for Soil Laboratories, U.S. Department of Agriculture, Technical Bulletin No. 344, 1933. M. N. Short, Microscopic Determination of the Ore Minerals, U.S. Geological Survey, Bulletin 825, benutzt einfache chemische Nachweise unter dem Mikroskop. Erhältlich vom Superintendent of Documents, Washington, D. C., gegen 0.15 bzw. 0.60 \$.

<sup>3</sup>) R. J. Gettens, Technical Studies 7, 200--243 u. 8, 12--60 [1939]. Eine ausführliche Beschreibung der Pigmente.

verwendet. Eine Sammlung von Vergleichsproben ist besonders im letzten Falle sehr nützlich.

Die Mikromethoden der organischen Elementanalyse wurden vorwiegend durch Schüler von F. Pregl in der Mitte der Zwanzigerjahre in akademische Forschungslaboratorien eingeführt. Zu Beginn der Dreißigerjahre fanden mikrochemische Methoden aller Art Eingang in die Industrielaboratorien. Die Mikroelementanalyse wurde in der chemischen Industrie schnell verbreitet. Laboratorien, die mit der Materialprüfung für technische Zwecke oder mit der Überwachung von Instrumenten oder Maschinenanlagen beschäftigt sind, zeigten sich besonders an den allgemeinen anorganischen und organischen mikroanalytischen Verfahren interessiert. Hauptsächlich in den letztgenannten Laboratorien kann man drei Hauptfunktionen der Mikroanalytischen Abteilung erkennen: Aufklärung von Störungen aller Art, Entwicklung von Mikromethoden, die an Stelle hergebrachter Prüfungsverfahren treten sollen und möglicherweise auch Ausführung gewisser Serienarbeit.

Zur Aufklärungsarbeit kann man die Untersuchung von Korrosionserscheinungen, Materialfehlern, Verfärbungen, Staub, Sedimenten, Beschlägen, Fehlern an kleinen Maschinenteilen usw. rechnen. Es ist offenkundig, daß in solchen Untersuchungen außer technischem Verständnis nahe Zusammenarbeit mit Spezialisten für Mikroskopie, Röntgendiffraktion und Spektrographie erforderlich ist. Auch sind die verfügbaren Materialmengen häufig so gering, daß die Mikrotechnik für das Arbeiten mit Milligramm-Mengen versagt. Mikromanipulation unter dem Mikroskop und Mikrogrammverfahren der Analyse müssen zu Hilfe genommen werden.

Der Ersatz der bisherigen Serienprüfmethoden durch Mikroverfahren<sup>4)</sup> ergibt in einzelnen Fällen beträchtliche Zeitersparnis. Überdies benötigen Mikromethoden oft weniger Arbeitsraum, der bei den hohen Konstruktionskosten oft sehr teuer ist. Außerdem hat man seit langem erkannt, daß die reinliche Arbeit mit kleinen Mengen Arbeitsfähigkeit und Arbeitswillen des Personals erhöhen. Es besteht kein Zweifel, daß die Leistungsfähigkeit durch das Einatmen von Dämpfen aller Art beeinträchtigt wird, eine Störung die beim Arbeiten in dem kleinen Maßstab kaum mehr auftritt. Eine entsprechende Verminderung von Explosions- und Feuergefahr geht selbstverständlich parallel.

Die biologisch-medizinische Forschung hat sich, ebenso wie in Europa, Mikrogrammverfahren der Titrimetrie geschaffen. Dazu kommen außerordentlich empfindliche kolorimetrische Verfahren, die Weiterentwicklung der Mikromanipulation unter starken Vergrößerungen und die gasometrischen Methoden von D. D. van Slyke.

Schließlich gewannen die Mikrogrammverfahren in den Vierzigerjahren besonderes Interesse im Zusammenhang mit der Untersuchung der anfangs in kleinen Mengen im Cyclotron erzeugten Transurane. Produkte des Atomzerfallses können nun in beinahe beliebigen Mengen erhalten werden, doch bietet das Arbeiten mit kleinen Mengen hochradioaktiver Stoffe Vorteile, die keiner Erklärung bedürfen.

### Qualitative anorganische Analyse

In der Entwicklung der qualitativen Analyse zeigt sich ein zwar verständlicher, doch merkwürdiger Widerspruch.

Einerseits wurde vor allem von A. A. Noyes<sup>5)</sup> und seinen Schülern durchgreifende Experimentaluntersuchungen ausgeführt, die zu genauen Vorschriften für die erfolgreiche Trennung der gewöhnlichen und auch der seltenen Elemente führte. Es wird mit gemessenen Mengen von Reagenslösungen bestimmter Konzentration gearbeitet. Auch wird Gewicht auf die Schätzung der Menge jedes isolierten Bestandteiles gelegt. Hierzu dient der Vergleich der Volumina der Niederschläge oder der Intensität von Färbungen mit denen, die mit bekannten Mengen des gesuchten Stoffes erhalten werden. Es sei gleich bemerkt, daß diese Arbeitsweise für den Mikromäßigstab besonders geeignet ist, da die unabgemessene Zugabe von Reagenzien beim Arbeiten

mit kleinen Mengen häufig zu einer unerwünschten Überladung der Lösung mit Salzen führt. Die meisten der Trennungsverfahren von Noyes und Bray wurden übrigens auf den Milligramm-Mäßigstab übertragen<sup>6)</sup>.

Andererseits wird dem Laboratoriumsunterricht in qualitativer Analyse an den meisten Colleges und Universitäten wenig Zeit – sechs Stunden je Woche für ein Semester – zugewiesen. Vereinzelt wird sogar der Versuch gemacht, qualitative Analyse ganz als Lehrgegenstand aufzugeben, da sie sich als Einführung zur physikalischen Chemie der Lösungen doch nicht bewährt. Aber auch um in die chemische Forschungsarbeit einzuführen und die Kenntnis in anorganischer Chemie zu vertiefen, verfehlt die qualitative Analyse ihren Zweck, wenn man zur Zeitersparnis von genau ausgearbeiteten Trennungsverfahren Gebrauch macht, in denen Niederschläge und Filtrate mit Nummern gekennzeichnet sind, und zum Teil außerdem noch nur Lösungen als Unbekannte gibt. Die Arbeit wird dann durchaus mechanisch und die Studenten, die sich in der Regel nicht die Mühe geben, den erklärenden Begleittext zu lesen, werden nicht einmal gewahr, was für Stoffe sie handhaben<sup>7)</sup>. Man erwartet vielleicht mit Recht eine Besserung von der Einführung von Semimikroverfahren der qualitativen Analyse, die nun fast allgemein im Unterricht verwendet werden. Man arbeitet mit etwa 10 mg Substanz. Die Trennungen werden in Zentrifugieröhrchen vorgenommen und die Nachweise werden meist als Tüpfelreaktionen entweder auf der Tüpfelplatte oder auf Papier durchgeführt. Da die Arbeit auf diese Weise viel rascher bewältigt werden kann, lassen sich in der gegebenen Zeit eine größere Anzahl von Analysen ausführen. Auch scheint diese Arbeitsweise anziehender zu sein, so daß es weniger Mühe bereitet, die Studenten zu den Vorstudien an bekannten Stoffen anzuhalten. Diese Art der Ausbildung wird wahrscheinlich umso weniger ihren Zweck verfehlen, je mehr man sich von dem Gebrauch hochempfindlicher komplizierter organischer Reagenzien ferne hält. Die Notwendigkeit der Benutzung verhältnismäßig teurer elektrischer Zentrifugen ist durch Ersparnisse an Raum, Geräten, Reagenzien und Heizmaterial besonders bei dem häufig üblichen Massenunterricht mehr als wett gemacht.

Wie erwähnt, genügen auch die Milligrammverfahren der qualitativen Analyse den Bedürfnissen von Industrie und Forschung meist nicht. Es wurde daher 1936 der Versuch begonnen, eine Technik für das Arbeiten mit Mikrogramm-Mengen (0.001 mg) systematisch auszuarbeiten. Nach einigen kurzen Vorbereitungen zeigte es sich am vorteilhaftesten, das mit größeren Mengen bewährte Arbeiten im Zentrifugieröhrchen prinzipiell unverändert beizubehalten. Den Kapillarspitzröhrchen wurde bei einem Inhalt von 2 mm<sup>3</sup> eine Länge von 2 mm und ein innerer Durchmesser von etwa 0.5 mm im zylindrischen Teil gegeben. Die zur Arbeit benötigten Kapillarspitzröhrchen werden zusammen mit einseitig geschlossenen kurzen Kapillaren, die die Reagenzien und Waschflüssigkeiten enthalten, auf einer kleinen Glasplatte (etwa 20×35 mm) montiert. Sie werden dann auf den Boden einer kleinen Glaskammer gelegt, die auf dem rotierenden, mechanisch verstellbarem Tisch eines Forschungsmikroskopes befestigt werden kann. Die Seiten der Kammer legt man innen mit nasser Baumwolle aus, um eine mit Feuchtigkeit gesättigte Atmosphäre zu schaffen, in der die kleinen Lösungsmengen nicht eindunsten. Eine Seite der Kammer wird offen gelassen, um der Mikropipette Zutritt zu geben, die für die Übertragung von Reagenzien und Lösungen benötigt wird. Diese Mikropipette funktioniert wesentlich wie die Injektionspipette der Mikrobiologen. Außer Bequemlichkeitsrücksichten wurde der Spitz eine weitere Öffnung, etwa 0.01 mm, gegeben. Benutzt man diese Anordnung, so ist der Arbeitstisch des Chemikers zusammen mit seinem Reagenzenvorrat in das Gesichtsfeld

<sup>4)</sup> A. A. Benedetti-Pichler, W. R. Crowell u. Mitarb., Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 9, 589 [1937] Selen-Gruppe; 11, 294 [1939] Tellur- u. Kupfer-Gruppen; 11, 117 [1939] Erdalkalien; 10, 107 [1938] Alkalien-Mikrochemie, Molisch-Festschrift 3 [1936], Aluminium- und Chrom-Gruppen, Gallium, Eisen, Mangan, Zink, Nickel, Kobalt; 19, 239 [1936] Thallium-Gruppe; 24, 16 [1938] Osmium und Ruthenium; 33, 281 [1947] Gold-Gruppe.

<sup>5)</sup> Niederschlag No. 13 wird mit 10 ml 6-molarer KOH kurz aufgekocht, wobei der Student weder gewahr ist, daß ein Reagenzüberschuß verwendet wird, geschweige daß er wüßte warum. Er ist überdies zu sehr in Eile, sich zu informieren, welche Verbindungen im Niederschlag vorhanden sein könnten. Viele Studenten erkennen ausfallendes Eisen(III)-oxyhydrat nicht. Eisen ist einfach eine „rote Färbung in Lösung 21“.

<sup>6)</sup> Über Leitgedanken zur Ausarbeitung von solchen Mikroverfahren s. Mikrochemie, Kongreßheft 1950.

<sup>7)</sup> A. A. Noyes u. W. C. Bray: System of Qualitative Analysis for the Rare Elements, Macmillan, New York, 1927.

des Mikroskopes verlegt. Es wird möglich, Reagenzien von bekannter Stärke in bestimmten Mengen zuzusetzen und gleichzeitig die ablaufenden Erscheinungen zu beobachten. Mit Hilfe

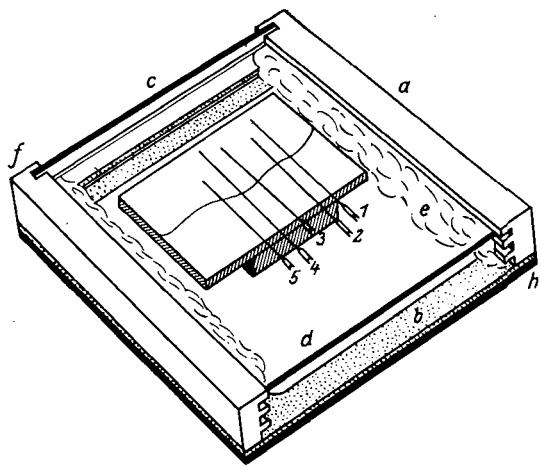


Bild 1

Feuchte Kammer (nach Michael Cefola), bestehend aus einer Glasplatte h, auf die ein Messingrahmen c aufgeklebt ist, welcher die Messingstreifen a trägt. Die entfernbare Hinterwand d besteht aus einem Glassstreifen. Die Glädeckplatte a wird in die Rillen der seitlichen Messingstreifen eingeschoben. Wattestreifen e sind mit Wasser getränkt. Auf dem Objektischchen befinden sich die Reagenskapillaren 1, 2, 4 und die Kapillarspitzröhrchen 3, 5. Ihre Stiele sind in die Vaseline eingebettet, die auf den rückwärtigen Teil des Tischchens aufgestrichen ist.

einer Mikroprojektion kann der Vorgang von mehreren Hunderten von Zuschauern beobachtet werden. Das Volumen der Niederschläge schätzt man mit einem Okularmikrometer. Zum Zentrifugieren oder Erhitzen werden die Kapillarspitzröhrchen aus der feuchten Kammer entfernt und zur Verhinderung der Verdunstung in Kapillarröhrchen eingelegt<sup>7)</sup>. Die Arbeitsweise kann

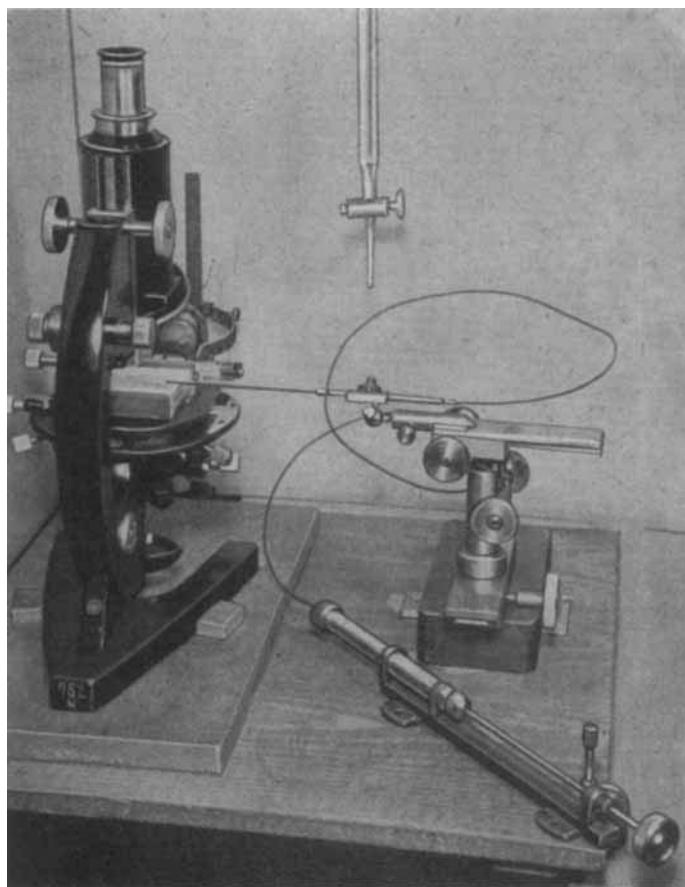
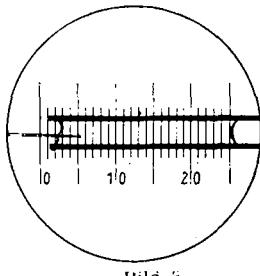


Bild 2

Mikroskop mit mechanischem Drehtisch auf dem sich die feuchte Kammer befindet. Rechts ein einfacher Manipulator mit Kapillarenhalter, der mittels eines biegsamen Kupferrohres mit der Injektionsvorrichtung verbunden ist. Die letztere, Kupferrohr und Halter sind mit ausgekochtem Wasser gefüllt. An der Ausflussspitze der Glashahnbürette hängende Tropfen dienen zum Spülen der Mikropipette, die zu diesem Zwecke aus der feuchten Kammer entfernt wird. Der Manipulator kann um die vertikale Achse gedreht werden. (Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 14, 813 [1942].)

<sup>7)</sup> A. A. Benedetti-Pichler: Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis, John Wiley, New York 1942. — Ein ausführlicheres Referat in deutscher Sprache: Mikrochemie 34, 39–61 [1948].

selbstverständlich auch für Synthesen oder organische analytische Arbeiten verwendet werden. Sublimation und Destillation sind ohne weiteres möglich; auch sollte es keine Schwierigkeit bereiten, die Kapillarspitzröhrchen auf einer geeigneten Waage zu wägen. Titrationen unter dem Mikroskop wurden bereits von Anne G. Loscalzo<sup>8)</sup> ausgeführt. Zu Kristallfällungen benutzt man eine mit Paraffin begrenzte Fläche von etwa 0.01 bis 0.07 mm<sup>2</sup> Inhalt.



### Qualitative organische Analyse

In der Annahme, daß der schwierigste Teil einer organischen Synthese die Isolierung des gewünschten Stoffes aus dem Reaktionsgemisch ist, wurde die organische qualitative Analyse bereits vor langer Zeit als Lehrgegenstand für vorgesetzte Studenten in den Ausbildungsplänen aufgenommen. Zum Erkennen der isolierten Stoffe werden zunächst Klassifizierungsproben ausgeführt, die zu Elementarzusammensetzung und zu funktionellen Gruppen (OH, COH, COOH usw.) führen. Außerdem wird die Löslichkeit als Merkmal in dem viel benutzten Klassifikationsverfahren von Mülliken<sup>9)</sup> benutzt. Anweisungen zum Trennen und Erkennen der Stoffe mit Halbmikromengen werden von Cheronis und Entrikin<sup>10)</sup> gegeben. Mikrochemische Arbeitsverfahren für Zentigramm- und Milligramm-Mengen wurden von F. Schneider in Buchform<sup>11)</sup> zusammengestellt.

Bezüglich der Verwendung von Mikromethoden zur Bestimmung physikalischer Konstanten zur Reinheitsprüfung oder Erkennung sei auf ein zusammenfassendes Referat verwiesen<sup>12)</sup>.

### Gravimetrie und Waagen

Es ist zur Genüge bekannt, daß statistische Verfahren in den Vereinigten Staaten sich besonderer Schätzung erfreuen. Symposia und Veröffentlichungen<sup>13)</sup> über die statistische Auswertung von Analysenzahlen sind Zeuge dafür. Auf dem mikrochemischen Gebiet hat sich die Benutzung der Fehlerfortpflanzungsgesetze vorteilhaft gezeigt, da Wägungsfehler unter Umständen sehr störende Folgen haben können.

Es wurde anfangs angenommen, daß man mit der mikrochemischen Waage eine „Genauigkeit“ von  $1 \gamma = 0.001 \text{ mg}$  erreichen könne. Eine Untersuchung durch ein Komitee der Abteilung für analytische Chemie der American Chemical Society<sup>14)</sup> ergab jedoch, daß im allgemeinen ein mittlerer Fehler von  $\pm 3.4 \gamma$  der Einzelwägung anhaften wird (d. h. mindestens  $\pm 4.8 \gamma$  für die Differenzwägungen analytischer Arbeit). Abweichungen gleich dem Doppelten des mittleren Fehlers, deren zeitweiliges Auftreten man vernünftigerweise erwarten muß, würden dann bei Maßen von 1 mg einen Fehler von 1% verursachen. Später (1948) berichtete D. E. Hull<sup>15)</sup>, daß Wägezimmer, in denen die Temperatur in nahen Grenzen konstant auf Hauttemperatur, 30° C, gehalten wird, mit guten mikrochemischen Waagen einen mittleren Fehler der Einzelwägung von  $\pm 1 \gamma$  erreichen lassen.

Die hohen Konstruktionskosten und die damit verbundene Übervölkerung der Laboratorien bringt es mit sich, daß jedoch nur wenige Mikrochemiker einen idealen Waagerraum zur Verfügung haben. Man ist schließlich dazu übergegangen, nach

- <sup>8)</sup> Anne G. Loscalzo u. A. A. Benedetti-Pichler, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 17, 189 [1945].
- <sup>9)</sup> S. M. Mulliken u. E. H. Huntress: Methods for Identification of Pure Organic Compounds, 2. Aufl., John Wiley, New York 1946.
- <sup>10)</sup> N. D. Cheronis u. J. B. Entrikin, Semi Micro Qualitative Organic Analysis, Crowell, New York 1947.
- <sup>11)</sup> Qualitative Organic Microanalysis, John Wiley, New York 1946.
- <sup>12)</sup> L. T. Hallett, Review of Organic Microchemistry, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 14, 956–993 [1942].
- <sup>13)</sup> J. H. Davidson, Statistical Tests of Significance; W. J. Youden, Multiple Factor Experiments in Analytical Chemistry; P. J. Elving u. M. G. Mellon, Teaching Students How to Evaluate Data; J. C. Hintermaier, Foundations for Experimental Design, Analyt. Chemistry 20, 1132–1146 [1948]. — Grant Wernmont, Use of Control Charts in the Analytical Laboratory, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 18, 587 [1946].
- <sup>14)</sup> C. J. Rodden, J. A. Kuck, A. A. Benedetti-Pichler, A. Corvin, u. E. W. D. Huffman, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 16, 415 [1943].
- <sup>15)</sup> Siehe A. A. Benedetti-Pichler, Mikrochemie 34, 153 [1949].

Möglichkeit präzise analytische Waagen an Stelle der außerdentlich klimaempfindlichen mikrochemischen Waagen zu benutzen. Dabei braucht die Einwaage nicht einmal sehr vergröbert zu werden, da gute analytische Waagen amerikanischer Herkunft mittlere Fehler der Einzelwagung von  $\pm 0.01$  bis  $0.02$  mg geben, d. h., nur etwa 2 bis 5 mal weniger präzise als eine unter ungünstigen Bedingungen arbeitende mikrochemische Waage sind. Die Beziehung zwischen Präzision von Wägung und Analyseresultat einerseits und Größe der Einwaage andererseits ergibt sich aus dem Fehlerfortpflanzungsgesetz<sup>16)</sup>.

Ein abschließendes Urteil über die Bewährung neuer Typen mikrochemischer Waagen<sup>17)</sup> kann noch nicht gefällt werden. Ein Bericht von *W. M. Thornton*<sup>18)</sup> verleitet zur Annahme, daß es vielleicht günstiger wäre, mit Probierwaagen wie sie im Westen der Vereinigten Staaten gebaut werden, evtl. unter Zuhilfenahme von analytischen Waagen zu arbeiten. Untersuchungen über die Präzision von Wägungen und der Eichung der Gewichte sind an leicht zugänglicher Stelle veröffentlicht<sup>19)</sup>.

*Kirk* und *Schaffer*<sup>20)</sup> geben eine genaue Beschreibung der Herstellung von einfachen Federwaagen bei der die Ausdehnung einer Quarzspire entweder unmittelbar auf einen Maßstab oder mit Hilfe eines Kathetometers abgelesen wird. Unter Benutzung automatischer Vorrichtungen ist es leicht, Federn mit hundert Windungen herzustellen. Durch geeignete Wahl der Zahl der Windungen und der Stärke des Quarzfadens kann die Empfindlichkeit in weiten Grenzen (z. B. 0.009 bis 1 mg per mm Dehnung) geändert werden. Die billig herzustellenden Instrumente sind über einen weiten Temperaturbereich verwendbar. Bei der sehr einfachen Federwaage von *Lowry*<sup>21)</sup> wird die Veränderung der Lage des belasteten freien Endes einer geraden Quarzkapillare, die am anderen Ende eingespannt ist, mit Hilfe eines Kathetometers bestimmt. Bei einer Maximalbelastung von 0.3 mg kann eine Präzision von 0.1 γ erreicht werden. *Kirk*, *Craig*, *Gullberg* und *Boyer*<sup>22)</sup> verfeinerten die Torsionswaage von *Neher*<sup>23)</sup>, bei der der Quarzbalken von dem Torsionsfaden aus Quarz getragen wird. Bei einer Tragkraft von mehreren Zehntelgrammen wird eine Empfindlichkeit von 0.005 γ erreicht. Die Belastung je Schale kann auf 5 g erhöht werden, indem man außer dem Torsionsfaden einen zweiten stärkeren Quarzfaden benutzt, der das Gewicht des Balkens trägt. Eine derartige Quarz-Mikrowaage ist derzeit für \$ 2500.00 im Handel erhältlich<sup>24)</sup>. Am interessantesten jedoch ist eine Beschreibung<sup>25)</sup> des Verfahrens und der Hilfsgeräte für die Herstellung des Quarzbalkens in einer systematischen Weise, die es ermöglichen soll, eine gewählte Balkenform ohne besondere Geschicklichkeit nach Belieben reproduzieren zu können. Die für Adsorptionsstudien bestimmte Quarzwaage von *Barrett*, *Birnie* und *Cohen*<sup>26)</sup> gibt eine Empfindlichkeit von 0.001 γ. Der Balken ist auf einem Wolfram-Draht von 0.0017 mm Durchmesser befestigt. In einem versilberten Vakuummantel eingeschlossen ist er zur Konstanterhaltung der Temperatur in ein Wasserbad eingetaucht. Um elektrische Störungen zu vermeiden, müssen die universilberten Fenster im Mantel klein gehalten werden, obschon Balken und Gehäuse geerdet sind. Die Erfahrungen dieser Autoren zeigen deutlich, daß es ratsam ist, die Konstruktion hochempfindlicher Waagen so kompakt als möglich zu halten, da die Formveränderungen aller sich einschiebenden Konstruktionsteile (Tisch, Fußboden, Stativ usw.) einen merkbaren Einfluß auf die Ablesungen haben.

<sup>16)</sup> A. A. Benedetti-Pichler, Ind. Engng. Chem., Analys. Edit. 11, 226 [1939]; Mikrochemie 25, 390 [1939]. Derselbe mit R. A. Paulson, Mikrochemie 27, 339 [1939].

<sup>17)</sup> S. z. B. I. Feuer, Mikrochemie 35, 419 [1950].

<sup>18)</sup> Mikrochemie 35, 431 [1950].

<sup>19)</sup> A. A. Benedetti-Pichler, Mikrochemie 34, 153, The Precision of Weighings; 34, 241, Suggestions to the Calibration of Weights; und 34, 298, Accuracy and Precision of Richards' Method for the Calibration of Weights [1949].

<sup>20)</sup> P. L. Kirk u. F. L. Schaffer, Rev. Sci. Instruments 19, 785–790 [1948].

<sup>21)</sup> O. H. Lowry, J. biol. Chemistry 140, 183–189 [1941].

<sup>22)</sup> P. L. Kirk, R. Craig, J. E. Gullberg u. R. Q. Boyer, Analytical Chemistry 19, 427 [1947]; s. a. P. L. Kirk: Quantitative Ultramicroanalysis, John Wiley, New York 1950.

<sup>23)</sup> H. V. Neher in J. Strong: Procedures in Experimental Physics, Prentice-Hall, New York 1942.

<sup>24)</sup> T. H. Garner, Vortex Company, Claremont, California.

<sup>25)</sup> P. L. Kirk u. R. Craig, Rev. Sci. Instruments 19, 777–784 [1948].

<sup>26)</sup> H. M. Barrett, A. W. Birnie u. M. Cohen, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2839–2844 [1940].

## Organische Elementaranalyse

Die *Pregl*schen Verfahren wurden im allgemeinen beibehalten, doch trat bereits in den Dreißigerjahren die Bestrebung auf, Verbrennungen automatisch zu gestalten. Für Einzelheiten sei auf den Bericht von *L. T. Hallett*<sup>27)</sup> verwiesen. Für die direkte Bestimmung des Sauerstoffes hat sich das Verfahren von *Unterzaucher* wohl am besten eingeführt. Ein hierfür geeigneter Verbrennungsöfen und die Herstellung einer wirksamen Kohlefüllung werden von *Aluise*, *Hall*, *Staats* und *Becker*<sup>28)</sup> beschrieben. *Dinerstein* und *Klipp*<sup>29)</sup> berichten über eine Modifikation zur Bestimmung des Sauerstoffes in Petroleumprodukten. Im *van Slyke*-Apparat kann die Bestimmung von 0.3 bis 0.7 mg Kohlenstoff rasch und mit einer Präzision von fünf Teilen in tausend durchgeführt werden<sup>30)</sup>. Diese sehr vielseitige Arbeitsweise wird daher auch zuweilen zur Nachprüfung der durch Verbrennung erhaltenen Kohlenstoffwerte herangezogen.

Besonders sei auf die Veröffentlichungen von *Alber*<sup>30)</sup> über das Trocknen und Wägen hygrokopischer Substanzen hingewiesen. Für die Bestimmung des Molekulargewichtes sollte *Niederl*<sup>31)</sup> handliche Modifikation der *Barger*-Methode nicht übersehen werden.

## Titrimetrie

Die Bestrebungen von *P. L. Kirk* und seinen Mitarbeitern an der University of California, hochempfindliche Titrierverfahren für die Zwecke biologischer Forschung auszubilden, laufen jenen der Gruppe um *Linderström-Lang* am Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen ungefähr parallel. Zusammenfassende Darstellungen beider Arbeitsweisen liegen in der amerikanischen Literatur vor<sup>32), 33)</sup>. Die Apparate von *Kirk* sind übrigens auch an leicht zugänglicher Stelle<sup>34)</sup> beschrieben. In „Teflon“ (Polytetrafluoräthylen) scheint nun schließlich ein geeignetes Dichtungsmaterial für den in Quecksilber tauchenden Kolben der *Kirk*-Bürette gefunden zu sein. Im übrigen ist jener Bürettentypus, bei dem der Ausfluß lediglich durch das Senken und Heben der sehr feinen Bürettenspitze in bzw. aus zu titrierende Lösungen reguliert wird, weder an Einfachheit noch an Verlässlichkeit zu übertreffen. Auch die von *Linderström-Lang* und *H. Holter* benutzte Modifikation der *Rehberg*-Bürette fällt in diese Klasse, wie aus der Veröffentlichung von *Heatley*<sup>35)</sup> deutlich zu ersehen ist. Die einfachste Ausführungsform ist durch die Horizontalbürette von *Anna-Greta Hybbinette*<sup>7, 36)</sup> gegeben, die man beinahe kostenlos mit geringer Mühe selbst herstellen kann.

Es ist selbstverständlich, daß die durch Benetzung der Wand zurückbleibende Flüssigkeit relativ anwächst wenn das Lumen des Rohres verkleinert wird. Es scheint<sup>9)</sup>, daß dies für einen Rohrdurchmesser von etwa 0.3 mm ein Maximum – 25% des enthaltenen Wassers – erreicht. Engere Kapillaren liefern bei langsamer Entleerung höhere Prozentsätze der enthaltenen wäßrigen Lösung, z. B. 90% bei einem Durchmesser von 0.1 mm. Zum Vermeiden eines Nachlaufes muß die Entleerung der Kapillare sehr langsam vor sich gehen, so daß, je nach der Enge des Lumens, der Meniskus mit Geschwindigkeiten von 0.005 bis 5 mm/sec wandert. Da die Ausflußzeiten sich bei Büretten mit sehr feinen Spitzen sehr leicht regeln lassen, muß man annehmen, daß *P. L. Kirk* wegen der Schnelligkeit des Füllens und der geringen Gefahr der Verstopfung der Spitze an seiner Bürette mit verhältnismäßig weiter Auslauffönnung festhält, obschon ihr Gebrauch beträchtliche Übung voraussetzt.

Der Injektionsspritzentyp der Mikrobüretten hat den Vorteil, daß die durch den Kolben verdrängte Maßflüssigkeit leicht im absoluten Maß angegeben werden kann. Eine derartige

<sup>27)</sup> V. A. Aluise, R. T. Hall, F. C. Staats u. W. W. Becker, Analytical Chemistry 19, 347 [1947].

<sup>28)</sup> R. A. Dinerstein u. R. W. Klipp, ebenda 21, 545 [1949].

<sup>29)</sup> J. P. Peters u. D. D. Van Slyke: Quantitative Clinical Chemistry; Methods, Williams & Wilkins, Baltimore 1932. Zusammenfassende Darstellung der manometrischen Methoden.

<sup>30)</sup> H. K. Alber, Mikrochemie 25, 47, 167 [1938].

<sup>31)</sup> J. B. Niederl, D. R. Kasanof, G. K. Kisch u. D. Subba Rao, Mikrochemie 34, 132 [1949].

<sup>32)</sup> P. L. Kirk: Quantitative Ultramicroanalysis, John Wiley, New York 1950.

<sup>33)</sup> D. Glick: Techniques of Histo- and Cytochemistry, Interscience, New York 1949, betont die Verfahren vom Carlsberg Laboratorium.

<sup>34)</sup> P. L. Kirk, Mikrochemie 14, 1 [1933].

<sup>35)</sup> N. G. Heatley, ebenda 26, 147 [1939].

<sup>36)</sup> Ebenda 30, 15 [1942].

Bürette ist im Handel erhältlich<sup>37</sup>). Der Nachteil, daß derartige Büretten auch als Thermometer funktionieren, ist bekannt. Nach dem Injektionsspritzenprinzip arbeitende Pipetten<sup>32</sup>) sind für das Abmessen von niedrig siedenden organischen Lösungsmitteln und von Flüssigkeiten, die ätzende Dämpfe abgeben, sehr geeignet.

Durchsicht der Titrationskurven zeigt, daß es im allgemeinen vorteilhaft ist, die üblichen Konzentrationen von Lösungen und Maßflüssigkeiten auch bei Mikrotitrationen beizubehalten. Diese Forderung führt zum Arbeiten mit sehr kleinen Lösungsmengen: 0.1 ml auf dem Milligramm Maßstab und 0.1 mm<sup>3</sup> auf dem Mikrogramm Maßstab. Diese Angaben beziehen sich auf die Gesamtmenge der zu verwendenden Lösungen. Volumenmessungen müssen daher mit wenigstens tausendmal größerer Genauigkeit vorgenommen werden, was möglich ist. In dem Maße wie sich die Gesamtvolumen verkleinern, wachsen jedoch die Schwierigkeiten, die die Notwendigkeit der gründlichen Durchmischung der titrierten Lösung und die Erkennung des Endpunktes bereiten. Diesbezügliche Studien wurden im Milligramm-Maßstab von *Siggia*<sup>38</sup>) und im Mikrogramm-Maßstab von *Anne G. Loscalzo*<sup>8</sup>) ausgeführt.

### Gasvolumetrie und Gasanalyse

Die Weiterentwicklung des *Kroghschen* Apparates für die Analyse von Gasen durch *F. E. Blacet* und Mitarbeiter, *J. S. Swearingen*, *O. Gerbes* und *E. W. Ellis*, *M. H. Seavers* und *R. T. Stormont*, *T. C. Sutton* und schließlich *P. F. Scholander*, wird von *S. S. Burke*<sup>39</sup>) kurz zusammengefaßt. *Burkes* Gasbürette vereinigt gewisse Züge der Apparate der genannten Vorläufer und erreicht eine Meßgenauigkeit von 0.05 mm<sup>3</sup>. Die sehr einfache und schnell arbeitende Gasbürette von *Scholander*<sup>32, 40</sup>), die in ihrer Konstruktion der Mikrobürette von *W. Düsing*<sup>41</sup>) sehr ähnelt, läßt eine Meßgenauigkeit von ungefähr 0.001 mm<sup>3</sup> zu. Sie kann daher auch bei Gasbläschen, die bei Normalbedingungen weniger als 1 mm<sup>3</sup> messen, noch zufriedenstellende Resultate geben. Die Gasprobe wird in die Spitze einer sonst mit Quecksilber gefüllten Mikropipette zum Übertragen in die verschiedenen Absorptionslösungen aufgenommen. Die Volumenänderungen werden mit Hilfe des Kolsbens, der das Quecksilber betätigt und der aus einem Stahldraht von 0.3 mm Durchmesser besteht, bestimmt.

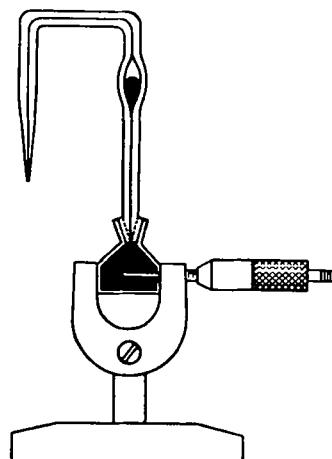


Bild 4

Injektionsspritzenprinzip. Bürette von *Scholander* in ein Schraubenmikrometer eingebaut, das die meßbare Verschiebung des in das Quecksilberreservoir eintauchenden drahtförmigen Kolbens ermöglicht.  
(*P. F. Scholander*, *Science* 95, 177 [1942]).

Die manometrische Arbeitsweise von *D. D. van Slyke*<sup>29</sup>) kann allgemein für gasvolumetrische Zwecke verwendet werden. Sie ermöglicht auch die Bestimmung kleiner Metallmengen, indem man das Metall erst in der Form einer organischen Ver-

<sup>37</sup>) *Gilmont-Ultra-Microburet*, The Emil Greiner Comp., 20–26 N. Moore Street, New York 13, N. Y., u. die 5 B-1 Syringe Microburet, Micro-Metric Instrument Company, 2891 East 79th Street, Cleveland 4, Ohio.

<sup>38</sup>) *A. A. Benedetti-Pichler* u. *Sidney Siggia*, *Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit.* 14, 662 (Evaporation of Standard Solutions from the Tips of Microburets), 828–832 (End Point of Microtitrations with Color Indicators) [1942].

<sup>39</sup>) *Mikrochemie* 35, 135 [1950].

<sup>40</sup>) *P. F. Scholander* u. *H. J. Evans*, *J. biol. Chemistry* 169, 551 [1947].

<sup>41</sup>) *W. Düsing*, *Chem. Fabrik* 7, 313 [1934].

bindung isoliert und dann eine Kohlenstoff-Bestimmung ausführt<sup>42</sup>). Mikrorespirometer vom *Barcroft-Haldane-Warburg*-Typ eignen sich für das Kleinstudium von Reaktionen, bei denen ein Gas aufgenommen wird. Für Volumenänderungen von etwa 0.1 mm<sup>3</sup>/h eignen sich Kapillarmikrorespirometer, denen eine Empfindlichkeit von 0.00005 mm<sup>3</sup> gegeben werden kann<sup>42</sup>).

### Colorimetrie und Spektrophotometrie

Optische Messungen aller Art sind mit kleinen Substanzmengen im Prinzip möglich, wenn es gelingt, die Substanz in einem genügend kleinen Querschnitt zu sammeln. *Emich* hat mit seiner koloristischen Kapillare und seinen Fadenreaktionen den Weg hierzu gewiesen. Die koloristische Kapillare wird in den Mikrokolorimetern von *G. W. Chapman*<sup>43</sup>), *J. C. Somogyi*<sup>44</sup>) und *D. Price* und *P. L. Kirk*<sup>32</sup>) verwendet. *Somogyi* benutzt eine Keilkompensation und die unter dem Mikroskop eingestellte Kapillare hat einen Fassungsraum von 0.01 ml. Die beiden anderen Instrumente benutzen das Prinzip von *Duboscq* und benötigen zwischen 0.05 und 0.5 ml Lösung. Mikroküvetten wurden für die beiden bekanntesten amerikanischen Spektrophotometer entwickelt: von *O. H. Lowry* und *O. A. Bessy*<sup>45</sup>) für das Instrument von *Coleman* und von *P. L. Kirk*, *R. S. Rosenfeld* und *D. J. Hanahan*<sup>32, 46</sup>) für jenes von *Beckman*. Die Küvette von *Lowry* und *Bessy* ist 10 mm weit und benötigt 0.5 ml (mit Einsatz 0.05 ml) Lösung. Die Kapillaren von *Kirk* und Mitarbeitern sind 50 mm lang und besitzen Durchmesser von 4 mm (0.6 ml Inhalt), 2 mm (0.15 ml Inhalt) oder 1 mm (0.04 ml Inhalt). Sie sind aus Polytetrafluoräthylen (Teflon) hergestellt, das von den üblichen Reagenzien und auch von organischen Lösungsmitteln beinahe gar nicht angegriffen wird. Auf diese Weise können Mengen von 0.001 bis 0.1 γ quantitativ erfaßt werden. Eine weitere, ungefähr zehntausendfache Steigerung der Empfindlichkeit wird von *Mirsky* und *Pollister*<sup>47</sup>) erhalten, indem sie die photoelektrische Messung im mikroskopischen Bilde der in Dünnschnitten entwickelten Färbung vornehmen.

Abschließend mag nochmals hervorgehoben werden, daß Hinweise auf hier nicht berücksichtigte Kapitel wie Bestimmung physikalischer Konstanten, Chromatographie<sup>48</sup>), Spuren suche, präparative Mikromethoden u. a. in der angeführten Literatur zu finden sind. In diesem Zusammenhang seien der Bericht von *L. T. Hallett*<sup>12</sup>) und das Buch von *P. L. Kirk*<sup>32</sup>) besonders erwähnt. Die von *S. Siggia*<sup>49</sup>) beschriebenen Verfahren für die Bestimmung von funktionellen Gruppen können nötigenfalls ohne Schwierigkeit auf den Zentigramm- oder Milligramm-Maßstab übertragen werden. Außerdem sei auf einen zusammenfassenden Bericht von *R. H. Müller*<sup>50</sup>) über die im chemischen Laboratorium verwendeten Apparate und Instrumente hingewiesen, obwohl er nicht auf die Spezialbedürfnisse des Mikrochemikers zugeschnitten ist. Im übrigen wird man beim Durchsehen der Zeitschriften „Analytical Chemistry“ (bis 1947 Analytical Edition von Industrial and Engineering Chemistry) und „Mikrochemie“ im Stande sein, sich über die Weiterentwicklung mikrochemischer Arbeitsweise in den Vereinigten Staaten auf dem laufenden zu halten. Fast jede Ausgabe der ersten Zeitschrift enthält auch eine von *W. McCrone* redigierte Spalte über kristallographische Konstanten organischer Verbindungen und einen Beitrag von *R. H. Müller* über Instrumentenkunde.

Eingeg. am 29. Januar 1951

[A 331]

<sup>42</sup>) *D. D. van Slyke* u. *F. J. Kreysa*, *J. biol. Chemistry* 142, 765–776 [1942] bestimmen z. B. das Calcium nach Fällung als Pikrolonat.

<sup>43</sup>) *Analyst* 55, 443 [1930].

<sup>44</sup>) *Nature [London]* 138, 763 [1936].

<sup>45</sup>) *O. H. Lowry* u. *O. A. Bessy*, *J. biol. Chemistry* 163, 633 [1946].

<sup>46</sup>) *P. L. Kirk*, *R. S. Rosenfeld* u. *D. J. Hanahan*, *Analytical Chemistry* 19, 355–357 [1947].

<sup>47</sup>) *A. E. Mirsky* u. *A. W. Pollister*, *J. Gen. Physiol.* 30, 117–148 [1946].

<sup>48</sup>) Eine bemerkenswerte Sammlung von Berichten über chromatographische Arbeitsweise ist in den Annals of the New York Academy of Sciences (Sitz am The American Museum of Natural History, Central Park West at 79th Street, New York 24, N. Y.) 49, 141–326 [1948] enthalten und kann als Separatabzug unter dem Titel „Chromatography“ bezogen werden.

<sup>49</sup>) *Sidney Siggia*: Quantitative Organic Analysis via Functional Groups, John Wiley, New York 1949.

<sup>50</sup>) *Ralph H. Müller*, *Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit.* 12, 571–630 [1940].