

# **Chemische Untersuchungen über die Mineralstoffe der Knochen und Zähne.**

Von

**Dr. S. Gabriel.**

(Mittheilung aus dem thierchemischen Institut der Universität Breslau.)  
(Der Redaction zugegangen am 11. Juli 1893.)

Von allen Geweben des Thierkörpers scheinen die Knochen und Zähne einer chemischen Untersuchung am leichtesten zugänglich zu sein. Ihr Reichthum an Mineralstoffen weist ihnen eine Ausnahmstellung zu, welche der scharfen morphologischen Abgrenzung dieser Gebilde entspricht, und der Erforschung ihrer qualitativen und quantitativen chemischen Zusammensetzung in hohem Maasse zu statten kommt. Während eine einigermaassen erschöpfende Analyse des Fleisches, Blutes u. s. w. zu den schwierigsten und doch nur unvollkommen lösbaren Aufgaben der analytischen Chemie gehört, lässt sich eine Untersuchung der Knochen in ihrem wesentlichsten Theile auf eine Mineralanalyse zurückführen, deren Methoden ungleich einfacher und genauer sind und um so vollkommener zum Ziele führen, als die Zahl der in den Knochen vorkommenden Stoffe eine relativ beschränkte ist.

Es darf daher nicht Wunder nehmen, wenn das dankbare Gebiet der Knochenchemie eine ausnehmend reiche Zahl von Bearbeitern gefunden hat. Wir besitzen nicht nur eine erdrückende Fülle von einzelnen Arbeiten und Monographien

über diesen Gegenstand, sondern auch grosse Werke, in welchen das in der Litteratur verstreute überreiche Material gesammelt und nach einheitlichen Gesichtspunkten geordnet ist. Trotzdem wäre es verfehlt, die Frage nach der Zusammensetzung der Knochen als abgeschlossen zu betrachten oder auch nur anzunehmen, dass sie ihrem Abschluss nahe geführt sei. Wir müssen im Gegentheil zugeben, dass selbst Fragen von fundamentaler Bedeutung, wie diejenige nach der Zugehörigkeit mancher Stoffe zur eigentlichen Knochensubstanz, noch ihrer endgültigen Lösung harren. Der Grund dafür liegt theils in der Unzulänglichkeit der Mittel, welche früheren Forschern zu Gebote standen, noch mehr aber in der Besonderheit der Ziele, welche sie mit ihren Arbeiten verfolgten.

Die Methoden der quantitativen Analyse waren noch am Anfange und sogar in der Mitte dieses Jahrhunderts nicht in allen Theilen soweit ausgebildet, um in Fragen von einschneidender Bedeutung das entscheidende Wort sprechen zu können. Wenn wir uns vergegenwärtigen, in welcher rohen und zum Theil auf ganz irrige Voraussetzungen gegründeten Art die Kohlensäure in den Knochen früher bestimmt wurde, so genügt dieser Rückblick, um uns zu der Erkenntniss zu bringen, dass diejenigen Knochenanalysen, welche weiter als fünfzig Jahre zurückdatiren, für uns ein vorwiegend historisches Interesse besitzen.

Auch unter den späteren Analysen finden sich solche, welche nur einen bedingten Werth haben, und zwar weniger wegen der Ungenauigkeit der Methoden, nach denen sie angestellt sind, als um des Materials willen, auf das sie sich beziehen. Bei den eigenartigen Strukturverhältnissen der Knochen ist die für die Vorbereitung derselben zur Analyse nothwendige Reinigung eine nicht immer leichte und doch sehr bedeutsame Aufgabe. Viele von den grossen und regellosen Schwankungen, denen wir in den Resultaten verschiedener Forscher begegnen und welche uns die Beurtheilung ihrer Analysen so sehr erschweren, können wir uns nur durch die mangelhafte Reinigung des Ausgangsmaterials erklären. Nichtsdestoweniger wäre es ungerecht, den betreffenden Forschern

aus der Nichtbeachtung eines so wichtigen Moments einen Vorwurf zu machen. Die Ideen, von denen sie sich bei ihren Analysen leiten liessen, waren eben ganz andere, als diejenigen, welche der Chemiker bei der Analyse eines Minerals im Auge hat, und erforderten demgemäss auch eine gesonderte Methodik der Untersuchung. Wir berühren damit eine Thatsache, welche bereits oben kurz angedeutet worden ist und noch etwas ausführlicher erörtert werden soll, weil sie auf die Entwicklung der Chemie der Knochen grossen Einfluss ausgeübt hat.

Wenn wir die Litteratur über die Zusammensetzung der Knochen durchmustern, so fällt uns gegenüber dem Reichtum an einzelnen diesem Thema gewidmeten Arbeiten eine gewisse Einseitigkeit in der Behandlungsweise des Letzteren auf. Es handelt sich nämlich weniger um die Zusammensetzung der Knochen an sich, als vielmehr um die Schwankungen und Veränderungen derselben, welche wir beobachten, wenn wir das Skelett verschiedener Thiere oder die einzelnen Knochen eines und desselben Skeletts mit einander vergleichen; oder wenn wir ferner die Knochen gleichartiger Thiere in Parallele stellen, welche unter verschiedenen Existenz- und Ernährungs-Bedingungen aufgewachsen sind. Wir haben es demnach mit vergleichenden Untersuchungen zu thun, deren Schwerpunkt nicht auf dem Gebiete der Chemie, sondern auf dem der Zoologie, bezw. Physiologie und Biologie liegt und in denen die chemische Analyse nicht als Selbstzweck, sondern nur als Mittel zum Zweck figurirt. Wir finden es daher erklärlich, wenn in den eben gekennzeichneten Arbeiten die Zahl der Analysen eine grössere Rolle spielt, als ihre Genauigkeit und Vollständigkeit. In der That begegnen wir in der Unmenge von Knochenanalysen recht selten solchen, welche auf Vollständigkeit Anspruch machen können. Die meisten Autoren begnügen sich damit, die vier Hauptbestandtheile der Knochen, Kalk, Magnesia, Phosphorsäure und Kohlensäure zu bestimmen, während sie die in geringerer Menge vorkommenden Stoffe als für ihre Zwecke belanglos unberücksichtigt lassen.

Wenn nun auch zugegeben werden muss, dass eine derartige Versuchsanordnung gestattet, den beabsichtigten Vergleich strikt durchzuführen und den Interessen des Zoologen und Mediciners vollauf gerecht zu werden, so ist doch andererseits klar, dass der Chemiker dabei zu kurz kommen muss. Eine unvollständige Analyse bietet nicht nur alle die Nachteile, welche einem Fragment seiner Natur nach überhaupt anhaften, sondern macht z. B. die so wichtigen Erörterungen über die Basicität oder Acidität des Knochenphosphats zur Unmöglichkeit. Alle Betrachtungen über die Constitution der Knochen, welche sich auf unvollständige Analysen stützen, verlieren sich weit in das Gebiet der grauen Theorie und müssen vom Standpunkt der exacten Forschung als verfrüht bezeichnet werden. Eine Discussion über Constitutionsfragen kann eben erst beginnen, wenn die chemische Analyse, als natürliche Basis derselben, abgeschlossen ist.

Scheiden wir aus der Gesammtheit aller einschlägigen Arbeiten diejenigen aus, in welchen das Interesse des Mediciners überwuchert oder doch mit demjenigen des Chemikers collidirt, so schrumpft das reiche Material zu einer unverhältnissmässig kleinen Auslese von Untersuchungen zusammen, welche geeignet sind, zum Ausgangspunkt rein chemischer Betrachtungen zu dienen. Wenn nun schon die geringe Anzahl dieser Arbeiten eine Wiederholung und Ergänzung derselben wünschenswerth erscheinen lässt, so rechtfertigt sich dieser Wunsch in noch viel höherem Grade durch den Umstand, dass die verschiedenen Forscher in ihren Resultaten und vor allen Dingen in der Deutung derselben erheblich von einander abweichen, ja bisweilen ganz entgegengesetzte Wege wandeln.

Von diesen Erwägungen liess ich mich bei Anstellung der vorliegenden Versuche leiten. Dieselben schliessen alle Fragen rein physiologischer oder biologischer Natur aus dem Bereich ihrer Betrachtungen aus und haben die chemische Zusammensetzung der Knochen und Zähne als solche zum Gegenstand; sie beziehen sich ferner nur auf die mineralischen Bestandtheile der Knochen. Bei einer derartigen Beschränkung

des Themas konnte ich es nicht als meine Aufgabe betrachten, möglichst viele Objecte zu analysiren, vielmehr genügte es, die Untersuchung auf wenige Analysen zu beschränken, diese aber in möglichster Genauigkeit und Vollständigkeit zu geben.

## I.

**Ist das Fluor ein wesentlicher Bestandtheil der Knochenasche und in welchen Mengen findet sich dasselbe vor?**

Unter den noch schwebenden und der Aufklärung bedürftigen Fragen über die Zusammensetzung der Knochen muss diejenige nach dem Fluorgehalt derselben entschieden als die brennendste bezeichnet werden. Sie ist nicht nur an sich wichtig, sondern hängt auch aufs Innigste mit Fragen gleicher Art zusammen, deren Beantwortung die Möglichkeit einer klaren Vorstellung über den chemischen Bau der Knochen-substanz geradezu bedingt. Es war daher natürlich, dass dieser Gegenstand zunächst den Ausgangspunkt und späterhin das leitende Princip meiner Untersuchungen bildete.

Der Streit, ja man kann fast sagen der Kampf darüber, ob das Fluor ein wesentlicher Bestandtheil der Knochenasche sei, hat mehrere Generationen von Chemikern und Physiologen bewegt und während dieser Zeit so verschiedene Phasen durchlaufen, dass er am besten im Lichte seiner historischen Entwicklung dem Verständniss näher gebracht werden kann<sup>1)</sup>.

Die meisten Chemiker bekannten sich am Ende des vorigen Jahrhunderts auf Grund ihrer Analysen zu der Ansicht, dass die in den Knochen vorhandenen Säuren nicht hinreichten, um die Summe der Basen zu sättigen. Sie standen daher vor der Wahl, entweder ein basisches Salz in den Knochen anzunehmen oder nach einer neuen Säure zu fahnden, welcher die Aufgabe zufiel, die überschüssige Basis zu neutralisiren. Während die erstere Eventualität als teleologisch unwahrscheinlich wenig beachtet wurde, fand die zweite um so mehr Berücksichtigung, als sie dem Forschungstrieb einen

<sup>1)</sup> Ich folge hierbei theilweise den Angaben von Zalesky.

mächtigen Anreiz bot. Als nun Morichini (1)<sup>1)</sup> 1803 Fluor im fossilen Elfenbein entdeckte, schien die gesuchte Säure gefunden zu sein. Kurz darauf konnte John (2) Fluor in Mammuth-Knochen nachweisen. Auch Klaproth (3) fand Fluor in fossilen Elephantenzähnen, betrachtete dasselbe jedoch als Metamorphose von Phosphorsäure. 1805 vereinigte sich Morichini mit Gay-Lussac (4), um seine früheren Untersuchungen zu wiederholen und zu erweitern und gelangte zu dem Resultat, dass auch die Thiere der Gegenwart Fluor in ihren Knochen enthielten. Diese zweite Versuchsreihe wurde jedoch ebenso angefochten wie die erste. Fourcroy und Vauquelin (5), sowie Wollaston und Brande (6) bestätigten zwar das Vorkommen des Fluors in vorweltlichen Knochen, bestritten aber die Anwesenheit dieses Elementes im frischen Knochengewebe. 1807 bemächtigte sich Berzelius (7) des Gegenstandes und brachte die Morichini'sche Ansicht wieder zu vollen Ehren. Er begnügte sich nicht nur mit dem qualitativen Nachweis des Fluors in den Knochen des Menschen und verschiedener Thiere, sondern verstieg sich sogar zu quantitativen Bestimmungen, auf Grund deren er den Fluorgehalt der Knochen zu 1–2% schwankend angab. Berzelius (8) hat diese Zahlen später selbst als irrthümlich bezeichnen müssen, als er die Mangelhaftigkeit des von ihm benutzten Verfahrens zur Fluorbestimmung erkannt hatte. Auch die gewichtige Stimme des schwedischen Chemikers konnte die Gegnerschaft nicht zum Schweigen bringen. Den hartnäckigsten Widerstand leisteten Rees (9), sowie Girardin und Preisser (10). Im Lauf der vierziger Jahre trat immerhin eine gewisse Klärung der Ansichten insofern ein, als die meisten Chemiker auf die Seite von Berzelius traten, jedoch ausdrücklich hervorhoben, dass die frischen Knochen viel weniger Fluor enthielten, als die vorweltlichen. In diesem Sinne sprechen sich Erdmann (11), Marchand (12), Middleton (13), Daubeny (14), v. Bibra (15) und Wilson (16) aus. Manche von diesen Forschern glaubten,

<sup>1)</sup> Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die am Schlusse dieser Arbeit gegebene Litteratur-Uebersicht.

dass der Fluorgehalt der Knochen geradezu eine Funktion ihres Alters sei und deshalb als werthvolles Hilfsmittel zur Altersbestimmung prähistorischer Knochen benutzt werden könne. Im Jahre 1849 veröffentlichte W. Heintz (17) eine Reihe recht genauer Analysen, welche ihn zu dem Resultate führten, dass in den Knochen circa 2% überschüssige Basis vorhanden seien. Da nun in damaliger Zeit kaum noch Jemand an dem Vorhandensein des Fluors in den Knochen zweifelte, und die Anstellung der Aetzprobe überdies positive Resultate gab, so hielt sich Heintz für berechtigt, diejenige Fluormenge in den Knochen anzunehmen, welche dem überschüssigen Kalk äquivalent war. Um eine weitere Stütze für die Richtigkeit seiner Anschauung zu gewinnen, führte er eine Fluorbestimmung in folgender Art aus:

4 gr. Knochenpulver wurden verascht, die Asche mit der dreifachen Menge Natriumcarbonat zusammenschmolzen, die Schmelze mit Wasser extrahirt. Das Filtrat wurde auf ein kleines Volumen eingeeengt, mit Salzsäure vorsichtig angesäuert, einen Tag lang unter einer Glösglocke neben einer Lösung von Kaliumhydroxyd stehen gelassen, mit einer frisch filtrirten Mischung von Chlorcalcium und Ammoniak gefällt und der Niederschlag ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaF}_2$ ) gewogen. Durch Abrauchen mit Schwefelsäure entfernte Heintz das Fluor. Hierauf rührte er den Niederschlag mit Wasser an, fällte den Kalk mit Alkohol als Calciumsulphat, im Filtrat davon die Phosphorsäure als Ammoniummagnesiumphosphat. Aus diesen Daten « berechnet » Heintz den Fluorgehalt der Knochen zu 1% = 2,05% Fluorcalcium, oder der Knochenasche zu 2,97% Fluorcalcium, was mit den Berzelius'schen Angaben und seinen eigenen Anschauungen leidlich übereinstimmt.

Heintz giebt selbst zu, dass diese Bestimmung auf Genauigkeit keinen Anspruch machen könne, ist jedoch der Meinung, dass bereits die Quantität des basischen Ueberschusses einen genügend sicheren Anhaltspunkt für den Fluorgehalt darbiete. Ich habe die Methode von Heintz etwas näher beleuchtet, weil sie für die damalige Behandlung der vorliegenden Frage charakteristisch ist und deutlich zeigt, dass

nur ein auf theoretische Anschauungen gegründetes Vorurtheil den Autor veranlassen konnte, seiner Fluorbestimmung eine nennenswerthe Bedeutung beizumessen.

F. Hoppe-Seyler (18) konnte bei seinen Arbeiten über den Zahnschmelz das Fluor im unentwickelten Schweineschmelz nicht nachweisen, dagegen fand er es mit Sicherheit im ausgebildeten Menschen- und Schweineschmelz. Vergleichende, auf die Aetzprobe gegründete Versuche mit Calciumphosphat und Fluorcalcium belehrten ihn, dass der Gehalt des Schmelzes an Fluorcalcium 2% nicht erreichen kann. Aus der Thatsache ferner, dass der aus der salzsauren Lösung des veraschten Schmelzes mit Ammoniak fallende Niederschlag recht genau der Formel  $3 \text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$  entspricht, folgert Hoppe-Seyler, dass sich nur Spuren von Fluor im Schmelz der Zähne befinden. — Letzterer Schluss gründet sich auf eine Voraussetzung, deren Anfechtbarkeit sich auch aus vorliegender Untersuchung ergeben wird (vergl. S. 291 und 292).

Zalesky (20) hat bei seinen Untersuchungen über die Knochen dem Fluor eine ganz besondere Berücksichtigung zu Theil werden lassen. In der richtigen Erkenntniss, dass die bisherigen Zahlenangaben über dieses Element auf durchaus unsicherer Grundlage ruhen, hat er den aner kennenswerthen Versuch gemacht, den vielumstrittenen Stoff nach einer «directen» Methode zu bestimmen. Er wählte zu diesem Zwecke ein von v. Kobell (19) angegebenes Verfahren, welches er auf Hoppe-Seyler's Rath für den speciellen Fall der Knochenanalyse entsprechend modificirte. Die Methode beruht auf der Gewichtsabnahme, welche gutes, schwer schmelzbares Kaliglas erleidet, wenn man dasselbe längere Zeit bei mässiger Wärme der gleichzeitigen Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure und einer fluorhaltigen Substanz aussetzt. Fresenius bemerkt (26) mit Recht, dass die Zuverlässigkeit dieser Bestimmungsweise noch der directen Beweise bedürfe. Immerhin wird man Zalesky zugestehen müssen, dass die von ihm befolgte Methode nie zu denselben groben Irrthümern führen konnte, wie die von Berzelius und Heintz in Anwendung gebrachte. Seine Zahlen haben

daher auch heute noch als Maximalwerthe eine nicht zu unterschätzende Bedeutung.

Ich gebe sie nachstehend wieder:

Thierart.	F. %	CaF <sub>2</sub> . %
Ochse . . . . .	0,300	0,6163
Mensch . . . . .	0,229	0,4714
Testudo graeca . . . . .	0,204	0,4187
Foss. Rhinoceros-Zahnschmelz . . . . .	0,284	0,5922

Diese Resultate sind in doppelter Beziehung bemerkenswerth. Einmal weisen sie überraschend niedrige Fluormengen auf und dann lassen sie einen Unterschied im Fluorgehalt frischer und fossiler Knochen nicht erkennen.

Die Ergebnisse von Zalesky's Untersuchungen haben in der Folgezeit nicht die Beachtung gefunden, welche sie verdienen. Viel mag dazu der Umstand beigetragen haben, dass die neueren Forscher ihr Hauptaugenmerk auf eine Beobachtung lenkten, welche sämmtliche Analytiker bestätigten, ohne eine einwandfreie Deutung dafür zu geben. Führt man nämlich von allen bekannten Bestandtheilen der Knochen quantitative Bestimmungen aus, so ergänzt sich die Summe der erhaltenen Procentzahlen nicht zum vollen Hundert. Sie schwankt ungefähr zwischen 98,25 und 99,25 und nähert sich in der Regel der Zahl 99. Da nun fremdartige Stoffe bisher in der Knochenasche nicht aufgefunden werden konnten, so musste wiederum das Fluor dazu herhalten, das Manco zu decken. Die Fresenius'sche Methode der Fluorbestimmung (21), welche in demselben Jahre, wie die Untersuchungen von Zalesky erschien, hätte zwar ein vortreffliches Mittel geboten, über die Berechtigung dieses Verfahrens zu entscheiden; dieselbe erfordert aber zu ihrem Gelingen die peinliche Innehaltung so vieler Vorsichtsmassregeln, dass nur ein sehr umsichtiger, erfahrener und geübter Analytiker sich mit einiger Aussicht auf Erfolg an sie heranwagen darf; sie ist deshalb im Dienste der Knochenanalyse nicht recht zur Geltung gelangt. Vielmehr bürgerte sich mehr und mehr der Brauch

ein, das Fluor in den Knochen «aus der Differenz» zu bestimmen. Da nun das oben erwähnte Deficit die Quantität des Fluors nicht unmittelbar angibt, sondern noch um die dem supponirten Fluorgehalt äquivalente Menge Sauerstoff vermehrt werden muss; da ausserdem die betreffenden Analysen nicht immer ganz vollständig waren, so gelangte man auf diesem Wege unter Umständen zu Werthen, welche die alten Berzelius'schen noch erheblich überschritten. H. Weiske (30) findet z. B. in der Asche von Hühnerknochen 5% Fluor und darüber; ebenso berechnet E. Hiller (28) den Fluorgehalt verschiedener Gänseknochen zu 5—8%. Weiske macht selbst ausdrücklich darauf aufmerksam, dass die von ihm und seinen Schülern angegebenen Zahlen nicht ohne Weiteres als reiner Ausdruck des Fluorgehalts der Knochen angesehen werden können; er geht auf die präzise Bestimmung dieses Elementes nicht näher ein, weil dies für die von ihm behandelten biologischen Fragen völlig belanglos ist.

In neuester Zeit, als der experimentelle Theil der vorliegenden Arbeit bereits abgeschlossen war, veröffentlichte A. Carnot (31) ein Verfahren zur Bestimmung des Fluors, welches sich im Princip an die älteren Methoden anlehnt; er führt das Fluor auch in Fluorsilicium über, fängt dasselbe aber nicht, wie Fresenius, in gewogenen Absorptionsröhren auf, sondern leitet das Gas in eine Lösung von Fluorkalium und wägt das hierbei entstehende Kieselfluorkalium. Carnot (32) hat nach dieser Methode eine Anzahl Fluorbestimmungen ausgeführt und gelangt bei frischen Knochen zu folgenden Resultaten:

- I. Mittelstück eines menschlichen Schenkels.
- II. Kopf desselben.
- III. Schenkelknochen des Ochsen.
- IV. Knochen der Seekuh.
- V. Schenkelknochen des Elephanten.
- VI. Elefantenzahn.
- VII. Elfenbein.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
Ca F <sub>2</sub> % . . . .	0,35	0,37	0,45	0,63	0,47	0,43	0,20
F % . . . . .	0,17	0,18	0,22	0,31	0,24	0,21	0,10

Carnot's Zahlen bewegen sich, wie ersichtlich, etwa in denselben Grenzen, wie die von Zalesky mitgetheilten; sie fallen zum Theil sogar noch erheblich niedriger aus. Wenn man berücksichtigt, welche Fülle von Vorsichtsmassregeln nothwendig ist, um das Fluor quantitativ in Fluorsilicium überzuführen, dass man hierbei ebenso leicht zu viel als zu wenig Fluor erhalten kann, so wird man mit der Möglichkeit zu rechnen haben, dass obige Zahlen ganz oder zum Theil in die analytischen Fehlergrenzen fallen.

Fast gleichzeitig mit Carnot theilten Brandl und Tappeiner (33) ihre Versuche über Ablagerung von Fluorverbindungen im Organismus nach Fütterung mit Fluornatrium mit. Die Fluorbestimmungen wurden hierbei nach der Fresenius'schen Methode ausgeführt, welche Brandl in der Weise modificirte, dass er sich zur Innehaltung der constanten Temperatur von  $160^{\circ}$  eines Oelbades bediente. Die beiden Autoren, welche im Verlauf ihrer Untersuchungen sehr viele Bestimmungen ausführten, haben offenbar in der Handhabung der Fresenius'schen Methode eine grosse Uebung erlangt; es ist deshalb sehr bemerkenswerth, dass sie in der Asche von normalen Hundeknochen kein Fluor fanden, obgleich sie die stattliche Menge von 4 gr. zur Analyse verwandten.

Wenn wir aus vorstehender Litteraturübersicht das Facit ziehen, so müssen wir constatiren, dass die nach directen und vertrauenswürdigen Methoden angestellten Analysen von Zalesky, Cossa, Brandl und Tappeiner entweder sehr wenig oder gar kein Fluor in den Knochen finden liessen; dass demnach die neueste Entwicklung der alten Streitfrage sich auf die Seite derer neigt, welche die Anwesenheit von Fluor in den Knochen überhaupt läugnen.

Dem aufmerksamen Beobachter kann es nicht entgehen, dass mit dem Augenblick, wo das Fluor aus der Reihe der normalen Knochenbestandtheile ausscheidet, das bei der Berechnung der Knochenanalysen sich ergebende Deficit eine neue Erklärung erheischt. Beide Momente stehen in innigster Beziehung zu einander; es erschien mir daher wünschens-

werth, beide gemeinsam zu behandeln. Dementsprechend habe ich mir bei meinen Untersuchungen zunächst folgende Fragen vorgelegt:

1. Tritt das Deficit auch bei möglichst genauer und vollständiger Analyse der Knochenasche zu Tage?
2. Schwankt die Grösse des Deficits je nach der Art der zur Analyse der Asche angewandten Methode?
3. Steht die Grösse des Deficits in einem Abhängigkeitsverhältniss zu der etwa vorhandenen Fluormenge?

Als Analysenobject wählte ich Rinderzähne, weil dieselben verhältnissmässig leicht analysenrein zu beschaffen sind, und weil nach einer vielverbreiteten Ansicht gerade die Zähne der Hauptsitz des Fluors sein sollen. Die oberflächlich gereinigten Zähne wurden gemahlen und hintereinander mit Wasser, Alkohol und Aether erschöpft. Der Extractionsrückstand wurde erst bei gelinder Wärme verkohlt, dann zur lebhaften Rothgluth erhitzt und schliesslich über dem Gebläse weiss gebrannt. In der so erhaltenen Asche konnte Kalk, Magnesia, Kali, Natron, Phosphorsäure, Kohlensäure, Chlor nachgewiesen werden. Kieselsäure, welcher ich wegen ihres Einflusses auf den Fluornachweis meine besondere Aufmerksamkeit zuwandte, war nicht, Schwefelsäure nur in unbestimmbaren Spuren zugegen. Die Kohlensäure bestimmte ich nach Fresenius-Kolbe; die Alkalien und Chlor in allgemein üblicher Weise. Zur Bestimmung des Kalks, der Magnesia und Phosphorsäure bediente ich mich nachstehender fünf Methoden:

- I. Die salzsaure Lösung der Asche wurde mit Ammoniak bis zur Entstehung eines starken Niederschlages versetzt, letzterer in Essigsäure gelöst und der Kalk durch Ammoniumoxalat als Calciumoxalat gefällt; im Filtrat schied sich beim Uebersättigen mit Ammoniak die Magnesia mit der äquivalenten Menge Phosphorsäure aus; ebenso wurde der Rest der Phosphorsäure durch Magnesiamixtur als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt.
- II. Abscheidung der Phosphorsäure nach der Molybdänmethode (Fresenius, Quant. Analyse, 6. Auflage, Bd. 1, S. 404).
- III. Trennung der Phosphorsäure von den Basen durch Eisen (Fresenius a. a. O., S. 409).

IV. Trennung der Phosphorsäure von den Basen durch Zinn (Fresenius a. a. O., S. 406).

V. Trennung der Phosphorsäure von den Basen durch Silber (Fresenius a. a. O., S. 415).

Die hierbei erhaltenen Resultate<sup>1)</sup> sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Methode.	Ca O.	Mg O.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .	K <sub>2</sub> O.	Na <sub>2</sub> O.	CO <sub>2</sub> .	Cl.
	°.	°.	°.	°.	°.	°.	°.
I.	53,65	1,56	41,50	0,25	1,13	0,59	0,10
II.	—	—	41,64	»	»	»	»
III.	53,68	1,60	41,60	»	»	»	»
IV.	53,71	1,53	—	»	»	»	»
V.	53,65	1,53	41,47	»	»	»	»
Mittel.	53,67	1,56	41,55	—	—	—	—

Wie zu erwarten, stimmen die nach verschiedenen Methoden erhaltenen Werthe nicht geradezu absolut überein, die Schwankungen sind jedoch so geringfügig, dass sie die Grösse des sich etwa ergebenden Deficits nicht in nennenswerthem Grade beeinflussen, geschweige denn dasselbe ganz zum Verschwinden bringen können. Das Manco würde auch dann in fast vollem Umfange bestehen bleiben, wenn wir die Maximalzahlen combinirten. Stellen wir die Mittelwerthe zusammen,

Ca O . . .	53,67,
Mg O . . .	1,56,
K <sub>2</sub> O . . .	0,25,
Na <sub>2</sub> O . . .	1,13,
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . .	41,55,
CO <sub>2</sub> . . .	0,59,
Cl . . .	0,10,
	98,85,

so ergibt deren Summe 98,85, also eine Zahl, wie sie bei den meisten Analysen beobachtet wird und wesentlich dazu beigetragen hat, die Annahme von dem Vorhandensein grösserer

<sup>1)</sup> Dieselben stellen die Mittelzahlen von mindestens zwei gut übereinstimmenden Analysen dar.

Fluormengen in den Knochen zu unterstützen. Dem Einwand gegenüber, dass die Verschiedenartigkeit der oben skizzirten Methoden sich nicht eigentlich auf die Bestimmung der Knochenbestandtheile, sondern auf deren Trennung erstreckt, muss hervorgehoben werden, dass die Zuverlässigkeit der Fällung des Kalks als Oxalat und der Phosphorsäure als Ammoniummagnesiumphosphat wohl über jedem Zweifel erhaben ist, und eben nur die Trennung der Phosphorsäure von den Basen allenfalls zu Misstrauen Anlass geben kann. Die mitgetheilten Analysen sind jedoch geeignet, alle Bedenken zu zerstreuen. Wir müssen demnach die Existenz des Deficits als gesichert betrachten und haben nun zu prüfen, ob und inwieweit dasselbe auf Rechnung des Fluors zu setzen ist.

Wollten wir das Fluor allein für das von uns beobachtete Manco von 1,15% verantwortlich machen, so wären wir gezwungen, in der Asche der Rinderzähne den ansehnlichen Fluorgehalt von 2% anzunehmen. Wurde nun mit der muthmaasslich ziemlich fluorreichen Zahnasche die bekannte Aetzreaction angestellt, so fiel dieselbe äusserst schwach aus und liess die Gegenwart des Fluors überhaupt zweifelhaft erscheinen. Es kamen nur Hauchbilder zum Vorschein, welche bekanntlich für die Anwesenheit des Fluors nicht streng beweisend sind. Mischte man dagegen der Asche 2% Fluor in Form von reinem Fluorcalcium zu und stellten die Reaction unter sonst genau denselben Bedingungen an, so traten Aetzbilder auf, deren Schärfe nicht den geringsten Zweifel an dem Vorhandensein des Fluors aufkommen liess.

Ein anderes Resultat war auch kaum zu erwarten, wenn wir die Erfahrungen berücksichtigen, welche wir mit fluorhaltigen Mineralien zu machen Gelegenheit haben. Die gewöhnlichsten natürlichen Phosphate, Apatit, Phosphorit und ihre zahlreichen Varietäten kommen in ihrer Zusammensetzung der Knochenasche sehr nahe und weisen einen Fluorgehalt auf, welcher dem von uns in der Zahnasche muthmaasslich angenommenen annähernd entspricht. Prüft man nun diese Mineralien auf Fluor, so lässt allerdings die Aetzprobe wegen der gleichzeitig vorhandenen Kieselsäure bisweilen im Stich;

dagegen ist das Fluorsilicium ohne jede Schwierigkeit nachzuweisen und macht sich schon durch den Geruch in unangenehmster Weise bemerkbar. In Uebereinstimmung damit stehen die Beobachtungen in der Technik. Bekanntlich werden die Arbeiter der Superphosphatfabriken durch die aufsteigenden Dämpfe von Fluorwasserstoff und Fluorsilicium arg belästigt; auch an dem Mattwerden der Fensterscheiben ist die Wirkung der beiden Gase deutlich zu erkennen. In den Werken der Silesia hat man sogar versucht, die fluorhaltigen Dämpfe gleichzeitig unschädlich und nutzbar zu machen, indem man sie in Vorlagen leitet, in welchen sie sich unter Bildung<sup>1</sup> von Kieselfluorwasserstoffsäure verdichten (D. R. P. 53045 und 55153).

Es genügte demnach schon die Anstellung weniger Reactionen, um mit Bestimmtheit nachzuweisen, dass der Fluorgehalt der Zahnasche nicht im Entferntesten hinreicht, um das von uns beobachtete Deficit erklärlich zu machen. Es fragte sich jedoch, ob das Fluor nicht wenigstens bis zu einem gewissen Grade an dem Zustandekommen des Mancos beteiligt ist.

Eine exacte Beantwortung dieser Frage konnte nur von quantitativen Fluorbestimmungen erwartet werden. Einige orientirende Vorversuche zeigten deutlich, dass wir es nur mit winzigen Fluormengen zu thun hatten, bei welchen auch die bewährte Fresenius'sche Methode die Grenze ihrer Anwendbarkeit erreicht. Ich griff deshalb auf die Aetzprobe zurück und suchte mir ein sicheres Urtheil über die Genauigkeit und Empfindlichkeit derselben zu verschaffen, indem ich eine ganze Reihe vergleichender Versuche ausführte, welche theils an Zahnasche, theils an Mischungen derselben mit steigenden Mengen von reinem Fluorcalcium angestellt wurden. Um die Vergleichbarkeit der einzelnen Proben streng zu wahren, beobachtete ich hauptsächlich folgende Punkte:

Die zur Reaction benutzten Platintiegel hatten stets dieselbe Form und Grösse.

Das Gewicht der der Reaction unterworfenen Substanz betrug stets genau 1 gr.

Die Menge der zuzusetzenden Schwefelsäure war in allen Fällen auf 2,5 ccm. bemessen.

Die zur Aufnahme des Aetzbildes (immer in Form eines F) bestimmten Glasplatten waren sämmtlich aus derselben Scheibe geschnitten, bestanden also aus derselben Glassubstanz.

Zur Erzielung einer gleichmässigen Temperatur wurden die fertig beschickten Tiegel auf einen geheizten Wassertrockenschrank gestellt.

Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden.

Ich habe im Ganzen etwa 60 Proben ausgeführt<sup>1)</sup> und bin zu ganz unzweideutigen Resultaten gelangt. Eine Mischung von 0,960 gr. Zahnasche und 0,040 gr. Fluorcalcium lieferte ein Aetzbild, welches man nicht nur sehen, sondern geradezu greifen konnte. Reducirte man das Fluor auf den zehnten Theil, also auf 0,2%, so ist die Reaction immer noch sehr stark. Auch 0,1procentige Mischungen geben Bilder, welche an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig lassen. Bei peinlicher Innehaltung aller für das Zustandekommen der Reaction nothwendigen und günstigen Bedingungen gelingt es noch 0,05% Fluor nachzuweisen. Hier dürfte aber die Empfindlichkeit der Reaction ihre Grenze haben. Da die Schärfe der Bilder innerhalb gewisser Grenzen dem Fluorgehalt des Reaktionsgemisches proportional ist, so kommt der Aetzprobe ein hoher diagnostischer Werth zu, welcher es gestattet, sehr kleine Fluormengen — allerdings nur diese — annähernd zu schätzen.

Wenn wir die gewonnenen Erfahrungen auf die Zahnasche anwenden, so können wir mit einer jeden Zweifel ausschliessenden Sicherheit behaupten, dass der Fluorgehalt derselben 0,1% nicht erreicht. Berücksichtigen wir, dass indifferente Substanzen, wie Kieselsäure, Sand nur vereinzelt Hauchbilder geben, während letztere bei der Zahnasche ganz constant auftreten; erwägen wir ferner, dass wir mit der Aetzprobe noch 0,05% Fluor deutlich nachweisen können, so werden wir der Wahrheit ziemlich nahe kommen, wenn wir

<sup>1)</sup> Die Reactionen wurden sowohl mit Glühasche wie mit der später zu beschreibenden Glycerinasche angestellt.

den Fluorgehalt der von uns analysirten Zahnasche auf höchstens 0,05 % normiren.

Es war nun wichtig, zu ermitteln, inwiefern dieses Resultat einer Verallgemeinerung fähig ist. Zu diesem Zwecke untersuchte ich in gleicher Weise verschiedene Rinderzähne anderer Provenienz, ferner Zahnschmelz und Zahnbein getrennt, ausserdem Menschen-, Hühner-, Gänse-, Rinder- und Kaninchen-Knochen. Das Ergebniss deckte sich fast vollständig mit dem zuerst erhaltenen. Es wurden nur Hauchbilder beobachtet, welche als Ausdruck für einen minimalen Fluorgehalt angesehen werden müssen. Die einzige Ausnahme bildeten die Rinderknochen, deren Analyse später noch mitgetheilt werden wird. Dieselben lieferten ein zwar schwaches, aber deutliches bleibendes Bild, welches immerhin auf einen Fluorgehalt von knapp 0,1 % schliessen liess.

Ich möchte noch erwähnen, dass ich auch die auf der Bildung von Fluorsilicium beruhende Reaction zu Rathe gezogen habe; dieselbe steht zwar hinter der Aetzprobe an Empfindlichkeit erheblich zurück, das gänzliche Versagen der Reaction war jedoch bemerkenswerth, weil es die Anwesenheit von Kieselfluorwasserstoffsäure ausschloss.

Die von uns gefundenen Fluorwerthe sinken noch unter das Niveau von Carnot's Zahlen; sie sind überhaupt höchst unbedeutend und nähern sich in bedenklichem Grade der Null. Wir müssen sogar mit der Möglichkeit rechnen, dass es auch gänzlich fluorfreie Knochen und Zähne gibt. Ein sicheres Mittel, um hierüber Gewissheit zu erlangen, existirt zur Zeit nicht, denn sowohl die Methode von Fresenius wie die Aetzprobe lassen im Stich, sobald es sich um wenige Hundertstel Procente Fluor handelt. Aus diesem Grunde beweist auch die vereinzelte Analyse von Brandl und Tappeiner (33) keineswegs, dass die von ihnen untersuchten Hundeknochen fluorfrei waren; ihr Werth liegt nur darin, dass sie irgend nennenswerthe Fluormengen in den Hundeknochen mit Sicherheit ausschliesst.

Aus unseren bisherigen Versuchen geht hervor, dass die Knochen und Zähne höchstwahrscheinlich etwas Fluor ent-

halten; die Menge dieses Stoffes ist jedoch sehr geringfügig, sie schwankt in der Regel zwischen 0 und 0,05% und erreicht nur selten 0,1%. Ausser dem Fluor muss in den Knochen noch ein anderer Stoff in grösserer Menge vorkommen, welcher sich im gewöhnlichen Gange der Analyse der Bestimmung entzieht und daher ein Deficit veranlasst. Das Letztere betrug in unserem speciellen Falle 1,15%.

## II.

### **Ueber eine Methode, die Mineralstoffe der Knochen und Zähne ohne Anwendung von Glühhitze zu isoliren.**

Es ist allgemein üblich, die Analyse der Knochen an der Asche derselben, d. h. am Glührückstande auszuführen. Eine so gewaltsame Operation wie das Glühen bietet jedoch in analytischer Beziehung mannigfache Nachtheile, da sie uns die Bestandtheile der Knochen nicht unversehrt und unverändert überliefert und keine Garantien für die wirkliche Constitution der Mineralstoffe im frischen Knochen bietet. Seit langer Zeit hat man diesem Uebelstande bei der Kohlensäure Rechnung getragen, indem man dieselbe nicht in der Asche, sondern im ursprünglichen Knochen bestimmt (22 und 23, 24). Bei anderen Bestandtheilen ist jedoch dieses Verfahren nicht ausführbar. Von den Bedenken, welche gegen die Benutzung der Glühasche geltend gemacht werden können, erschienen mir besonders zwei berücksichtigenswerth:

Das Fluorcalcium ist zwar ein recht beständiger Körper, es gibt jedoch beim Erhitzen mit Wasserdämpfen Fluorwasserstoff ab. Infolgedessen kann beim Veraschen fluorhaltiger organischer Substanzen Fluor verloren gehen, wenn man ihnen nicht säurebindende Stoffe zusetzt. Allerdings haben Brandl und Tappeiner (33) im Gegensatz zu dieser Anschauung bei ihren Fluorbestimmungen in Harn, Koth und Knochen dieselben Resultate gefunden, gleichgültig, ob sie mit oder ohne Zusatz von Kalk veraschen.

Unbedingt zu vermeiden ist aber das Glühen, wenn es sich darum handelt, die Frage nach einem etwaigen Gehalt der Knochen an chemisch gebundenem Wasser zu diskutieren.

Ueber diesen Punkt existiren nur einige Vermuthungen, welche der experimentellen Prüfung dringend bedürftig sind.

C. A e b y (23) hat das Veraschen der Knochen dadurch zu umgehen gesucht, dass er seine Analysen an fossilem Elfenbein ausführte, welches vollkommen frei von organischer Substanz war. Abgesehen davon, dass man zur Beschaffung dieses Materials auf seltene Zufälle angewiesen ist, kann dagegen, wie dies von F. W i b e l (25) geschehen ist, der berechnete Einwand erhoben werden, dass es gewagt ist, von der Zusammensetzung des fossilen Elfenbeins auf diejenige der frischen Knochen zu schliessen.

Nach vielen vergeblichen Versuchen, deren Aufzählung zu weit führen würde, habe ich in dem Glycerin ein Mittel gefunden, welches im Stande ist, den Knochen in der Hitze sämtliche organische Substanz zu entziehen. Zur Extraction der letzten Spuren von Leim ist allerdings geraume Zeit erforderlich. Wesentlich abgekürzt konnte die Operation werden, wenn man dem Glycerin etwas Kaliumhydroxyd zusetzte. Ich benutzte stets eine Lösung von 30 gr. Kaliumhydroxyd in 1000 cbcm. Glycerin, eine Mischung, welche ich unter dem Namen Glycerinkalilauge bereits zur Isolirung und Bestimmung der Cellulose in vegetabilischen Substanzen empfohlen habe (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 16, S. 370), und verfuhr folgendermassen:

In ein circa 250 cbcm. fassendes Kölbchen bringt man 10—15 gr. getrocknete und gepulverte Knochen und 75 cbcm. alkalisches Glycerin, erhitzt allmählig unter häufigem Umschütteln bis 200° und erhält auf dieser Temperatur ungefähr eine Stunde lang. Die Einwirkungsdauer hängt im Wesentlichen von der Festigkeit des Knochengewebes und dem Feinheitsgrade des Pulvers ab. Die bis auf 150° erkaltete Masse entleert man in eine Schale, in welcher sich 500 cbcm. siedendes Wasser befinden, rührt um, lässt absitzen und zieht die überstehende Flüssigkeit mit einem mit Leinwand überspannten Heber ab. Letztgenannte Operationen wiederholt man so lange, bis das Waschwasser keine Spur alkalischer Reaction mehr zeigt. Der Rückstand wird auf ein Filter gebracht und bei 100° getrocknet.

Auf diese Weise erhält man ein weisses, bisweilen mit einem Stich ins Gelbliche versehenes Pulver, welches beim Glühen keinerlei Bräunung zeigt und die Struktur der ursprünglichen Knochen getreu wiedergibt; es ist sehr hygroskopisch, knirscht zwischen den Zähnen, wird beim Reiben stark elektrisch, und löst sich mit äusserster Leichtigkeit in Säuren. Ich werde diese Substanz späterhin der Kürze wegen als Glycerinasche bezeichnen.

Nachdem wir gezeigt haben, dass es möglich ist, die Mineralstoffe der Knochen ohne Anwendung von Glühhitze zu isoliren, haben wir den bei Weitem wichtigeren Nachweis zu führen, dass die Glycerinasche die Gesamtheit der in den Knochen enthaltenen Mineralstoffe unverändert zum Ausdruck bringt.

Ein indirecter Beweis dafür kann in der Thatsache erblickt werden, dass künstliches Calciumphosphat seine Zusammensetzung nicht ändert, wenn man es mit Glycerinkalilauge erhitzt. Einen directen Beweis liefert die Analyse der Glycerinasche selbst. Wir beschäftigen uns zunächst mit derjenigen Asche, zu deren Darstellung die früher besprochenen Rinderzähne gedient haben.

Wegen der Hygroskopicität der Substanz wandte ich dieselbe im lufttrockenen Zustande an, bestimmte ihren Wassergehalt, und berechnete die Analysen auf Trockensubstanz.

Zur Bestimmung des hygroskopischen Wassers erhitzte ich eine abgewogene Quantität auf  $130^{\circ}$  C. Nach vier Stunden trat in der Regel völlige Gewichtsconstanz ein. Erhitzte man die Substanz jedoch noch höher, etwa auf  $350^{\circ}$ , so ergab sich ein weiterer Gewichtsverlust, welcher, wie leicht gezeigt werden konnte, wiederum durch Entweichen von Wasser bedingt war. Stellt man den Versuch in einem Glasröhrchen an, so erhält man einen wässerigen Beschlag, welcher neutral reagirt. Diese Neutralität verdient hervorgehoben zu werden, da bei wasserhaltigen, fluorreichen Mineralien dem Wasser in der Regel etwas Fluorwasserstoff beigemischt ist. Die Glycerinasche enthält also Wasser, welches bei  $130^{\circ}$  C. nicht ausgetrieben werden kann und deshalb als chemisch gebunden betrachtet werden muss.

Es könnte sehr zweifelhaft erscheinen, ob dieses Wasser auch im ursprünglichen Knochen vorkommt oder erst im Verlauf der Darstellung aufgenommen worden ist. Demgegenüber muss darauf hingewiesen werden, dass Calciumphosphat, wie schon erwähnt, unter gleichen Bedingungen kein Wasser bindet. Sehr bemerkenswerth ist ferner der Umstand, dass der Stickstoffgehalt der Knochen stets niedriger gefunden wird, als ihrem Gehalt von organischer Substanz entspricht. Leicht erklärlich wird diese Thatsache, wenn neben der eigentlichen Leims<sup>e</sup>substanz noch ein anderer, stickstofffreier Stoff vorhanden ist, welcher beim Glühen ebenfalls entweicht und deshalb den Stickstoffgehalt der organischen Substanz herabdrückt.

Auch C. Aeby (23) hat in dem von ihm untersuchten Elfenbein Wasser gefunden. Wenn nun auch zugegeben werden muss, dass seine Beobachtungen nicht ohne Weiteres auf frische Knochen übertragbar sind, so gewinnen sie doch im Verein mit den von uns ermittelten Thatsachen ein erhöhtes Interesse und erheben die Annahme des Vorkommens von gebundenem Wasser im ursprünglichen Knochen zu grosser Wahrscheinlichkeit. — Es dürfte nicht überflüssig sein, bei dieser Gelegenheit auf die Existenz natürlicher wasserhaltiger Phosphate, wie des von Sandberger entdeckten Isoklas ( $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9 + 5\text{H}_2\text{O}$ ), hinzuweisen.

Ich versuchte Anfangs das chemisch gebundene Wasser dadurch zu bestimmen, dass ich die in einem Platintiegel enthaltene Substanz über kleiner Flamme erhitze, ohne dass der Boden des Tiegels zum Glühen kam. Ich musste mich jedoch bald überzeugen, dass selbst bei dieser relativ niedrigen Temperatur schon Kohlensäure entwich. Diese Beobachtung, welche auch von Aeby (23), Wibel (25) u. A. gemacht worden ist, zeigt, dass die Kohlensäure nicht in der Form von Calcium- oder Magnesiumcarbonat, sondern als Phosphatcarbonat vorhanden ist, welches die Kohlensäure viel leichter verliert, als Calciumcarbonat. Ich führte daher die Wasserbestimmung in der Weise aus, dass ich die in einem Platinschiffchen abgewogene Substanz wie bei der Elementaranalyse in ein schwer schmelzbares Glasrohr brachte, sie im trocknen

Luftstrom zur Rothgluth erhitzte und die entweichenden Wasserdämpfe im gewogenen Chlorcalciumrohr auffing. Ausserdem ermittelte ich stets den Gewichtsverlust, welchen die Substanz beim Erhitzen zur Weissgluth (über dem Gebläse) erlitt. Bei dieser hohen Temperatur entweicht sowohl Kohlensäure als Wasser. Die Identität der hierbei erhaltenen Werthe mit der Summe von Kohlensäure und Wasser war eine Controlle für die Richtigkeit der ausgeführten Bestimmungen.

Ueber das Fluor ist bereits früher das Nöthige gesagt worden. Die Glycerinasche enthält nicht mehr Fluor als die Glühasche; ein Verlust an diesem Element tritt demnach beim Einäschern nicht ein.

Von sonstigen bemerkenswerthen Bestandtheilen waren in der Glycerinasche Chlor, Kali und Natron aufzufinden. — Heintz (17) hat die Anwesenheit des Chlors in den gereinigten Knochen entschieden in Abrede gestellt. Zalesky (20) dagegen hat diesen Stoff als integrirenden Bestandtheil der Knochenasche erkannt. Das Vorkommen von Chlor in der Glycerinasche schliesst jeden Zweifel an der Richtigkeit dieser Anschauung aus.

Die Alkalien sind meines Wissens bisher in der Knochenasche gar nicht gesucht worden. Da wo man sie fand, betrachtete man sie als durch die Ernährungsflüssigkeiten des Knochengewebes bedingte Verunreinigungen. Der constante und keineswegs geringfügige Gehalt der Glycerinasche an Kali und Natron liefert den unzweideutigen Beweis, dass auch diese Basen an der Zusammensetzung der Knochenasche wesentlichen Antheil nehmen.

Das Vorkommen der zuletzt genannten drei Stoffe ist auch in anderer Hinsicht interessant. Wenn Chlor, Kali und Natron der lösenden Wirkung des Glycerins und Wassers widerstehn, so beweist dieser Umstand, dass die Verkettung der einzelnen Bestandtheile des Knochenphosphats eine ungemein feste sein muss; wir haben daher um so weniger zu fürchten, dass die von uns angewandte Extractionsmethode an dem Gleichgewichtszustande des Phosphat-Moleküls irgend etwas Wesentliches ändert.

Die Bestimmung von Chlor, Kali und Natron geschah nach allgemein üblichen Methoden<sup>1)</sup>, diejenige von Kalk, Magnesia, Phosphorsäure nach dem früher als No. I bezeichneten Verfahren.

Ich gebe zunächst die Analyse zweier Aschen, welche sich auf dasselbe Material, nämlich die früher benutzten Rinderzähne beziehen, aber zu verschiedenen Zeiten dargestellt worden sind:

	1.	2.
Ca O . . . . .	50,65	50,76
Mg O . . . . .	1,52	1,52
K <sub>2</sub> O . . . . .	0,23	0,20
Na <sub>2</sub> O . . . . .	0,97	1,16
H <sub>2</sub> O . . . . .	2,27	2,21
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	38,78	38,88
CO <sub>2</sub> . . . . .	4,16	4,09
Cl . . . . .	0,05	0,05
Summe . . . . .	98,66	98,87

Die Uebereinstimmung der beiden Zahlenreihen ist eine so vollkommene, dass wir darin einen erneuten Beweis für die Brauchbarkeit unserer Extractionsmethode erblicken dürfen. — Zu demselben Resultate gelangen wir, wenn wir die Analyse der Glycerinasche mit derjenigen der Glühasche vergleichen. Bringen wir zu diesem Zweck die Glühasche auf denselben Wasser- und Kohlensäure-Gehalt, so ergibt sich Folgendes:

	Glycerinasche.		Glühasche.
	1.	2.	
Ca O . . . . .	50,68	50,76	50,59
Mg O . . . . .	1,52	1,52	1,47
K <sub>2</sub> O . . . . .	0,23	0,20	0,24
Na <sub>2</sub> O . . . . .	0,97	1,16	1,07
H <sub>2</sub> O . . . . .	2,27	2,21	2,21
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	38,78	38,88	39,13
CO <sub>2</sub> . . . . .	4,16	4,09	4,09
Cl . . . . .	0,05	0,05	0,09
Summe . . . . .	98,66	98,87	98,89

<sup>1)</sup> Bei der Alkalienbestimmung wurde die Anwendung von Glasgefäßen fast vollständig vermieden.

Von den vorkommenden Differenzen sind nur diejenigen, welche den Kalk- und Phosphorsäuregehalt betreffen, so gross, dass sie nicht ohne Weiteres mit Stillschweigen übergangen werden dürfen. Aber selbst, wenn man zugeben wollte, dass an ihrem Zustandekommen keine Analysenfehler mitgewirkt haben, halten sie sich doch in so engen Grenzen, dass sie die auf die Analyse der Glycerinasche sich stützenden Schlussfolgerungen nicht zu alteriren vermögen.

Im Uebrigen gelangen wir wiederum zu einem 1,23% betragenden Deficit, dessen Höhe uns ebenso wie früher zwingt, einen bisher nicht bestimmten Stoff in der Knochenasche anzunehmen.

### III.

#### **Analysen einiger durch Extraction mit alkalischem Glycerin hergestellter Knochen- und Zahn-Aschen.**

Wie schon Eingangs hervorgehoben wurde, entsprach es keineswegs dem Zweck dieser Arbeit, eine möglichst grosse Anzahl von Analysen auszuführen, vielmehr verschaffte ich mir zur Beurtheilung der bei der bisherigen Untersuchung der Glycerinasche gemachten Beobachtungen nur soviel analytisches Material, als nothwendig war, um alle Zufälligkeiten mit Sicherheit auszuschliessen. Ich habe daher in der früher beschriebenen Art und Weise noch Menschen-, Rinder- und Gänseknochen extrahirt und deren Asche analysirt. Ausserdem fand ich in der Glycerin-Extractionsmethode ein ausgezeichnetes Mittel, den Schmelz der Zähne quantitativ vom Zahnbein zu trennen. Bekanntlich hat die Schwierigkeit dieser Operation es mit sich gebracht, dass die Schmelz-Analysen ihrer Zahl nach recht beschränkt und die darin vorkommenden Schwankungen so gross sind, dass es uns schwer fällt, bestimmte Schlüsse daraus zu ziehen. Ich verfuhr in der Art, dass ich zunächst ganze Rinderzähne — von anderer Provenienz als die früher benutzten — mit Glycerinkalilauge erhitzte. Die Extraction der organischen Substanz war hierbei nur eine unvollkommene, genügte aber, um den Zusammenhang beider Gewebsarten derart zu lockern, dass sie sich entweder selbstthätig von einander ablösten oder mittelst

eines Messers leicht und quantitativ von einander getrennt werden konnten. Nach vollzogener Trennung wurde sowohl Schmelz wie Zahnbein gemahlen und von den letzten Resten organischer Substanz befreit.

Die qualitative Prüfung der aus vorgenannten Substanzen dargestellten Glycerinaschen bestätigte bis in alle Einzelheiten die Erfahrungen, welche wir bereits mit der zuerst besprochenen Zahnasche gemacht haben. Ueber die Resultate der quantitativen Bestimmungen geben folgende Zahlen Auskunft, welche stets das Mittel von mindestens zwei gut übereinstimmenden Analysen sind:

	Rinderzähne A.	Rinderzähne B.		Menschenknochen <sup>1)</sup> .	Rinderknochen <sup>2)</sup> .	Gänseknochen <sup>3)</sup> .
		Zahnschmelz.	Zahnbein.			
Ca O . . .	50,76	51,98	50,36	51,31	51,28	51,01
Mg O . . .	1,52	0,53	1,83	0,77	1,05	1,27
K <sub>2</sub> O . . .	0,20	0,20	0,14	0,32	0,18	0,19
Na <sub>2</sub> O . .	1,16	1,10	0,80	1,04	1,09	1,11
H <sub>2</sub> O . . .	2,21	1,80	2,90	2,46	2,33	3,05
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . .	38,88	39,70	38,60	36,65	37,46	38,19
CO <sub>2</sub> . . .	4,09	3,23	3,97	5,86	5,06	4,11
Cl . . . .	0,05	0,21	0,03	0,01	0,04	0,06
Summe <sup>4)</sup>	98,87	98,75	98,63	98,43	98,49	98,99

Trotz der Verschiedenheit in der Herkunft der untersuchten Aschen bietet ihre Zusammensetzung ein sehr einheitliches Bild. Fassen wir zunächst die vier Hauptbestandtheile der Knochen, Kalk, Magnesia, Phosphorsäure und Kohlensäure ins Auge, so weisen deren Quantitäten nur unerhebliche Schwankungen auf; dieselben verlaufen ausserdem keineswegs regellos, sondern folgen einer bestimmten Gesetzmässigkeit, auf welche, obgleich sie sehr in die Augen springt, meines

<sup>1)</sup> Oberarmknochen.

<sup>2)</sup> Schenkelknochen.

<sup>3)</sup> Sämmtliche Knochen eines Thieres.

<sup>4)</sup> Streng genommen müsste bei allen Analysen eine dem Chlorgehalt äquivalente Sauerstoff-Quantität in Abzug gebracht werden; ich habe diese Correctur nicht ausgeführt, weil sie bei der Geringfügigkeit der Chlormenge bedeutungslos ist.

Wissens noch nicht hingewiesen worden ist. Kalk und Magnesia einerseits, Phosphorsäure und Kohlensäure andererseits stehen nämlich in einem gewissen Compensationsverhältniss zu einander. Je höher der Kalk-, bezw. Phosphorsäure-Gehalt, um so geringer der Magnesia-, bezw. Kohlensäure-Gehalt. Beide Basen und beide Säuren ergänzen sich zu einer constanten Grösse. So finden wir in den Menschenknochen die grösste Menge Kohlensäure, gleichzeitig aber auch die geringste Menge Phosphorsäure. Ebenso ist im Zahnbein mit dem höchsten Magnesiagehalt der niedrigste Kalkgehalt verbunden. Summiren wir daher Kalk und Magnesia auf der einen, Phosphorsäure und Kohlensäure auf der anderen Seite, so

	Rinderzähne A.	Rinderzähne B.		Menschenknochen.	Rinderknochen.	Gänseknochen.
		Zahnschmelz.	Zahnbein.			
CaO . . .	50,76	51,98	50,36	51,31	51,28	51,01
MgO . . .	1,52	0,53	1,83	0,77	1,05	1,27
Summe .	52,28	52,51	52,19	52,08	52,33	52,28
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . .	38,88	39,70	38,60	36,60	37,46	38,19
CO <sub>2</sub> . . .	4,09	3,23	3,97	5,86	5,06	4,11
Summe .	42,97	42,93	42,57	42,51	42,52	42,40

verschwinden die Schwankungen oder reduciren sich doch auf ein so geringes Maass, dass wir wohl berechtigt sind, in gewissem Sinne von einer Constanz des Verhältnisses der in den Knochen vorkommenden Mineralstoffe zu sprechen.

Als weiteren instructiven Beleg für die Allgemeingültigkeit vorstehender Regel führe ich die Analysen von E. Wildt (22) an. Dieselben beziehen sich auf Knochenaschen von Kaninchen, deren Alter zwischen einem Tage (bei 1) und vier Jahren (bei 12) schwankt:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
CaO . . . . .	52,17	52,16	52,10	51,91	52,10	52,49	52,60	52,63	52,78	52,62	52,76	52,89
MgO . . . . .	1,38	1,36	1,26	1,22	1,09	1,01	1,02	1,05	0,93	0,91	0,93	0,83
Summe . . .	53,55	53,52	53,36	53,13	53,19	53,50	53,62	53,69	53,71	53,52	53,69	53,67
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	42,05	42,13	42,19	42,20	41,64	41,03	40,80	40,80	40,05	40,04	39,78	39,80
CO <sub>2</sub> . . . . .	3,65	3,84	3,99	4,00	4,52	4,69	4,92	4,94	5,54	5,71	5,81	5,66
Summe . . .	45,70	45,97	46,18	46,20	46,16	45,72	45,72	45,74	45,59	45,75	45,59	45,46

Obgleich mit zunehmendem Alter der Thiere der Kalkgehalt der Knochenasche nur eine geringe Steigerung erfährt, ist doch der Parallelismus im Wachsen des Kalkgehalts und Sinken des Magnesiagehalts unverkennbar. Dieselben Verhältnisse finden wir bei der Phosphorsäure und Kohlensäure wieder, nur ist die Compensation beider Stoffe noch viel auffälliger, weil die Schwankungen an sich grösser sind.

Eine gesonderte Betrachtung verdienen Schmelz und Zahnbein. Der Hauptunterschied beider Stoffe besteht darin, dass beim Schmelz eine auffällige geringe, beim Zahnbein eine auffällig grosse Menge Kalk durch Magnesia ersetzt ist. Der Kohlensäuregehalt ist gering, wie denn überhaupt die Zähne weniger Kohlensäure enthalten, als die Knochen.

Die Alkalien kommen etwa in derselben Menge wie die Magnesia vor, und zwar ist das Natron immer bei Weitem überwiegend.

Ueber das Fluor ist bereits früher gesprochen worden; hier nehmen die Rinderzähne insofern eine Ausnahmestellung ein, als ihr Fluorgehalt möglicherweise 0,1% erreichen kann.

Die Quantität des Chlors ist stets sehr gering, insbesondere erreicht der Chlorgehalt der Menschenknochen einen ganz minimalen Werth. Die einzige Ausnahme bildet der Schmelz, und es muss gerade ein relativ sehr hoher Chlorgehalt als ein Hauptcharakteristikum desselben betrachtet werden. — Auch F. Hoppe-Seyler (18) hat bei seinen Untersuchungen über die Constitution des Zahnschmelzes Chlor als wesentlichen Bestandtheil und zwar in Mengen von 0,3—0,5% gefunden.

Was schliesslich das Wasser betrifft, so schwankt dessen Menge zwischen 2—3%, ohne eine bestimmte Regelmässigkeit erkennen zu lassen. Eine solche haben wir allerdings auch kaum zu erwarten; denn wenn auch alle Anzeichen dafür sprechen, dass die ursprünglichen Knochen chemisch gebundenes Wasser enthalten, so müssen wir doch die Möglichkeit zugeben, dass die Menge desselben in obigen Zahlen

nicht immer mit derjenigen Genauigkeit zum Ausdruck kommt, auf welche die übrigen Werthe Anspruch machen können.

Wir sind nun auf Grund des gesammelten analytischen Materials in der Lage, uns darüber zu vergewissern, ob die in den Knochen vorhandenen Basen gerade hinreichend sind, die Summe der Säuren zu sättigen, d. h. ob die Mineralstoffe der Knochen nur aus Neutralsalzen bestehen, oder ob sich auf der einen oder anderen Seite ein Ueberschuss ergibt, welcher auf die Anwesenheit eines sauren oder basischen Salzes schliessen lässt.

Bei der Wichtigkeit des Gegenstandes ist derselbe vielfach erörtert worden. — Berzelius (8) hat darüber folgenden Versuch angestellt: Von zwei gleichen Theilen Knochenpulver benutzte er einen zur Bestimmung der Kohlensäure, den anderen veraschte er, löste die Asche in Salzsäure, fällte mit Ammoniak und bestimmte im Filtrat den Kalk durch Kaliumcarbonat. Er erhielt einen Niederschlag von Calciumcarbonat, dessen Menge der ermittelten Kohlensäure äquivalent war. Daraus schliesst Berzelius, dass die Zusammensetzung des Calciumphosphats der Knochen dieselbe ist, wie die des Ammoniakniederschlags. Da nun nach Berzelius' Analysen aus Lösungen, welche überschüssigen Kalk enthalten, Natriumphosphat einen Niederschlag fällt, welcher auf 3 Aeq.  $P_2O_5$ , 8 Aeq. CaO (statt 9 im normalen Phosphat) enthält, so schreibt Berzelius auch dem Knochenphosphat diese Zusammensetzung zu, betrachtet es also als ein saures Salz. Rammelsberg (35) hat aber nachgewiesen, dass aus einer Lösung, welche mehr Kalk enthält, als der zugehörigen Phosphorsäure entspricht, ein Niederschlag fällt, dessen Zusammensetzung zwar nicht ganz constant ist, sich aber der Formel des normalen Phosphats ( $P_2O_5 \cdot 3 CaO$ ) nähert. Aus unseren eigenen Untersuchungen geht, wie später gezeigt werden wird (s. S. 292), unzweifelhaft hervor, dass der aus der salzsauren Lösung der Knochenasche mit Ammoniak fallende Niederschlag basischer Natur ist. Berzelius' Schluss gründet sich also auf eine falsche Voraussetzung; sein Versuch spricht viel eher

für die Anwesenheit eines neutralen oder basischen, als eines sauren Phosphats.

Andere Chemiker wie Marchand (12), Boussingault (36), v. Bibra (15) betrachten das Knochenphosphat als dreibasisch phosphorsauren Kalk, ohne ihre Ansicht durch directe und entscheidende Versuche zu rechtfertigen.

Heintz (17) betrachtete es als Hauptaufgabe seiner Untersuchungen, hierüber Klarheit zu schaffen, und in der That sind seine Analysen viel besser dazu geeignet, als alle früheren. Sie stimmen sämmtlich darin überein, dass sich ein Ueberschuss von Basis herausstellt, welcher, auf Kalk berechnet, etwa 2% ausmacht. Da aber Heintz, dem Zuge der Zeit folgend, grössere Fluormengen in den Knochen annahm und durch eine vereinzelte, schon früher kritisirte, Fluorbestimmung in seiner vorgefassten Meinung noch bestärkt wurde, so liess er sich zu dem Fehlschluss verleiten, dass der überschüssige Kalk durch Fluorwasserstoff gesättigt werde und dass wir es in den Knochen nur mit Neutralsalzen zu thun hätten.

Obgleich Zalesky (20) nachgewiesen hat, dass der Fluorgehalt der Knochen nicht entfernt die von Berzelius und Heintz angegebene Höhe erreicht, hat er es doch unterlassen, die Heintz'sche Ansicht zu berichtigen; er spricht sich über diesen Punkt überhaupt nicht direct aus.

Kühne (37) weist darauf hin, dass ein den Stoffwechsel der Knochen ermöglichender Vorgang nur gedacht werden könne, wenn man das normale Calciumphosphat als blosse Durchgangsstufe eines basischen Salzes betrachte, welches zweifellos den überwiegenden Bestandtheil der Knochen bilde.

v. Recklinghausen (38) dagegen findet bei der Untersuchung junger Menschenknochen mehr Phosphorsäure, als zur Bildung von Tricalciumphosphat nöthig ist.

In ganz ähnlicher Weise wie Heintz operirt E. Wildt (22). Er findet in seinen zahlreichen und sehr genauen Analysen von Kaninchenknochen stets überschüssige Basis. Da er jedoch auf Grund des analytischen Deficits 1% Fluor und

darüber berechnet, so gelangt er nicht nur zur Annahme eines neutralen Phosphats, sondern spricht sich, wie Berzelius, für die gleichzeitige Anwesenheit eines sauren Salzes ( $\text{CaHPO}_4$ ) aus. Er geht sogar soweit, die Menge des Letzteren aus dem Aequivalentverhältniss zwischen Kalk und Phosphorsäure zu berechnen.

Seinem Beispiele sind später M. Schrödt (27) und E. Hiller (28) gefolgt.

Wildt sowohl wie Heintz verkennen die wahre Sachlage, weil sie einen Faktor in ihre Berechnungen einführen, welcher in Wirklichkeit gar nicht existirt. Ausserdem muss darauf hingewiesen werden, dass Wildt ebenso wie alle übrigen Analytiker die Alkalien nicht bestimmte, indem er sich für berechtigt hielt, die mit Wasser extrahirte Knochenasche als alkalifrei zu betrachten.

Im Gegensatz zu den meisten der bisher genannten Forscher hält C. Aeby (23) das Knochenphosphat für ein basisches, etwa der Formel  $3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2, \text{CaO}$  entsprechend. Nur der Zahnschmelz soll Tricalciumphosphat enthalten. Aeby hat seine Ansichten weniger auf Analysen, als auf Betrachtungen über die Metamorphose der Knochen gegründet. Die Neigung der fossilen Knochen, Fluor aufzunehmen, erklärt sich seiner Meinung nach daraus, dass der überschüssige Kalk sich allmählig mit Fluorwasserstoff sättigt. Beim Schmelz, welcher nur neutrales Phosphat enthält, kann eine solche Anreicherung mit Fluor nicht stattfinden; dagegen setzt sich derselbe mit dem gelösten Eisencarbonat der natürlichen Wässer zu Eisenphosphat (Vivianit) um, und färbt sich infolgedessen häufig intensiv blau.

Die Litteratur verzeichnet also alle Ansichten, welche überhaupt denkbar sind, ohne dass wir der einen oder anderen eine höhere Wahrscheinlichkeit zusprechen können.

Um mir ein anschauliches Bild über die Vertheilung von Säuren und Basen in den von mir analysirten Knochen und Zähnen zu verschaffen, habe ich die in der früher mitgetheilten Tabelle enthaltenen Procentzahlen durch das Aequivalentgewicht des betreffenden Stoffes dividirt und auf diese Weise

Werthe erhalten, welche die relative Anzahl der vorhandenen Aequivalente angeben:

Aequivalente.	Rinderzähne A.	Rinderzähne B.		Menschenknochen.	Rinderknochen.	Gänseknochen.
		Zahnschmelz.	Zahnbein.			
Ca O . . . . .	1,8128	1,8564	1,7986	1,8328	1,8314	1,8218
Mg O . . . . .	0,0760	0,0265	0,0917	0,0385	0,0525	0,0635
K <sub>2</sub> O . . . . .	0,0045	0,0043	0,0030	0,0068	0,0038	0,0040
Na <sub>2</sub> O . . . . .	0,0374	0,0355	0,0258	0,0335	0,0352	0,0358
Basische Aequivalente	1,9307	1,9227	1,9189	1,9116	1,9229	1,9251
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	1,6428	1,6775	1,6308	1,5385	1,5828	1,6136
CO <sub>2</sub> . . . . .	0,1859	0,1468	0,1805	0,2664	0,2355	0,1868
Cl . . . . .	0,0015	0,0059	0,0009	0,0003	0,0011	0,0017
Saure Aequivalente .	1,8302	1,8302	1,8122	1,8152	1,8139	1,8021
Basischer Ueberschuss	0,1005	0,0925	0,1067	0,0964	0,1090	0,1230

Das Wasser musste hierbei als Neutralkörper behandelt und ausser Rechnung gestellt werden; nach der Temperatur zu urtheilen, bei welcher es entweicht, besitzt es etwa die Funktionen des Krystallwassers.

Das Fluor habe ich unberücksichtigt gelassen, da es seiner äusserst geringen Menge wegen das Gesamtbild doch nicht zu beeinflussen vermag.

Würden in den Knochen nur Neutralsalze vorkommen, so müsste die Summe der basischen Aequivalente gleich derjenigen der sauren sein. Führen wir die betreffenden Additionen aus, so beobachten wir, dass sich Säuren und Basen nicht das Gleichgewicht halten, sondern dass sich ein Ueberschuss von Basis ergibt. Bei der Einheitlichkeit in der Zusammensetzung der verschiedenen Aschen fällt auch die Höhe dieses basischen Ueberschusses recht gleichmässig aus. Auf Kalk berechnet würde derselbe etwa 2,8% betragen. Nehmen wir aus vorstehenden Zahlen die Mittelwerthe, so gelangen wir zu folgender Bilanz:

1,9220 basische Aequivalente,

1,8173 saure Aequivalente,

0,1047 basischer Ueberschuss.

Aus derselben ergibt sich, dass in den Knochen ungefähr auf 19 Aequivalente Basis 18 Aequivalente Säure kommen. Natürlich können diese Zahlen nur als Annäherungswerthe Bedeutung beanspruchen.

Jedenfalls geht aus den soeben angestellten Betrachtungen mit Sicherheit hervor, dass die in den Knochen vorhandenen Säuren nicht ganz hinreichen, um die Summe der Basen zu sättigen, wenn auch der hierdurch bedingte Grad der Basicität ein sehr schwacher ist. Dieser Thatbestand lässt zwei Möglichkeiten zu: Entweder enthalten die Knochen nur ein einziges sehr schwach basisches Phosphat, oder es liegt ein Gemisch, bezw. eine lose Verbindung von neutralem und basischen Phosphat vor.

Ich hielt die letztere Eventualität von vornherein für die wahrscheinlichere. Es war mir deshalb interessant, das Verhalten der Glycerinasche gegen eine neutrale Lösung von Ammoniumcitrat kennen zu lernen. Bekanntlich sind die wasserhaltigen sauren und basischen Calciumphosphate «citratlöslich», während das Tricalciumphosphat der Petermann'schen Lösung widersteht.

Qualitative Versuche ergaben, dass sämtliche Glycerinaschen zu einem erheblichen Theile in Lösung gingen, wenn man sie bei 50° C. mit neutraler Ammoniumcitratlösung behandelte. Bei der Glycerinasche der Rinderzähne (A) habe ich den Grad der Löslichkeit quantitativ bestimmt und folgende Resultate erhalten:

	Ca O.	Mg O.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .
	o. o.	o. o.	o. o.
Gesamtgehalt . . . . .	50,76	1,52	38,88
Citratlöslich nach 15 Minuten langer Einwirkung bei 50° C. . . . .	18,70	1,00	14,43
Citratlöslich nach 30 Minuten langer Einwirkung bei 50° C. . . . .	29,04	1,52	22,28
Citratlöslich nach 90 Minuten langer Einwirkung bei 50° C. . . . .	29,29	1,52	22,69

Schon nach einer halben Stunde ist alles Lösliche in Lösung übergegangen; eine Verdreifachung der Einwirkungs-

dauer erhöht die Menge des löslichen Antheils nur ganz unwesentlich. Demnach haben wir die nach halbstündiger Einwirkung erhaltenen Werthe als Maximalzahlen aufzufassen. Ein Blick auf dieselben lehrt, dass die reichliche Hälfte des Knochenphosphats citratlöslich ist. Die Mineralstoffe der Knochen lassen sich also durch eine neutrale Lösung von Ammoniumcitrat in zwei ungleichartige Theile zerlegen, ein Verhalten, welches im Einklang mit der oben ausgesprochenen Anschauung steht, dass das Knochenphosphat ein Gemisch oder eine lose Verbindung eines neutralen und basischen Phosphates ist. Da die Magnesia vollkommen citratlöslich ist, so gehört sie wahrscheinlich nur dem basischen Phosphat an. — Ich komme auf diese Versuche noch einmal zurück.

Die Citratlöslichkeit der in den Knochen enthaltenen Phosphorsäure spricht übrigens in Uebereinstimmung mit den Ansichten von Holdefleiss und Marek und entgegen denjenigen von Wagner entschieden dafür, dass dem Knochenmehl eine sehr beachtenswerthe Bedeutung als Düngemittel zukommt.

#### IV.

#### Ueber die Ursache des bei der Analyse der Knochenasche auftretenden Deficits.

Wir haben bei unsern Betrachtungen über das in den Mineralstoffen der Knochen herrschende Verhältniss von Basen zu Säuren bisher ein wichtiges Moment ausser Acht gelassen, welches für diese Frage von entscheidender Bedeutung ist. Wie nämlich bei der Analyse der aus Rinderzähnen stammenden Glycerinasche, so hat sich bei allen übrigen Analysen das oft erwähnte Deficit eingestellt. Das constante Auftreten desselben sowie seine ansehnliche Höhe schliessen jeden Zweifel darüber aus, dass dasselbe nur zum allerkleinsten Theil durch Analysenfehler bedingt sein kann und dass es der Hauptsache nach auf Rechnung eines besonderen, bisher nicht bestimmten Körpers zu setzen ist. So lange wir über die Natur des Letzteren nicht im Klaren sind, können wir ein abschliessendes und endgültiges Urtheil über die Vertheilung von Säuren und

Basen in den Knochen nicht fällen, vielmehr müssen unsere früher entwickelten Ansichten über die Basicität der Knochenasche als vorläufige gelten, welche entsprechend zu modificiren sind, je nachdem sich der das Deficit bedingende Stoff als Neutralkörper, Säure oder Basis entpuppt.

Aus unsern bisherigen Beobachtungen geht nur soviel hervor, dass der zu suchende Stoff glühbeständig ist oder wenigstens in Form einer glühbeständigen Verbindung vorkommt, dass er durch die bei der Analyse der Knochenasche angewandten Reagentien nicht gefällt wird und dass er keine flüchtige Säure ist, welche durch Salzsäure oder Salpetersäure frei gemacht werden kann. Indem ich mir diese Anhaltspunkte zu Nutze machte, suchte ich mir ein für die qualitative Prüfung geeignetes Material in folgender Art zu verschaffen:

Je 25 gr. Glycerinasche wurden in wenig überschüssiger Salzsäure gelöst und aus der verdünnten Lösung Kalk, Magnesia und Phosphorsäure genau so gefällt, wie bei der quantitativen Bestimmung. Da jeder grössere Ueberschuss der Fällungsmittel für die spätere qualitative Analyse ein lästiger Ballast gewesen wäre, so ging ich nur wenig über die theoretisch nothwendige Menge hinaus, was durch Abwägen, bzw. Abmessen der betreffenden Reagentien leicht zu erreichen war. Das ammoniakalische Filtrat vom Magnesiumammoniumphosphat-Niederschlag wurde in geräumigen Platinschalen eingedampft, bei 130° C. getrocknet, und durch Glühen die Ammonsalze verjagt. Die auf diese Weise von ihren Hauptbestandtheilen befreite Glycerinasche musste neben Alkalien und dem geringen Ueberschuss der zugesetzten Magnesia den gesuchten Fremdkörper enthalten.

Ich habe daher diesen Rückstand einer eingehenden und nach den verschiedensten Richtungen ausgedehnten qualitativen Prüfung unterzogen. Das Resultat derselben war jedoch ein vollständig negatives. Ausser Magnesia, Kali, Natron und Chlor war nichts zu entdecken.

Besondere Aufmerksamkeit widmete ich dem etwaigen Vorkommen von Kieselfluorwasserstoffsäure oder Borsäure. — Ueber erstgenannte Substanz habe ich mich bereits gelegent-

lich der Besprechung des Fluors geäußert. Die zuletzt genannte Säure ist in neuerer Zeit in vielen Vegetabilien nachgewiesen worden. Zuletzt hat Deltour (34) auf den relativ hohen Borsäuregehalt der fleischigen Früchte, des Hopfens u. s. w. aufmerksam gemacht; er hat auch verschiedene Thierknochen in den Bereich seiner Untersuchungen gezogen und constatirt, dass dieselben borsäurefrei sind. — Ich habe nach demselben Verfahren gearbeitet, wie Deltour, nämlich nach der von Rosenblatt und gleichzeitig von Gooch angegebenen Methode, welche auf der Ueberführung der Borsäure in den flüchtigen Borsäure-Methyläther beruht. Ich konnte jedoch ebenfalls keine Spur Borsäure auffinden.

Da die soeben geschilderten directen Versuche zur Aufindung eines Fremdkörpers nicht den gewünschten Erfolg hatten, suchte ich auf einem indirecten Wege zum Ziel zu gelangen. — Zunächst bemühte ich mich zu ermitteln, ob der aus einer salzsauren Lösung der Knochenasche mit Ammoniak fallende Niederschlag bei seiner Analyse ebenfalls ein Deficit aufweist, welches auf die Anwesenheit eines fremden Stoffes schliessen lässt. Zur Darstellung des Ammoniakniederschlages diente die Glycerinasche des Zahnbeins. Dieselbe wurde in wenig überschüssiger Salzsäure gelöst, die Lösung stark verdünnt, zum Kochen erhitzt und mit Ammoniak gefällt. Der Niederschlag wurde heiss filtrirt, mit siedendem Wasser erschöpfend ausgewaschen, bei 100° C. getrocknet, gepulvert und in genau derselben Weise analysirt wie die ursprüngliche Asche. Die Analyse führte zu nachstehenden Zahlen:

	„
Ca O . . . . .	51,04
Mg O . . . . .	1,57
H <sub>2</sub> O . . . . .	4,99
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	40,91
Cl . . . . .	0,03
Summe . . . . .	98,54

Berechnet man die gefundenen Procentzahlen auf Aequivalente, so ergibt sich folgende Zusammenstellung:

Ca O . . .	1,8214 Aequivalente,
Mg O . . .	0,0785 »
Summe . . .	1,8999 basische Aequivalente.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . .	1,7286 Aequivalente,
Cl . . . . .	0,0009 »
Summe . . .	1,7296 saure Aequivalente.
	<hr/>
	0,1704 basischer Ueberschuss.

Der Ammoniakniederschlag zeigt in seiner Zusammensetzung grosse Aehnlichkeit mit der Asche, aus welcher er bereitet worden ist. Er stellt ein krystallwasserhaltiges, basisches (s. S. 264 u. 284) Phosphat dar, welches eine minimale Menge Chlor in Form einer nicht auswaschbaren Verbindung enthält. Obgleich neben den obengenannten Stoffen kein anderer vorhanden ist, gelangen wir doch wieder zu dem oft besprochenen Deficit. Dass an dem Zustandekommen desselben die unvermeidlichen Analysenfehler nur in geringem Maasse betheiligt sein können, geht schon daraus hervor, dass mit der Vereinfachung der Analyse keineswegs eine Verringerung in der Höhe des Fehlbetrages parallel geht. Wir müssen Letzteren daher wiederum als Indicator eines neuen Knochenbestandtheils betrachten.

Der besprochene Versuch bietet zwar für die Annahme eines Fremdkörpers in den Knochen eine neue Stütze, lässt aber die Natur desselben nur um so räthselhafter erscheinen. Während die Zusammensetzung des Ammoniakniederschlages darauf schliessen lässt, dass der gesuchte Stoff durch Ammoniak gefällt wird, mussten wir auf Grund der Erfahrungen, welche wir bei der gewöhnlichen Analyse der ursprünglichen Knochenasche machten, das Gegentheil annehmen.

Zur Aufklärung dieses Widerspruchs beschloss ich, den Versuch mit einem einfachen, künstlichen, nicht aus Knochen stammenden Calciumphosphat zu wiederholen. Reinstes isländischer Doppelspath, dessen Zusammensetzung genau der Formel CaCO<sub>3</sub> entsprach, wurde in wenig überschüssiger Salz-

säure gelöst, die Lösung stark verdünnt, mit einer zur Bildung von Tricalciumphosphat mehr als ausreichenden Menge Natriumphosphat versetzt, zum Kochen erhitzt und mit Ammoniak gefällt. Die weitere Behandlung des Niederschlages war die gleiche wie vorher. Die Analyse lieferte folgende Zahlen:

	o. o.	Aequivalente.
Ca O . . . . .	52,76	1,8843
H <sub>2</sub> O . . . . .	4,23	0,4700
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	41,66	1,7603
Cl . . . . .	0,03	0,0009
Summe . . . . .	98,68	0,1231 basischer Ueberschuss.

Obgleich das Calciumphosphat bei Gegenwart überschüssiger Phosphorsäure gefällt worden ist, besitzt es doch basischen Charakter (s. S. 264 u. 284); es enthält, wie der Ammoniakniederschlag, Krystallwasser und etwas Chlor, ist in einer neutralen Lösung von Ammoniumcitrat theilweise löslich und weist, obwohl es seiner Abstammung nach mit Knochen nichts gemein hat, doch in seiner Zusammensetzung mit dem Typus der in den Knochen vorkommenden Mineralstoffe eine unverkennbare Aehnlichkeit auf. Das Merkwürdigste aber ist, dass sich diese Aehnlichkeit auch auf das Auftreten des Deficits erstreckt. Dieser Versuch muss als das experimentum crucis angesprochen werden. Ich war mir bewusst, bei der Darstellung des Calciumphosphats nur Kalk, Phosphorsäure, Wasser, Salzsäure, Natron, Kohlensäure angewandt zu haben. Von diesen Substanzen enthielt der Niederschlag nur die ersten vier. An der Richtigkeit und Genauigkeit der Bestimmung des Kalks, der Phosphorsäure und des Chlors war nicht im Geringsten zu zweifeln. Dagegen hielt ich die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen, dass ein Theil des Wassers auch bei starkem und anhaltendem Erhitzen nicht entweicht und sich dadurch der Bestimmung entzieht. So befremdlich diese Ansicht zunächst klingt, wird sie doch verständlich, wenn man folgendes erwägt: Wir haben es mit einem basischen Calciumphosphat zu thun, welches wir betrachten können als

Calciumhydroxyd, dessen Hydroxyl-Wasserstoff nicht vollkommen durch das Phosphorsäure-Radical ersetzt ist. Wenn man nun auch nach Analogie ähnlicher Fälle erwarten sollte, dass der nicht substituirte Wasserstoff sich beim Erhitzen in der Form von Wasser abspaltet, so ist doch der Fall denkbar, dass es wasserstoffhaltige basische Salze gibt, welche vollkommen glühbeständig sind und sich so verhalten, wie Kaliumhydroxyd, welches auch in der stärksten Hitze kein Wasser verliert. Ist unsere Anschauung richtig, so muss sich der der Hitze widerstehende Wasserstoff auf chemischem Wege eliminiren lassen, wenn man das basische Salz mit einem feuerbeständigen Säure-Anhydrid, z. B. Kieselsäure, erhitzt, gerade so wie Kaliumhydroxyd beim Schmelzen mit Kieselsäure Wasser abspaltet:



Von diesen Erwägungen geleitet, operirte ich folgendermassen: Eine gewogene Menge Calciumphosphat, im Betrage von etwa 1–1,3 gr. wurde zunächst über dem Gebläse bis zur Gewichtconstanz erhitzt; hierauf wurde circa 0,6 gr. reinste, aus Natriumsilicat durch Fällung mit Salzsäure dargestellte und durch Erhitzen zur Weissgluth wasserfrei gemachte Kieselsäure zugewogen, mit einem Glasstäbchen gemischt und abermals in die Flamme des Gebläses gebracht. Würde das Calciumphosphat bereits nach dem Erhitzen für sich frei von Wasser, bzw. Wasserstoff sein, so dürfte beim nachherigen Glühen mit Kieselsäure keine Veränderung eintreten, denn ein Entweichen von Phosphorsäure in Form von Phosphorpentoxyd findet, wie ich mich überzeugt habe, bei Abwesenheit von organischer Substanz nicht statt. Thatsächlich wurde aber ein weiterer Gewichtsverlust beobachtet, welcher nach ungefähr 25 Minuten seinen Maximalwerth erreichte und ganz constant 1,09 % des ursprünglichen Salzes betrug. Das Calciumphosphat enthält demnach eine flüchtige Substanz in Form einer nicht flüchtigen Verbindung, aus welcher sie durch Glühen mit einer feuerbeständigen Säure abgespalten wird; diese Substanz kann nach Lage der Dinge nichts Anderes sein, als Wasser, dessen Vorhandensein durch die Basicität des Salzes be-

dingt wird und welches deshalb im Gegensatz zum Krystallwasser als Constitutions- oder Säure-Wasser zu bezeichnen ist.

Ein vollkommenes Analogon dieses Falles ist mir nicht bekannt. Dagegen liegen die Verhältnisse bei manchen wasserstoffhaltigen, natürlichen Silicaten insofern ähnlich, als dieselben erst bei sehr hoher Temperatur Wasser abspalten. So galt z. B. der Euklas lange Zeit für wasserfrei; selbst gewiegten Analytikern wie Berzelius war der Wassergehalt des Minerals entgangen. Damour hat jedoch gezeigt, dass der Euklas bei starkem und anhaltendem Erhitzen einen Gewichtsverlust von nicht weniger als 6% erleidet.

Wenn wir die für das Calciumphosphat gegebenen analytischen Daten durch das neu aufgefundene Wasser vervollständigen, so erhalten wir folgende Uebersicht:

	„	Aequivalente.
Ca O . . . . .	52,76	1,8843
H <sub>2</sub> O (Krystallwasser) . . . . .	4,23	0,4700
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	41,66	1,7603
Cl . . . . .	0,03	0,0009
H <sub>2</sub> O (Constitutionswasser). . . . .	1,09	0,1211
Summe . . . . .	99,77	1,8823

Aus derselben geht hervor, dass die Menge des durch Kieselsäure abspaltbaren Körpers hinreicht, das Deficit zu decken; dass sie ferner dem Ueberschuss der Basis genau äquivalent ist und deshalb als ein Ausdruck der Basicität des Salzes gelten muss. Alle diese Thatsachen stehen mit unserer früher entwickelten Anschauung im vollsten Einklang und liefern für die Richtigkeit derselben einen vollgiltigen Beweis.

Zusammensetzung und Eigenschaften des von uns analysirten Salzes finden, wenn man von dem geringen Chlorgehalt absieht, ihren einfachsten Ausdruck in der Formel  $(Ca_3(PO_4)_2 + Ca_5HP_3O_{13} + 2H_2O)$ ; dieselbe verlangt:

52,83%	Ca O.
4,25%	Krystallwasser,
41,86%	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ,
1,06%	Constitutionswasser.
<hr/>	
100,00%	

Die von der Theorie geforderten Werthe stimmen mit den thatsächlich erhaltenen so genau überein, dass wir die Constitution des Calciumphosphats als erklärt betrachten können. Das einfache Molekularverhältniss zwischen neutralem und basischem Phosphat macht es sehr wahrscheinlich, dass nicht ein Gemenge, sondern eine lose Verbindung beider vorliegt, welche durch eine neutrale Lösung von Ammoniumcitrat in der Weise zersetzt wird, dass das basische Salz in Lösung geht, während das neutrale zurückbleibt.

Das detaillirte Eingehen auf die qualitativen und quantitativen Verhältnisse des Phosphat-Niederschlags wird nicht ungerechtfertigt erscheinen, wenn wir uns vergegenwärtigen, dass derselbe den typischen Charakter der in den Knochen vorkommenden Mineralstoffe besitzt. Mit der Ermittlung der Constitution des Calciumphosphats haben wir gleichzeitig den Schlüssel für das räthselhafte Verhalten der Knochenasche gefunden. Es war von vornherein zu erwarten, dass sich das bei der Analyse der Knochenasche ergebende Deficit auf dieselben Ursachen zurückführen lassen würde, welche für das künstliche Salz massgebend waren. Die hierauf bezüglichen directen Versuche haben diese Vermuthung in vollem Umfange bestätigt. Wenn man die Glycerin- oder Glüh-Asche der Knochen, gleichgültig welcher Provenienz, zunächst durch Erhitzen zur Weisssgluth von Kohlensäure und Krystallwasser befreit und hierauf mit wasserfreier Kieselsäure glüht, so erleidet sie einen Gewichtsverlust<sup>1)</sup>; derselbe reicht hin, um das bei der betreffenden Asche beobachtete Deficit zu decken, ist dem Ueberschuss der Basis sehr annähernd äquivalent und muss demnach auf das der Basicität der Knochenasche entsprechende Constitutionswasser bezogen werden. Wenn wir die für Letzteres gefundenen Werthe den früher gegebenen analytischen Daten hinzufügen, und dadurch die Analysen zu vollständigen machen, so gewinnen

<sup>1)</sup> Das Fluor, welches bei dieser Behandlungsweise ebenfalls als Fluorsilicium entweicht, kann seiner geringen Menge wegen die Höhe des Gewichtsverlustes nur ganz unwesentlich beeinflussen.

wir über die Zusammensetzung der Glycerinaschen folgende Uebersicht:

Procente.	Rinder- zähne A.	Rinderzähne B.		Men- schen- knochen.	Rinder- knochen.	Gänse- knochen.
		Zahn- schmelz.	Zahn- bein.			
Ca O . . . . .	50,70	51,98	50,36	51,31	51,28	51,01
Mg O . . . . .	1,52	0,53	1,83	0,77	1,05	1,27
K <sub>2</sub> O . . . . .	0,20	0,20	0,14	0,32	0,18	0,19
Na <sub>2</sub> O . . . . .	1,16	1,10	0,80	1,04	1,09	1,11
Krystallwasser . . . . .	2,21	1,80	2,90	2,46	2,33	3,05
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	38,88	39,70	38,60	36,65	37,46	38,19
CO <sub>2</sub> . . . . .	4,09	3,23	3,97	5,86	5,06	4,11
Cl . . . . .	0,05	0,21	0,03	0,01	0,04	0,06
Constitutionswasser . . . . .	1,27	1,17	1,25	1,32	1,37	1,07
Summe . . . . .	100,14	99,92	99,88	99,74	99,86	100,06
Aequivalente.						
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	1,6428	1,6775	1,6308	1,5485	1,5828	1,6136
CO <sub>2</sub> . . . . .	0,1859	0,1468	0,1805	0,2664	0,2300	0,1868
Cl . . . . .	0,0015	0,0059	0,0009	0,0009	0,0011	0,0017
Constitutionswasser . . . . .	0,1411	0,1300	0,1388	0,1466	0,1522	0,1188
Summe der sauren Aequivalente . . . . .	1,9713	1,9602	1,9510	1,9618	1,9661	1,9209
Aequivalente.						
Ca O . . . . .	1,8128	1,8564	1,7986	1,8328	1,8314	1,8218
Mg O . . . . .	0,0760	0,0265	0,0915	0,0385	0,0525	0,0635
K <sub>2</sub> O . . . . .	0,0045	0,0043	0,0030	0,0068	0,0038	0,0040
Na <sub>2</sub> O . . . . .	0,0374	0,0355	0,0258	0,0335	0,0352	0,0358
Summe der basischen Aequivalente . . . . .	1,9307	1,9227	1,9189	1,9116	1,9229	1,9251

Zunächst bemerken wir, dass sich die gefundenen Procentzahlen sehr annähernd zu Hundert ergänzen. Daraus können wir die Gewissheit schöpfen, dass neben den angeführten Stoffen kein anderer in nennenswerther Menge in den Knochen vorkommt. Ferner können wir constatiren, dass der durch Kieselsäure abspaltbare Körper, wenn man ihn den Säuren zugesellt, den Unterschied der sauren und basischen Aequi-

valente so genau ausgleicht, als es die unvermeidlichen Analysenfehler irgend zulassen. Wir haben es also mit Säurewasser zu thun, dessen Auffindung unsere früher entwickelten Anschauungen über die Basicität des Knochenphosphats keineswegs alterirt, sondern nur ein anderer Ausdruck für dieselben ist.

Die für das Calciumphosphat gegebene Formel lässt sich auch auf die Mineralstoffe der Knochen übertragen; nur haben wir uns zu vergegenwärtigen, dass in Letzteren 2—3% Kalk durch äquivalente Mengen von Magnesia, Kali und Natron, und 3—4% Phosphorsäure durch Kohlensäure, Chlor und Fluor vertreten sind. Ausserdem ist die Menge des Krystallwassers auf 1 Molekül zu reduciren<sup>1)</sup>. Der individuelle Charakter einer Knochenasche wird dadurch bestimmt, dass der substituirtete Antheil bald etwas grösser, bald etwas geringer ist, jedoch so, dass sich die Schwankungen stets innerhalb sehr enger Grenzen bewegen.

In der Formel  $(Ca_3(PO_4)_2 + Ca_3HP_3O_{13} + aqua)$  kommen auf 15 Aequivalente Phosphorsäure 16 Aequivalente Kalk. Auf Grund unserer Berechnungen hatten wir das Verhältniss von Säuren zu Basen in den Knochen wie 18:19 angenommen, eine Abweichung, welche sicherlich innerhalb der zulässigen Fehlergrenzen liegt. — In vorstehender Formel finden ferner das Verhalten der Knochenasche gegen eine neutrale Lösung von Ammoniumcitrat, sowie der Grad der Löslichkeit in diesem Reagens ihren natürlichen Ausdruck (s. S. 289).

Die Anschauungen, welche wir uns über die Constitution der in den Knochen enthaltenen Mineralstoffe gebildet haben, weichen in vielen Punkten von den bisher geltenden Ansichten erheblich ab; dagegen zeigen sie eine gewisse Annäherung an die von C. A e b y (23) vertretene Auffassung über die Zusammensetzung der Knochenasche. Es liegt jedoch hier der eigenthümliche Fall vor, dass die Uebereinstimmung der beiderseitigen Resultate nicht eine Bestätigung im gewöhnlichen Sinne involvirt. Die experimentelle Grundlage von A e b y's

<sup>1)</sup> Durch vorliegende Versuche betrachte ich nur das Vorhandensein, nicht aber die Menge des Krystallwassers als exact bewiesen (s. S. 283).

Resultaten gibt zu den gewichtigsten Bedenken Anlass, welchen besonders F. Wibel (25) beredten und energischen Ausdruck verliehen hat. Wenn Aeby (24) den Einwendungen Wibel's gegenüber hervorhebt, dass seine Anschauungen als der Ausdruck speculativer Betrachtungen über die Metamorphose der Knochen anzusehen sind, so gibt er damit selbst zu, dass er uns den exacten und zwingenden Beweis für seine Behauptungen schuldig geblieben ist. Wir können daher lediglich die Thatsache constatiren, dass Aeby auf dem Wege der Speculation der Wahrheit in manchen Punkten ziemlich nahe gekommen ist.

Anhangsweise möchte ich noch auf eine interessante Erscheinung aufmerksam machen, welche ich bei sämtlichen Analysen beobachtet habe, ohne dass ich in der Lage bin, eine ausreichende Erklärung dafür geben zu können. — Wenn man nämlich Knochenasche einige Zeit (15 Min.) zur Weissgluth erhitzt, so erscheint sie nach dem Erkalten nicht, wie man nach ihrer Zusammensetzung erwarten sollte, rein weiss, sondern röthlich. Die Farbe ist meist licht rosa, zuweilen auch lachsfarben oder mehr amethystartig und erinnert an die Nüancen der Kobaltsalze. Sie zeigt sich nur an der Oberfläche der Substanz und da, wo Letztere dem Boden des Tigels anhaftet, also der grössten Hitze ausgesetzt ist. Einen ganz auffälligen Grad von Intensität erreicht die Rothfärbung beim Zahnschmelz. Höchst merkwürdig ist es, dass sich von der gleichmässig blass rosa gefärbten Oberfläche häufig tief dunkelrothe Punkte abheben, welche den Eindruck erwecken, als ob die die Färbung bedingende Substanz in scharfer localer Begrenzung vorhanden sei. Der aus der Lösung der Knochenasche mit Ammoniumoxalat gefällte Kalk ist rein weiss, verwandelt man ihn aber in Calciumphosphat, so nimmt derselbe beim Glühen wieder Rothfärbung an.

Von allen bekannten Salzen und Metalloxyden sind es die seltenen Erden, auf welche die beobachteten Färbungen am besten passen. A. Cossa (29) hat sich durch mineralchemische Untersuchungen überzeugt, dass die Metalle der

Cer-Gruppe in Spuren sehr verbreitet sind; er hat ihre Anwesenheit im Apatit, im carrarischen Marmor, in verschiedenen Pflanzenaschen constatiren können und hat sie auch in der Knochenasche, nicht nur spectralanalytisch, sondern durch Abscheidung in Form ihrer Oxalate nachgewiesen. Ein Kilo Knochenasche lieferte 0,03 gr. Oxalate.

Ich habe mich vergeblich bemüht, aus den von mir untersuchten Aschen seltene Erden zu isoliren. Macht man die Lösungen stark salzsauer, so bleiben sie nach Zusatz von Oxalsäure absolut klar; säuert man nur schwach an, so fällt viel Calciumoxalat, ohne dass eine Anreicherung an seltenen Erden wahrnehmbar wäre. Trotzdem will ich nicht in Abrede stellen, dass die von Cossa angegebenen höchst geringfügigen Mengen von Cer, Lanthan, Didym auch in meinen Analysenobjecten vorhanden waren; nur erscheint es mir mehr als fraglich, ob solch minimale Quantitäten so lebhaftes Färbungen hervorbringen können. Es ist mir nicht gelungen, durch Beimischung eines Minimums von Cermetallen zu reinem Calciumphosphat die beobachteten Färbungen künstlich zu erzeugen; ebensowenig lieferte eine Zugabe von Mangansalzen, an welche man ebenfalls denken könnte, ein positives Resultat. Ich behalte mir vor, über die Ursache der beim Glühen der Knochen auftretenden Rothfärbung specielle Versuche anzustellen. Voraussichtlich dürfte der Spectralapparat dabei gute Dienste leisten.

Die hauptsächlichsten Ergebnisse vorliegender Untersuchungen lassen sich folgendermassen formuliren:

1. Die Mineralstoffe der Knochen und Zähne enthalten als wesentliche Bestandtheile: Kalk, Magnesia, Kali, Natron, Wasser, Phosphorsäure, Kohlensäure, Chlor, Fluor; ausserdem eine Substanz, welche beim anhaltenden Glühen der Knochenasche deren Rothfärbung bedingt.

2. Die Quantitäten der beiden Hauptbestandtheile, Kalk und Phosphorsäure, sind nur unerheblichen Schwankungen unterworfen, welche denen der Magnesia und Kohlensäure

umgekehrt proportional sind, so dass sich sowohl die beiden Basen, wie die beiden Säuren zu einer constanten Grösse ergänzen.

3. Im Gegensatz zu den übrigen Geweben des Thierkörpers enthalten die Knochen und Zähne weit mehr Natron als Kali.

4. Die Menge des Chlors beträgt nur wenige hundertstel Procente; der Zahnschmelz nimmt jedoch eine Ausnahmestellung ein und ist durch relativ hohen Chlorgehalt (0,21 %) ausgezeichnet.

5. Das Fluor muss ebenfalls als Minimalbestandtheil der Knochen und Zähne bezeichnet werden; seine Menge geht in der Regel nicht über 0,05 % der Asche hinaus und erreicht nur in Ausnahmefällen 0,1 %. Die Zähne sind nicht fluorreicher als die Knochen; ebensowenig enthält der Zahnschmelz mehr Fluor als das Zahnbein.

6. Das Wasser ist in den Mineralstoffen der Knochen und Zähne in zweierlei Form vorhanden: der eine Theil entweicht bei Temperaturen von 300—350° C. und besitzt die Funktionen des Krystallwassers; der andre kann durch Hitze allein überhaupt nicht ausgetrieben werden, wohl aber durch Glühen mit Kieselsäure. Dieser letztere Antheil ist ein Ausdruck für die Basicität des Knochenphosphats und muss im Gegensatz zum Krystallwasser als Constitutions- oder Säure-Wasser betrachtet werden.

7. Das Knochenphosphat besitzt basischen Charakter; es enthält auf 15 Aequivalente Säure 16 Aequivalente Basis und stellt wahrscheinlich eine lockere Verbindung eines neutralen mit einem basischen Phosphat dar.

8. Zusammensetzung und Eigenschaften der Knochen- und Zahn-Asche finden ihren einfachsten Ausdruck in der Formel  $(Ca_3(PO_4)_2 + Ca_5HP_3O_{13} + aq.)$ , in welcher 2—3 % Kalk durch Magnesia, Kali, Natron und 4—6 % Phosphorsäure durch Kohlensäure, Chlor, Fluor vertreten sind.

9. Der individuelle Charakter einer Knochen- und Zahn-Asche wird dadurch bestimmt, dass der substituirte Antheil

des Kalks und der Phosphorsäure bald etwas grösser, bald etwas geringer ausfällt, jedoch derart, dass die hierdurch bedingten Schwankungen sich stets innerhalb sehr enger Grenzen bewegen.

10. Die Unterschiede, welche zwischen Knochen- und Zahnasche obwalten, sind nicht grösser, als diejenigen, welche zwischen Knochenaschen verschiedener Provenienz beobachtet werden.

11. Die Mineralstoffe des Schmelzes sowohl, wie die des Zahnbeins besitzen den allgemeinen Charakter der Knochenasche; sie unterscheiden sich dadurch von einander, dass im Schmelz eine auffällig geringe, im Zahnbein eine auffällig grosse Menge von Kalk durch Magnesia ersetzt ist. Ausserdem enthält der Schmelz relativ viel Chlor.

#### Litteratur.

1. Morichini. Mem. di mathem. e di fisica della science, Bd. 10.
2. John. Bulletin de la Soc. imp. des Naturalistes de Moscou 1893.
3. Klaproth. Gehlen's Journal, Bd. 3.
4. Morichini u. Gay-Lussac. Ann. de Chimie et de Phys., Bd. 55.
5. Fourcroy u. Vauquelin. Ann. de Chimie et de Phys., Bd. 57.
6. Wollaston u. Brande. Journal of natural Philosophy, Chemistry and the Arts, Bd. 13.
7. Berzelius. Ann. de Chimie et de Phys., Bd. 61.
8. Berzelius. Gilbert's Ann., Bd. 53.
9. Rees. Philosophical Magazine, Bd. 15.
10. Girardin u. Preisser. Comptes Rend. etc., Bd. 15.
11. Erdmann. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 19.
12. Marchand. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 27.
13. Middleton. Philos. Magazine, Bd. 25.
14. Daubeny. Philos. Magazine, Bd. 25.
15. v. Bibra. Chem. Unters. über die Knochen etc. Schweinfurth 1844.
16. Wilson. Transactions of the Royal Soc. of Ed., Bd. 6.
17. Heintz, Poggend. Ann. d. Phys. u. Chemie, Bd. 77.
18. Hoppe-Seyler. Archiv f. path. Anatomie u. Physiologie, Bd. 24.
19. v. Kobell. Journal f. prakt. Chemie, Bd. 92.
20. Zalesky. Med.-chem. Untersuchungen v. Hoppe-Seyler, Bd. 1.
21. Fresenius. Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 5.

22. Wildt. Ueber die chem. Zus. der Knochen etc. Diss. Leipzig 1872.
  23. Aeby. Kolbe's Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 5, 6 u. 7.
  24. Aeby. Kolbe's Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 9.
  25. Wibel. Kolbe's Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 9.
  26. Fresenius. Quant. Analyse 1875, S. 435.
  27. Schrodtt. Landw. Versuchsst., Bd. 19.
  28. Hiller. Landw. Versuchsst., Bd. 31.
  29. Cossa. Atti d. Reale Acc. dei Lincei, Ser. 3, Bd. 3.
  30. Weiske. Landw. Versuchsst., Bd. 36.
  31. Carnot. Comptes Rend., Bd. 114, S. 750.
  32. Carnot. Comptes Rend., Bd. 114, S. 1189.
  33. Brandl u. Tappeiner. Zeitschr. f. Biologie, N. F., Bd. 10.
  34. Deltour. Bull. Ass. Belge Chimique, Bd. 6.
  35. Rammelsberg. Pogg. Ann. d. Phys. u. Chemie, Bd. 64.
  36. Boussingault. Ann. de Chimie et de Phys., Bd. 16.
  37. Kühne. Physiol. Chemie, 1868, S. 397.
  38. v. Recklinghausen. Archiv f. path. Anatomie, Bd. 14.
-