

Einfache Veraschungsmethode (Säuregemisch-Veraschung)
und
**Vereinfachte Bestimmungen von Eisen, Phosphorsäure,
Salzsäure und anderen Aschenbestandtheilen unter Benutzung
dieser Säuregemisch-Veraschung.**

Von
Albert Neumann.

Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.
(Der Redaction zugegangen am 18. November 1902.)

1. Einfache Veraschungsmethode (Säuregemisch-Veraschung).

Im Jahre 1897 habe ich bereits eine einfache Veraschungsmethode für Stoffwechselanalysen mitgetheilt¹⁾, welche darin besteht, dass man die Substanz mit concentrirter Schwefelsäure und einzelnen Portionen Ammonitrat erhitzt. Dieses Verfahren konnte dann, wie ich 1899 gefunden habe²⁾, noch dadurch bedeutend vereinfacht werden, dass man, statt Ammonitrat in einzelnen Portionen zu verwenden, beständig ein Gemisch von gleichen Volumtheilen concentrirter Schwefelsäure und concentrirter Salpetersäure unter Erwärmen zu der Substanz fließen lässt. Die Begründung dieser Methode und ihre Vorzüge vor der früheren sind in der zuletzt citirten Abhandlung auseinandergesetzt worden; eine ausführliche Beschreibung derselben will ich aber hier an dieser Stelle geben, da ich inzwischen verschiedene Zusätze und Veränderungen eingefügt habe, und ausserdem, weil diese Methode die Grundlage für die weiter unten folgenden Bestimmungen bildet.

1) Verhandl. d. Berl. physiol. Ges. vom 23. Juli 1897, abgedruckt im Archiv f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abth. 1897, S. 552.

2) Verhandl. d. Berl. physiol. Ges. vom 10. Novbr. 1899, abgedruckt im Archiv f. Anat. u. Physiol. Physiol.-Abth. 1900, S. 159.

Princip. Dasselbe beruht darauf, dass während der ganzen Substanzerstörung keine Verkohlung eintritt, weil durch ein starkwirkendes und beständig zufließendes Oxydationsmittel (z. B. das Säuregemisch) der Kohlenstoff völlig zu Kohlensäure oxydirt wird. Da bekanntlich verkohlte Massen bedeutend schwerer verbrennlich sind als die ursprüngliche organische Substanz, so erfolgt bei dieser Methode die Zerstörung viel schneller als bei der trockenen Veraschung in der Platinschale oder bei der Substanzerstörung nach Kjeldahl.

Apparatur. Die Veraschung wird vorgenommen in einem schief liegenden Rundkolben aus Jenaer Glas, welcher die normale Halblänge (etwa 10 cm) und einen Inhalt von $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Liter hat. Ueber demselben befindet sich in einem Glas- oder Porzellanringe ein Hahntrichter, welcher zweckmässig mit einer Tropfcapillare versehen ist. Das Ganze ist an einem Stativ befestigt.

Säuregemisch. Man giesst langsam und unter Umschütteln $\frac{1}{2}$ Liter concentrirter Schwefelsäure in $\frac{1}{2}$ Liter concentrirter Salpetersäure (specifisches Gewicht 1,4).

Abwägen der Substanz. Trockene, pulverige Substanzen wägt man am besten in schmalen einseitig zugeschmolzenen Glasröhren (Wägeröhrchen) ab, welche man bequem durch den ganzen Hals des Veraschungskolbens hindurchschieben kann. Um die Zahl der Wägungen besonders bei einer grösseren Versuchsreihe möglichst zu beschränken, benutze ich schon seit längerer Zeit eine einfache Abwägungsmethode, welche ich kurz hier beschreiben will:

Man verwendet soviel Wägeröhrchen, wie man Abwägungen vornehmen will, füllt in jedes annähernd die Substanzmenge, welche man zur Analyse braucht, und stellt alle Röhren in ein kleines Becherglas. Man wägt nun letzteres mit gesammtem Inhalt genau, schüttet nacheinander die in den Wägeröhrchen befindlichen Substanzmengen in die Veraschungskolben, indem man jedesmal das entleerte Röhren wieder in das Becherglas zurückstellt und das Ganze wägt. Man erfährt so durch Subtraction des zweiten Gewichts von dem ersten die Substanzmenge des ersten Röhrens, durch Subtraction des dritten

Gewichts von dem zweiten den Inhalt des zweiten Gläschens u. s. w. Will man also z. B. in 3 verschiedenen Substanzen je 2 Controllanalysen ausführen, so hat man nur $6 + 1 + 7$ Wägungen zu machen, während bei jedesmaligem Hin- und Herwägen $2 \cdot 6 = 12$ Wägungen nöthig sind.

Klebrige Substanzen wie Butter, Schabefleisch, feuchte Faeces wägt man zweckmässig auf gewogenen Bruchstücken eines Reagensglases ab, von dem man sich vorher überzeugt hatte, dass es durch den Hals des Veraschungskolbens bequem hindurchgeht.

Flüssigkeiten, welche man wegen ihrer Beschaffenheit nicht genau abmessen kann, z. B. frisches Blut, wägt man zweckmässig in sehr dünnen gewogenen Röhrchen ab, welche man nach vorsichtigem Einbringen in den Veraschungskolben durch Schütteln desselben zertrümmert.

Vorbehandlung der Substanz. Man kann trockene oder feuchte Substanzen für die Veraschung verwenden, selbst Flüssigkeiten können in nicht zu grosser Menge häufig ohne Weiteres benutzt werden. Blut wird zweckmässig erst nach dem Eindampfen verascht. Bei fett- oder kohlehydratreichen Stoffen, z. B. Milch, empfiehlt es sich, vor der Veraschung mit 1%iger reiner Kalilauge bis zur Syrupdicke abzdampfen, da sonst leicht Schäumen oder Stossen der Flüssigkeit eintritt. Man verwendet z. B. 15 cem 1%iger Kalilauge für 25 cem Milch.

Für die meisten Bestimmungen im Harn ist eine Veraschung nicht erforderlich. Dieselbe muss aber vorgenommen werden, wenn es sich um eine Bestimmung des Eisens handelt, welches nur in organischer Bindung im Harn vorkommt. Ausserdem wird man zweckmässig den Harn veraschen, wenn er Eiweiss enthält. In diesem Falle musste bisher für die meisten Bestimmungen das letztere quantitativ entfernt werden, was nicht immer vollständig gelingt. Von einer Veraschung des Harns wurde deshalb fast ausschliesslich abgesehen, weil dieselbe, und besonders die Concentrirung grosser Harnmengen, bisher eine sehr langwierige Operation war. Im Folgenden will ich nun ein verhältnissmässig einfaches Verfahren der

Harnverdampfung beschreiben, an welches sich dann die Säuregemisch-Veraschung anschliesst.

Um grössere Mengen Harn (z. B. 500 ccm zur Eisenbestimmung) für die Veraschung ohne Stossen schnell und quantitativ zu concentriren, lässt man betändig kleine Mengen des mit Salpetersäure versetzten Harns zu concentrirter, siedender Salpetersäure fliessen. Zu diesem Zweck wird der abgemessene Harn in einem Kolben mit concentrirter Salpetersäure ($\frac{1}{10}$ des Harnvolumens) gemischt und durch den Hahntrichter tropfenweise in den Rundkolben (siehe Apparatur S. 116) gegeben, in dem bei Beginn der Operation 30 ccm concentrirter Salpetersäure zum Sieden erhitzt werden. Man regulirt nun das Zutropfen des Harns so, dass bei starkem Sieden der Flüssigkeit, das man am besten durch ein Baboblech erreicht, keine zu grosse Volumenvermehrung (höchstens bis zu 100 ccm) eintritt. Kolben und Hahntrichter werden mit wenig verdünnter Salpetersäure nachgespült. Gegen den Schluss der Verdampfung wird die Flamme, wenn nöthig, verkleinert. Hat man die Flüssigkeit bis auf etwa 50 ccm concentrirt, so gibt man durch den Hahntrichter gemessene Mengen Säuregemisch hinzu und verascht nach der in Folgendem beschriebenen Methode, mit der Maassgabe, dass man im Falle einer daranzuknüpfenden Eisenbestimmung, ganz zuletzt, wenn das Veraschungsproduct schon hell und klar geworden ist, noch $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden weiter erhitzt.

Ausführung der Säuregemisch-Veraschung. Die Veraschung mit dem Säuregemisch wird in einem gut ziehenden Abzuge ausgeführt. Die Substanz, welche eventuell in der oben beschriebenen Weise vorbehandelt ist, wird in dem Rundkolben (siehe Apparatur S. 116) mit gemessenen Mengen Säuregemisch (etwa 5—10 ccm) übergossen und mit mässiger Flamme erwärmt¹⁾. Sobald die Entwicklung der braunen Nitrosodämpfe geringer wird, gibt man aus dem Hahntrichter tropfen-

¹⁾ Sind grosse Mengen organischer Substanz zu zerstören, wie z. B. in sehr zuckerreichen Harnen, so lässt man nach dem Hinzufügen des Säuregemisches (event. unter Abkühlung) erst die Hauptreaction vorübergehen, ehe man erwärmt.

weise weiteres Gemisch (annähernd gemessene Mengen) hinzu und fährt damit fort, bis ein Nachlassen der Reaction eintritt und die Intensität der braunen Dämpfe abgeschwächt erscheint. Um zu entscheiden, ob die Substanzerstörung beendet ist, unterbricht man das Hinzuffliessen des Gemisches für kurze Zeit, erhitzt aber weiter, bis die braunen Dämpfe verschwunden sind, und beobachtet, ob sich die Flüssigkeit im Kolben dunkler färbt oder gar noch schwärzt. Ist dieses der Fall, so lässt man wieder Gemisch zufließen und wiederholt nach einigen Minuten die obige Probe. Wenn nach dem Abstellen des Gemisches und dem Verjagen der braunen Dämpfe die hellgelbe oder farblose Flüssigkeit sich bei weiterem Erhitzen nicht mehr dunkler färbt und auch keine Gasentwicklung mehr zeigt, dann ist die Veraschung beendet. Ist die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt, so wird sie beim Erkalten völlig wasserhell. Nun fügt man dreimal so viel Wasser hinzu, wie Säuregemisch verbraucht wurde, erhitzt und kocht etwa 5—10 Minuten. Dabei entweichen braune Dämpfe, welche von der Zersetzung der entstandenen Nitrosylschwefelsäure herrühren.

2. Nachweis und quantitative Bestimmung einzelner Aschebestandtheile unter Benutzung der Säuregemisch-Veraschung.

Zunächst ist zu bemerken, dass bei der oben beschriebenen Veraschungsmethode der Stickstoff der organischen Substanz nicht wie bei der Kjeldahl-Bestimmung in Ammoniak übergeführt wird. Bei Versuchen, die mit Harn und Milch angestellt wurden, war keine Spur von Ammoniak nachzuweisen. Dagegen kann man die Aschenlösung zur qualitativen und quantitativen Untersuchung auf alle übrigen Basen und (abgesehen von den Componenten des Gemisches) auf nicht flüchtige Säuren benutzen.

Die Säuregemisch-Veraschung ist für den Nachweis besonders dann sehr zweckmässig, wenn es sich um die Auffindung sehr kleiner Mengen eines Aschebestandtheils, wie z. B. Eisen im Harn, Phosphor in phosphorarmen Proteiden handelt, da hierbei grössere Substanzmengen verascht werden

müssen. In anderen Fällen ist die Veraschung mit Soda und Salpeter ebenso gut. Bei der Säuregemisch-Veraschung wird es für die meisten Nachweise nöthig sein, die stark saure Lösung erst mit Ammoniak annähernd zu neutralisiren.

Für quantitative Bestimmungen eignet sich diese Methode bedeutend mehr als die früheren, weil die Substanzzerstörung nicht nur viel schneller, sondern auch quantitativ genauer vor sich geht. Man hat den Vortheil, dass die ganze Operation (meistens auch die Bestimmung) in einem Gefässe vorgenommen wird, und dass die Wandungen desselben durch die Dämpfe des Säuregemischs so quantitativ abgespült werden, dass keine Spur von Substanz unzerstört bleibt. In der erhaltenen Aschenlösung kann man in den meisten Fällen die Einzelbestimmungen von Aschenbestandtheilen nach den bisherigen Methoden vornehmen. (Weiteres siehe Abschnitt 6.) Für die Bestimmung des Eisens, der Phosphor- und Salzsäure habe ich jedoch besondere Verfahren ausgearbeitet, welche bedeutend einfacher sind als die früheren. Dieselben lasse ich der Reihe nach hier folgen. Die Bestimmungen von Kalium und Natrium, Calcium und Magnesium sind im Wesentlichen in der bisherigen Weise an die Veraschungsmethode angefügt worden.

Die Richtigkeit der Bestimmungen unter Benutzung der Säuregemisch-Veraschung ist durch viele Versuche festgestellt worden. (Das Nähere siehe im Abschnitt 7.)

3. Jodometrische Bestimmung des Eisens unter Benutzung der Säuregemisch-Veraschung¹⁾.

Die Bestimmung des Eisens bei Stoffwechselanalysen und in Organen geschieht fast ausschliesslich durch Titration mittelst Kaliumpermanganat. Dazu wird die Substanz meist auf trockenem Wege völlig verascht, in Salzsäure gelöst, nach dem Abdampfen mit verdünnter Schwefelsäure und Zink behandelt, um das Eisenoxyd zu reduciren, und schliesslich mit

¹⁾ Kurze Mittheilung darüber: Verhandl. d. Berl. physiol. Ges. vom 21. Februar 1902, abgedr. im Archiv f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., 1902, S. 362.

einer ca. $\frac{1}{100}$ Permanganatlösung titirt. Bei dieser Methode können nun Fehler sehr leicht dadurch entstehen, dass selbst das reinste Zink noch immer Spuren von Eisen enthält. Die Menge des mit dem Zink hineingebrauchten Eisens kann aber bei der Bestimmung eisenarmer Substanzen zuweilen grösser sein, als das Eisen in der Substanz selbst. Man muss daher den Eisengehalt des Zinks sehr genau durch besondere Analysen ermitteln, wobei es schwierig ist, aus einer grösseren Menge Zink eine richtige Durchschnittsmenge für die quantitative Untersuchung zu beschaffen, ohne dabei eiserne Instrumente zu benutzen. Wendet man andere Reductionsmittel, z. B. schweflige Säure an, so ist es schwierig, sie wieder völlig herauszubringen. Da dieselben aber ebenfalls durch Permanganat oxydirt werden, so hängt von der Vollständigkeit ihrer Entfernung die Richtigkeit der Analyse ab. — Für sich betrachtet, dürften die Fehler in beiden Fällen nur so gering sein, dass sie bei der Bestimmung grösserer Eisenmengen, wie z. B. in Mineralanalysen, kaum einen Einfluss auf das Resultat ausüben: bei den geringen Eisenmengen aber, welche bei Stoffwechselanalysen und in Organen zu bestimmen sind und deren Gewicht pro Analyse nur einige Milligramme beträgt, können diese Fehlerquellen erhebliche Abweichungen von dem wahren Eisengehalt herbeiführen.

Ein weiterer Uebelstand bei dieser Bestimmung ist die Veraschung auf trockenem Wege. Abgesehen davon, dass sie immer sehr umständlich und zeitraubend ist, kann dieselbe fast nur bei sehr eisenreichen Substanzen (z. B. Blut) ausgeführt werden, da sonst bei der trockenen Veraschung sehr grosser Substanzmengen Fehler kaum zu vermeiden sind.

Unter Zusatz von Soda und Salpeter zu veraschen, ist aber nicht angängig, da die hier entstehende salpetrige Säure sich auch nicht wieder völlig entfernen lässt.

Mit Hilfe der Säuregemisch-Veraschung und durch die Bestimmung des Eisens auf jodometrischem Wege ist man nun in der Lage, die oben besprochenen Schwierigkeiten zu umgehen und schneller, einfacher und genauer den Eisengehalt zu ermitteln. Man hat zunächst den Vortheil, dass man das

Eisen, welches nach der Veraschung als Oxyd vorliegt, in dieser Form direct für die Bestimmung verwenden kann, ohne es vorher zu reduciren. Die jodometrische Methode eignet sich dazu ausserordentlich. Es war jedoch nöthig, ihre Brauchbarkeit bei sehr kleinen Eisenmengen eingehend zu prüfen und ihre Anwendung so einfach wie möglich zu gestalten. Des Weiteren musste ein Verfahren zur Abscheidung des Eisens als Oxyd ermittelt werden, da sich die jodometrische Bestimmung wegen der grossen Salzmengen und der salpetrigen Säure nicht direct in der Veraschungsflüssigkeit ausführen lässt.

Die Lösung dieser Aufgabe bot zunächst recht erhebliche Schwierigkeiten. Bei Eisenbestimmungen ist es, wie schon bemerkt, oft nöthig, grosse Substanzmengen zu veraschen; dazu braucht man naturgemäss entsprechende Quantitäten Säuregemisch und erhält in Folge dessen nach dem Neutralisiren der Aschenlösung durch Ammoniak unter Umständen recht erhebliche Salzmengen. Da in dem Untersuchungsmaterial wohl immer Phosphorsäure zugegen ist, so erhält man das Eisen beim Uebersättigen mit Ammoniak ganz oder theilweise als Ferriphosphat, welches aber in dem überschüssigen Ammoniak nicht ganz unlöslich ist. Eine quantitative Abscheidung durch Ammoniak ist also nicht möglich.

Aber auch wenn man das Eisen unter Zusatz von etwas Natriumphosphat in essigsaurer Lösung als Ferriphosphat fällt, erhält man keine völlig quantitative Abtrennung, da in dem Filtrat noch deutlich Eisen nachzuweisen ist. Man kann dies nur durch die grossen Salzmengen erklären, welche etwas Eisen in Lösung halten. Verdünnt man nämlich mit sehr viel Wasser, so wird die Fällung annähernd quantitativ.

Ich habe nun ermittelt, dass, wenn man in der schwach ammoniakalischen Aschenlösung Zinkammoniumphosphat erzeugt, das Eisen quantitativ mit in den Niederschlag geht. Anscheinend wird das Eisenphosphat durch den krystallinischen Zinkniederschlag mitgerissen; es wäre aber auch vielleicht möglich, dass sich eine Zink-Eisen-Verbindung bildet. Ich habe diese Frage nicht weiter behandelt, da sie für die vorliegenden

Zwecke nicht von Wichtigkeit ist. Die krystallinische Zinkfällung scheidet sich sehr schnell aus der Flüssigkeit ab und lässt sich gut filtriren, ganz im Gegensatz zur reinen Eisenphosphatfällung, welche eine schwammige Masse bildet.

Bei dieser Zinkfällung ist jedoch Folgendes zu beachten: Die jodometrische Bestimmung wird nach meinen Ermittlungen ungenau, wenn die zu titirende Lösung viel Phosphorsäure enthält, während durch geringe Mengen die Titration nicht beeinflusst wird. Die Menge der Phosphorsäure, welche in den Niederschlag geht, ist aber im Wesentlichen abhängig von der Zinkmenge, welche zugesetzt wird; dem zur Bildung von Zinkammoniumphosphat muss Phosphorsäure stets in grossem Ueberschuss vorhanden sein. Aus diesem Grunde und weil zu viel ausgeschiedenes Zinksalz heftiges Stossen der Flüssigkeit hervorruft, darf die Zinkmenge nicht sehr gross sein. Sie darf aber auch nicht zu klein sein, weil sonst das Eisen nicht quantitativ fällt. Das von mir zu diesem Zweck zusammengestellte Zinkreagens (siehe Erforderliche Lösungen, S. 126) enthält nun in 20 ccm die durch viele Versuche festgesetzten Mengen Zink, welche 5—6 mg Fe quantitativ fällen, ohne dass zu viel Zinkammoniumphosphat gebildet wird.

Das mit dem Zinkniederschlage abgeschiedene Eisenoxyd wird nun nach dem Abfiltriren durch Auswaschen völlig von salpetriger Säure befreit, da auch diese die Jodtitration beeinflusst. (Filtriren und Auswaschen erfordern nur wenig Zeit.) Man löst dann in verdünnter Salzsäure, neutralisirt mit Ammoniak, wobei die sich abscheidende Zinkverbindung als Indicator dient, und säuert wieder ganz schwach mit Salzsäure an. Diese Behandlungsweise ist nöthig, weil die Jodtitration nur in schwach saurer Lösung vorgenommen werden darf. Sodann fügt man Jodkalium in Krystallen und Stärkelösung hinzu, erwärmt auf etwa 50—60°, wobei intensive Blaufärbung eintritt, und titirt mit einer ca. $\frac{1}{250}$ Thiosulfatlösung gerade bis zur Entfärbung. Durch das Eisenoxyd werden aus dem Jodkalium äquivalente Mengen Jod freigemacht, welche man leicht in der bekannten Weise mit Thiosulfatlösung misst.

Zu diesem Zwecke musste jedoch erst festgestellt werden, ob die jodometrische Methode auch für so kleine Eisenmengen, wie sie im thierischen und pflanzlichen Organismus vorkommen, zuverlässige Werthe liefert. Hat man grössere Quantitäten Eisenoxyd, wie z. B. bei Mineralanalysen, zu bestimmen, so muss man bekanntlich dafür sorgen, dass bei dem Erwärmen mit Jodkalium und Salzsäure kein freies Jod entweicht. Aus diesem Grunde wird entweder in geschlossenen Flaschen (Druckflaschen) erwärmt und nach dem Erkalten titirt, oder man scheidet die Hauptmenge des Jods in der Kälte aus, setzt die Thiosulfatlösung bis zur Violettfärbung hinzu und erwärmt erst dann. In beiden Fällen werden unter Anwendung von n_{10} Thiosulfatlösung sehr gute Resultate erhalten. Es hat sich nun durch eine grössere Anzahl von Versuchen herausgestellt, dass man bei sehr geringen Eisenmengen sofort ohne Jodverlust erwärmen kann, und dass man selbst mit n_{250} Thiosulfatlösung noch scharfe Resultate erzielt.

Aber trotzdem würde die jodometrische Bestimmung kleiner Eisenmengen unmöglich sein, wenn sich nicht ein einfaches Verfahren für die Titerstellung der Thiosulfatlösung ergeben hätte. Letztere muss ausserordentlich verdünnt sein, da selbst bei einer $\frac{1}{250}$ normalen 8—9 ccm nur 2 mg Fe entsprechen.

Eine so verdünnte Lösung ist aber nicht haltbar: sie verändert sich beständig, anfangs langsamer, dann schneller: gegen eine sehr verdünnte Jodlösung von bekanntem Gehalt kann man sie auch nicht einstellen, da auch diese sich leicht ändert. Ich versuchte es daher auf indirectem Wege, indem ich von einer bekannten Eisenchloridlösung ausging, mittelst Jodkalium äquivalente Jodmengen freimachte und diese bestimmte. Es zeigte sich nun, dass z. B. die Fresenius'sche Eisenchloridlösung, welche 10 g Fe im Liter enthält, ausserordentlich beständig ist, gemessen an einer n_{10} Thiosulfatlösung. Will man aber diese Eisenlösung zur Titerstellung einer ca. n_{250} Thiosulfatlösung benutzen, so muss man sie etwa 50 mal verdünnen. Dabei stellte es sich jedoch heraus, dass diese verdünnte Lösung, welche gleich nach der Her-

stellung ganz schwach gelb ist und scharfe Resultate gibt, bereits am nächsten Tage braun war und bei der Titerstellung überhaupt keine deutliche Endreaction gab. Wollte man also die verdünnte Eisenchloridlösung benutzen, so müsste man für jede Bestimmung aus der haltbaren Stammlösung die verdünnte Lösung herstellen, was sehr umständlich wäre.

Diesem Uebelstande kann man nun dadurch begegnen, dass man bei der Verdünnung gleichzeitig etwas Salzsäure hinzufügt: dadurch wird die Lösung sehr haltbar. Versuche, welche zur Einstellung einer ca. $10^{-2.50}$ Thiosulfatlösung mit einer monatelangen und einer frischbereiteten Eisenchloridlösung ausgeführt wurden, ergaben dasselbe und zwar sehr scharfe Resultat. Auf diese Weise ist man jederzeit in der Lage, den Titer einer sehr verdünnten Thiosulfatlösung in wenigen Minuten zu ermitteln, und erst dadurch hat die jodometrische Bestimmung sehr kleiner Eisenmengen einen praktischen Werth bekommen.

Die Gesamtausführung einer solchen Eisenbestimmung erfordert viel weniger Zeit, als es bei den früheren Methoden der Fall war. Um zwei Controllanalysen zu machen, gebraucht man für 5 g Blut etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden, für 3—4 g getrocknete Faeces $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden, für 500 ccm Harn $1\frac{1}{2}$ —5 Stunden incl. Verdampfung und Veraschung (S. 118).

Ich lasse nunmehr die Methode in ihrer ganzen Ausführung folgen.

Princip. Die Substanz wird durch die Säuregemisch-Veraschung zerstört. In der Aschenlösung wird ein Niederschlag von Zinkammoniumphosphat erzeugt, welcher quantitativ alles Eisen mitfällt. Durch das so abgetrennte Eisenoxyd werden nach dem Lösen in Salzsäure aus Jodkalium äquivalente Mengen Jod frei gemacht, welche nach Stärkezusatz mit einer ca. $10^{-2.50}$ Thiosulfatlösung gemessen werden; dieselbe wird gegen eine unter Säurezusatz hergestellte, sehr verdünnte Eisenchloridlösung eingestellt.

Erforderliche Lösungen. 1. Eisenchloridlösung, enthaltend 2 mg Fe in 10 ccm. Dieselbe wird hergestellt, indem

man genau 20 cem der Fresenius'schen Eisenchloridlösung¹⁾, welche 10 g Fe im Liter enthält und von der Firma Kahlbaum-Berlin bezogen werden kann, in einen Litermesskolben fliessen lässt, mit etwa 2 cem concentrirter Salzsäure (specifisches Gewicht 1,19) versetzt und dann genau zum Liter auffüllt. Diese Lösung ist lange unverändert haltbar: man verwahrt sie zweckmässig in einer braunen Flasche.

2. Etwa n_{250} Thiosulfatlösung. Man löst 1 g Natriumthiosulfat und 1 g Ammoniumcarbonat (beides annähernd genau abgewogen) in etwa 1 Liter Wasser. Aufbewahrung ebenfalls in brauner Flasche.

3. Stärkelösung. Man löst in $\frac{1}{2}$ Liter kochenden Wassers 1 g lösliche Stärke (Schering) und kocht noch weitere 10 Minuten.

4. Zinkreagens. Etwa 25 g Zinksulfat und etwa 100 g Natriumphosphat werden jedes für sich in Wasser gelöst und die Lösungen in einem Litermesskolben vereinigt. Der entstandene Niederschlag von Zinkphosphat wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade gelöst und die Lösung sodann zum Liter aufgefüllt.

Alle zur Eisenbestimmung benutzten Reagentien müssen frei von Eisen sein.

Titerstellung der Thiosulfatlösung. Da die sehr verdünnte Thiosulfatlösung nicht unverändert haltbar ist, so muss bei jeder Bestimmung der Titer derselben festgestellt werden. Dieses geschieht leicht und schnell in folgender Weise: 10 cem Eisenchloridlösung werden in einem Kolben mit etwas Wasser, einigen Cubikcentimetern Stärkelösung und etwa 1 g (nach dem Augenmaass) Jodkalium versetzt, auf etwa 50–60° erwärmt und mittelst der Thiosulfatlösung titirt, bis die blaue Farbe über rothviolett gerade verschwindet. Die verbrauchten Cubikcentimeter Thiosulfatlösung entsprechen dann gerade 2 mg Fe.

Nach einigen Minuten färbt sich die Lösung wieder violett. — Der Titer der Thiosulfatlösung ändert sich in den

¹⁾ Fresenius, Quantitative Analyse, I, S. 288.

ersten beiden Wochen nach der Herstellung sehr wenig, dann aber schneller. Es ist zweckmässig, eine Thiosulfatlösung nur so lange zu benutzen, als sich der Titer nicht um mehr als den vierten Theil seines ursprünglichen Werthes verändert hat: entsprechen also anfangs 8 ccm 2 mg Fe, so kann man die Lösung benutzen, bis 10 ccm 2 mg Fe entsprechen. Dieser Zeitpunkt wird im Allgemeinen nach 3 bis 4 Wochen erreicht sein.

Ausführung der Eisenbestimmung. Die Substanz wird nach den im ersten Abschnitt (S. 118) gegebenen Vorschriften der Säuregemisch-Veraschung unterworfen¹⁾. Die mit Wasser verdünnte und etwa 10 Minuten gekochte Aschenlösung wird nach dem Abkühlen und eventueller Zugabe von genau abgemessenen 10 ccm Eisenchloridlösung (siehe unten Bemerkungen, S. 129) mit 20 ccm Zinkreagens²⁾ und dann mit Ammoniak (unter Abkühlung) so lange versetzt, bis der weisse Zinkniederschlag gerade bestehen bleibt. Bis zur annähernden Neutralisation nimmt man concentrirtes, dann verdünntes Ammoniak. Nun gibt man ein wenig Ammoniak im Überschuss hinzu, bis der weisse Niederschlag gerade verschwindet, und erhitzt auf einem Baboblech zum Sieden. Wenn krystallinische Trübung eingetreten ist, erhitzt man noch etwa 10 Minuten; hierbei ist Vorsicht nöthig, da die Flüssigkeit zuweilen hochgeschleudert wird²⁾. Der krystallinisch abgeschiedene Niederschlag setzt sich schnell ab und kann leicht durch Decantiren von der Flüssigkeit getrennt werden. Man setzt den Rundkolben auf einen Stativring, giesst die heisse Flüssigkeit durch ein kleines, aschefreies, anliegendes Filter von 3 bis 4 cm Radius und prüft eine kleine Probe des Filtrats mit Salzsäure und Rhodankalium: es darf dabei keine oder nur

1) Will man die Bestimmung in rein anorganischer, schwach eisenhaltiger Lösung ausführen, so ist es nöthig, vor dem Zusatz des Zinkreagens mit 5 ccm concentrirter Schwefelsäure anzusäuern, damit bei der Neutralisirung durch Ammoniak genügende Mengen Ammonsalz eine vollständige Abscheidung des Niederschlags bewirken.

2) Man verhindert das Stossen am besten, wenn man die Flüssigkeit in starkem Sieden hält.

äusserst schwache Rothfärbung eintreten. War die Färbung deutlich roth, so muss man das schon Filtrirte zurückgiessen, nochmals auf dem Baboblech erhitzen und wieder prüfen. Der Niederschlag im Rundkolben wird nun etwa 3 mal durch Decantiren mit heissem Wasser ausgewaschen: das letzte Waschwasser darf dann, wenn man etwa 5 cem davon mit einigen Krystallen Jodkalium, Stärkelösung und einem Tropfen Salzsäure versetzt, keine oder nur äusserst schwache Violett-färbung zeigen (Prüfung auf Jod freimachende Substanzen z. B. salpetrige Säure).

Nunmehr wird der Trichter mit dem Filter auf den Rundkolben, in dem sich noch die Hauptmenge des Niederschlages befindet, gesetzt, das Filter zweimal mit verdünnter heisser Salzsäure gefüllt und dann mit heissem Wasser 4 bis 5 mal ausgewaschen. Eine Probe des letzten Waschwassers darf ebenso wenig wie das Filter mit Rhodankalium eine Rothfärbung geben. Jetzt befindet sich das ganze Eisen in salzsaurer Lösung im Kolben. Da aber für die Titration die Flüssigkeit nur schwach sauer sein darf, so wird zunächst mit verdünntem Ammoniak neutralisirt, bis gerade wieder der weisse Zinkniederschlag bestehen bleibt, und dann durch portionsweises Zugabe von je 10 Tropfen verdünnter Salzsäure gerade wieder völlig klar gelöst. Diese Lösung wird sodann genau in derselben Weise titrirt, wie es für die 10 cem Eisenchloridlösung bei der Titerstellung der Thiosulfatlösung angegeben ist.

Berechnung. Dieselbe ist äusserst einfach. Ergab die Titerstellung, dass 10 cem Eisenchloridlösung = 2 mg Fe 9,2 cem Thiosulfatlösung erforderten, und wurden bei der Haupttitration 12,5 cem Thiosulfat verbraucht, so berechnet sich aus der Proportion:

$$9,2 : 2 = 12,5 : x$$

$$x = 2,72 \text{ mg Fe.}$$

Bemerkungen. 20 cem Zinkreagens sind ausreichend für 5—6 mg Fe. Man wählt die Substanzmenge für eine Bestimmung zweckmässig so, dass darin 2 bis 3 mg Fe vorhanden sind, z. B. bei Blut 5—10 g, bei getrockneten Faeces 3—5 g.

Hat man selbst in grossen Mengen Substanz, z. B. in 500 ccm Harn, sehr wenig Eisen, so muss man genau abgemessene 10 ccm Eisenchloridlösung vor dem Hinzufügen des «Zinkreagens» hineingeben, um eine vollständige, der Eisenmenge entsprechende Jodabscheidung zu erhalten. Man zieht in diesem Falle von den Cubikcentimetern Thiosulfatlösung, welche bei der Haupttitration verbraucht wurden, die Anzahl Cubikcentimeter Thiosulfatlösung ab, welche bei der Titerstellung von 10 ccm Eisenchloridlösung beansprucht wurden.

4. Alkalimetrische Bestimmung der Phosphorsäure unter Benutzung der Säuregemisch-Veraschung.

Wie ich bereits im Jahre 1899 in der ersten, vorläufigen Mittheilung¹⁾ über diesen Gegenstand erwähnte, ist seit 1887 schon mehrfach²⁾ der Versuch gemacht worden, die Phosphorsäure auf alkalimetrischem Wege in dem gelben Niederschlage von phosphormolybdänsäurem Ammoniak zu bestimmen. Man löste denselben in überschüssiger Natronlauge und titrirte dann mit Säure zurück, um aus der zur Lösung erforderlichen Menge Alkali den Phosphorsäuregehalt zu ermitteln. Dabei wurden aber keine scharfen Resultate erhalten und in Folge dessen konnte diese Methode keine practische Anwendung finden.

Die wesentlichsten Schwierigkeiten waren die folgenden. Zunächst waren die gelben Niederschläge, welche nach den früheren Fällungsvorschriften erhalten wurden, nicht immer gleichmässig zusammengesetzt und enthielten leicht etwas mehr Molybdänsäure. Des Weiteren — und das ist der Hauptfehler gelang es nicht, bei Anwendung von Lakmus und Phenolphthalein als Indicatoren scharfe Farbenumschläge zu erzielen. Das ist ja auch leicht erklärlich, da Phosphorsäure gegen Lakmus amphotere Reaction zeigt und Phenolphthalein bei

1) l. c. S. 115, Anm. 2.

2) E. Thilo, Chemiker-Zeitung 1887, S. 193.

J. O. Handy, Chem. News 1892, S. 324.

H. Pemberton jun., Journ. Amer. Chem. Soc. 1893, Nr. 15, S. 382, referirt Chemiker-Zeitung (Repertorium) 1893, S. 318.

F. Hundeshagen, Chemiker-Zeitung 1894, S. 506.

Gegenwart von Ammoniak eine erhebliche Verzögerung und Unklarheit des Farbenumschlags bewirkt. Unter diesen Umständen liess sich auch für den Verlauf der Reaction keine richtige Formelgleichung aufstellen, was zur Folge hatte, dass für die Titration nicht einfache Normallösungen angewendet werden konnten. Man musste vielmehr empirische Lösungen herstellen, deren Wirkungswerth erst jedesmal durch besondere Bestimmungen ermittelt werden musste.

Ich habe nun die Fehler, welche der Methode anhafteten, beseitigt und dadurch erreicht, dass dieselbe in der neuen Form an Schärfe und Genauigkeit nichts zu wünschen übrig lässt. Den Hauptfehler vermeide ich dadurch, dass ich nach dem Lösen des gelben Niederschlags in überschüssiger Natronlauge das Ammoniak durch Kochen völlig entferne. In einer solchen ammoniakfreien Lösung zeigt Phenolphthalein ausserordentlich scharf den Uebergang von Dinatriumphosphat in Trinatriumphosphat an, wie es schon früher von Geisler¹⁾ nachgewiesen worden ist.

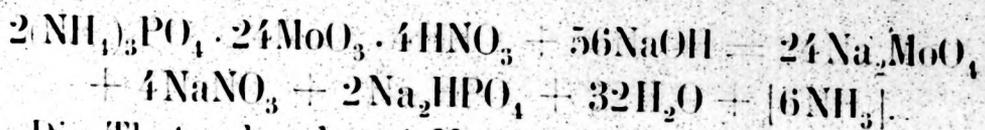
Wenn man nun nach obiger Vorschrift verfährt, so ist man auch in der Lage, für den Vorgang eine chemische Gleichung aufzustellen und aus dieser den Factor zu berechnen, welcher die Phosphorsäuremenge angibt, die 1 cem ⁿ/₁ oder ⁿ/₂ Natronlauge entspricht.

Die Formelgleichung ergibt sich aus folgenden Versuchen. Zunächst wurde eine Dinatriumphosphatlösung von genau bekanntem Gehalte hergestellt. 50 cem derselben ergaben nach dem Verdampfen und Glühen in 2 verschiedenen Bestimmungen genau 0.1880 g Natriumpyrophosphat, entsprechend 100.32 mg P₂O₅. Aus 25 cem dieser Lösung (= 50.16 mg P₂O₅), welchen ca. 10 cem Säuregemisch zugefügt waren, wurde nun nach den weiter unten angegebenen Vorschriften das Ammoniumphosphormolybdat gefällt, völlig ausgewaschen und dann in ⁿ/₂ Natronlauge klar gelöst. Nach dem Wegkochen des Ammoniaks und Zusatz von Phenolphthalein wurde mit ⁿ/₂ Schwefelsäure zurücktitrirt. Eine grosse Anzahl von Versuchen, welche

¹⁾ Pharmaceut. Centralblatt 1894. S. 115.

mit wechselnden Mengen angestellt wurden, ergaben nun übereinstimmend das Resultat, dass der gelbe Niederschlag aus 25 cem Dinatriumphosphatlösung, in der beschriebenen Weise gefällt und behandelt, 39,5—39,6 cem n_2 Natronlauge zu seiner genauen Neutralisation erfordert, dass also im Mittel 39,55 cem n_2 Natronlauge 50,16 mg P_2O_5 entsprechen. Nach der Proportion $50,16 : 39,55 = 142 : x$ entsprechen demnach 142 g P_2O_5 112 Liter n_2 Natronlauge = 56 Liter n_1 Natronlauge oder 1 Molekül $P_2O_5 = 56$ Moleküle NaOH.

Für das aus salpetersaurer Lösung gefällte Ammonphosphormolybdat ist schon früher von Hundeshagen¹⁾ die Formel $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3 + 2HNO_3$ ermittelt werden. Durch die obigen Versuche wird nun bewiesen, dass auch der nach meinen Fällungsvorschriften erzeugte gelbe Niederschlag dieselbe Zusammensetzung²⁾ hat. Die obige Formel erfordert nämlich nach ihrer Verdoppelung (= 1 Molekül P_2O_5) unter der Voraussetzung, dass das Ammoniak durch Kochen aus der Lösung entfernt worden ist, ebenfalls genau 56 Moleküle NaOH zu ihrer Neutralisation, wenn Phenolphthalein als Indicator dient. Man kann also für diesen Vorgang die folgende Formelgleichung aufstellen:



Die Thatsache, dass 1 Molekül P_2O_5 56 NaOH entsprechen, ermöglicht nun, dass man zur Titration einfache Normallösungen (am besten n_2 Lösungen) verwenden kann. Wenn 112 Litern

1) Zeitschrift f. analyt. Chemie Bd. 28, S. 141 (1889).

2) Wie Hundeshagen in der citirten Abhandlung zeigt, sind die beiden Salpetersäuremoleküle leicht veränderlich. Sind andere Säuren oder Salze in der Lösung, so können diese leicht an ihre Stelle treten. Da nun bei Anwendung der Säuregemisch-Veraschung erhebliche Mengen Schwefelsäure neben der Salpetersäure in Lösung sind und ausserdem zur völligen Ausfällung des gelben Niederschlags grosse Mengen Ammonnitrat hinzugefügt werden müssen, so können an dieser Stelle des Gesamtmoleküls leicht Veränderungen eintreten. Dieselben haben aber auf die Menge der Natronlauge, welche zur Neutralisation erforderlich ist, keinen Einfluss und sind deshalb auch bei der folgenden Formelgleichung nicht berücksichtigt worden.

" 2 Natronlauge 142 g P_2O_5 entsprechen, so hat man für 1 cem

" 2 Natronlauge $\frac{142}{112} = 1,268$ mg P_2O_5 zu berechnen.

Es dürfte noch zweckmässig sein, einige Bemerkungen über die Herstellung und die Behandlung des gelben Niederschlags zu machen. Durch die Säuregemisch-Veraschung kommen erhebliche Mengen Schwefelsäure in die Untersuchungsflüssigkeit hinein. Es wollte nun lange nicht gelingen, aus dieser Lösung vollständige Abscheidung des Ammoniumphosphormolybdats zu erhalten, dieselbe war eine langsame und unvollkommene und die Flüssigkeit blieb häufig, selbst nach längerem Stehen, noch gelb gefärbt. Schliesslich gelang es nach vielen Versuchen, unter Anwendung verhältnissmässig grosser Mengen Ammonitrat¹⁾, eine schnelle und vollständige Ausfällung zu erreichen. Da es aber aus diesen Gründen zweckmässig ist, nicht zu grosse Mengen Säuregemisch zu verwenden, so ist bereits bei der Veraschung darauf zu achten, dass, wenn irgend möglich, nicht mehr als 40 cem Gemisch zur Verwendung kommen. Auf diese Menge beziehen sich die unten folgenden Angaben: man muss also jedesmal wissen, wieviel Cubikcentimeter Gemisch (annähernd) bei der Veraschung verwendet wurden.

Der erhaltene Niederschlag ist in der Flüssigkeit, aus der er abgeschieden wurde, völlig unlöslich, auch in sehr kaltem Wasser ist er so schwerlöslich, dass nur bei längerer Berührung mit dem Wasser eine sehr geringe Löslichkeit beobachtet wird. Da das Ammonphosphormolybdat mit kaltem Wasser ausgewaschen werden muss, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig neutral reagirt, so empfiehlt es sich, durch Decantiren zu filtriren, damit das Wasser nicht zu lange mit der Hauptmenge des Niederschlags in Berührung bleibt. Um völlig neutrale Reaction des Filtrats zu erhalten, genügt 3—4 maliges Auswaschen, welches aus obigen Gründen ohne Unterbrechung erfolgen muss. Wäscht man zu lange aus, so kann eventuell

1) Die Flüssigkeit muss während der Abscheidung des Niederschlags 10° Ammonitrat enthalten.

wieder auftretende saure Reaction von geringer Lösung des Niederschlags herrühren, worauf zu achten ist. Bei genügender Sorgfalt lässt sich jedoch die ganze Operation des Filtrirens und Auswaschens schnell und ohne jeden Verlust ausführen.

Für die Ausführung zweier Controllbestimmungen z. B. in 20 cem Milch oder 1 g getrockneter Faeces sind 2 bis 2½ Stunden erforderlich.

In Folgendem gebe ich nunmehr eine genaue Beschreibung der Methode.

Princip. Die Substanz wird durch die Säuregemisch-Veraschung zerstört. Aus der Aschenlösung wird nach bestimmten Vorschriften die Phosphorsäure als Ammoniumphosphormolybdat gefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wird sodann in überschüssiger $\frac{n}{2}$ Natronlauge gelöst; nach dem Wegkochen des Ammoniaks und völligem Erkalten wird mit $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure zurücktitrirt. Da 1 Molekül P_2O_5 des gelben Niederschlages bei dieser Behandlung zu seiner Neutralisation unter Anwendung von Phenolphthalein 56 Moleküle NaOH erfordert, so entsprechen jedem verbrauchten Cubikcentimeter $\frac{n}{2}$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5 (s. oben).

Erforderliche Lösungen.

1. 50%ige Ammonnitratlösung.
2. 10%ige Ammonmolybdatlösung (kalt gelöst und filtrirt).
3. $\frac{n}{2}$ Natronlauge und $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure.
4. 1%ige alkoholische Phenolphthaleinlösung.

Ausführung der Phosphorsäurebestimmung. Die Substanz wird nach den im ersten Abschnitt (S. 118) gegebenen Vorschriften der Säuregemisch-Veraschung unterworfen¹⁾; die dort am Schlusse angegebene Verdünnung mit Wasser, sowie das Kochen der Aschenlösung werden für diese Bestimmung zweckentsprechend modificirt. Unter der Annahme, dass für die Veraschung nicht mehr als 40 cem Säuregemisch verwendet wurden (s. oben), werden ca. 140 cem Wasser zu dem Veraschungsproduct hin-

1) Will man die Untersuchung in rein anorganischer Lösung vornehmen, so fügt man 40 cem Säuregemisch hinzu und verdünnt mit Wasser auf etwa 150 cem.

zugegeben, so dass man etwa 150—160 ccm¹⁾ Flüssigkeit hat. Nach dem Zufügen von 50 ccm Ammonnitrat²⁾ wird auf etwa 70—80° erhitzt, d. h. bis gerade Blasen aufsteigen; darauf werden 40 ccm Ammonmolybdat³⁾ hineingegeben. Man schüttelt den entstandenen Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak etwa $\frac{1}{2}$ Minute gründlich durcheinander, wodurch sich derselbe körniger abscheidet, und lässt 15 Minuten in einem Stativringe stehen.

Das Filtriren und Auswaschen geschieht durch Decantiren: man verwendet dünnes, am besten aschefreies Filtrirpapier, welches beim späteren Auflösen des Niederschlages in verdünnter Natronlauge leicht zerreisst und sich dann durch die ganze Flüssigkeit vertheilt. Die Filter, welche einen Radius von 5—6 cm haben, werden entweder als Faltenfilter oder als glatte Filter im Rippentrichter benutzt. Vor dem Filtriren wird das Filter mit eiskaltem Wasser gefüllt, um die Filterporen zusammenzuziehen und so zu verhindern, dass die noch warme Lösung in Folge des äusserst feinen Niederschlages nicht ganz klar filtrirt. Um bequem zu decantiren, legt man den auf dem Stativringe befindlichen Kolben etwas höher als das Filter und lässt durch Neigen des Kolbenhalses die klare Flüssigkeit ohne Unterbrechung durch das Filter fließen, indem man den Zufluss nach dem Abfluss regulirt. Auf diese Weise kann man erreichen, dass nur sehr wenig Niederschlag auf das Filter kommt, welches stets nur bis zu $\frac{2}{3}$ seines Volumens gefüllt wird. Das Auswaschen geschieht in der Weise, dass

1) Etwa die Hälfte des Säuregemisches verflüchtigt sich während der Veraschung.

2) Wurden bei der Veraschung mehr als 40 ccm Säuregemisch verwendet, so ist die Verdünnung mit Wasser und die Menge des Ammonnitrats in demselben Verhältnisse zu vermehren. Von letzteren müssen sich während der Abscheidung des Niederschlages 10% in der Lösung befinden.

3) 40 ccm Ammonmolybdat reichen aus für 60 mg P_2O_5 . Es ist zweckmässig, die Substanzmenge so zu wählen, dass sie nicht mehr als 50 mg P_2O_5 enthält, weil man sonst unnöthig viel von den Normallösungen gebraucht und die Bestimmungen selbst bei 15 mg P_2O_5 noch sehr zuverlässige Resultate geben.

man zu dem im Kolben zurückgebliebenen Niederschlage unter vollständiger Bepflügelung der Kolbenwandungen etwa 150 ccm eiskaltes Wasser setzt, heftig durchschüttelt und in dem Stativringe absitzen lässt. Während dessen wird auch das Filter 1—2 mal mit eiskaltem Wasser gefüllt. Man decantirt dann wieder, wie oben beschrieben, und wiederholt das Auswaschen im Ganzen etwa 3—4 mal, bis das Waschwasser gerade nicht mehr gegen Lakmuspapier sauer reagirt (s. oben).

Nunmehr gibt man das ausgewaschene Filter in den Kolben hinein zu der Hauptmenge der Fällung, fügt etwa 150 ccm Wasser hinzu, zertheilt durch heftiges Schütteln das Filter durch die ganze Flüssigkeit und löst den gelben Niederschlag, indem man aus einer Bürette gemessene Mengen $\frac{1}{2}$ Natronlauge hinzufügt, unter beständigem Schütteln und ohne zu erwärmen eben gerade zu einer farblosen Flüssigkeit auf. Sodann wird noch ein Ueberschuss von 5—6 ccm $\frac{1}{2}$ Natronlauge hinzugefügt und die Flüssigkeit so lange (etwa 15 Minuten) gekocht, bis mit den Wasserdämpfen kein Ammoniak mehr entweicht (Prüfung mit feuchtem Lakmuspapier). Nach völligem Abkühlen unter der Wasserleitung wird durch Hinzufügen von 6—8 Tropfen Phenolphthaleinlösung die Flüssigkeit stark geröthet¹⁾ und der Ueberschuss an Alkali durch $\frac{1}{2}$ Säure zurückgemessen. Der Farbenumschlag ist sehr scharf.

Berechnung. Die Anzahl der zugefügten Cubikcentimeter $\frac{1}{2}$ Natronlauge abzüglich der verbrauchten Cubikcentimeter $\frac{1}{2}$ Säure ergeben mit 1,268 multiplicirt die Menge P_2O_5 in Milligrammen.

5. Bestimmung der Salzsäure (aus Chloriden) bei der Säuregemisch-Veraschung.

Princip. Bei der Säuregemisch-Veraschung entweicht alles Chlor (aus Chloriden) in Form von Salzsäure. Lässt man nun

1) Wird die Flüssigkeit nicht stark roth, so müssen noch einige Cubikcentimeter $\frac{1}{2}$ Natronlauge hinzugefügt werden. Auch nach abermaligem Erhitzen (Prüfung auf Ammoniak) muss die Lösung stark roth bleiben.

diese Dämpfe über eine Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt gehen, so wird die Salzsäure quantitativ als Chlorsilber gefällt. Nach Entfernung der mitübergegangenen salpetrigen Säure durch Kochen und durch Kaliumpermanganat, sowie nach der Zersetzung des letzteren durch Eisenoxydulsalz wird das überschüssige Silber nach der Volhard'schen Methode mittelst Rhodankalium (-Ammonium) zurücktitriert. Man verwendet wässriges Säuregemisch, da bei Anwendung des concentrirten leicht etwas Chlor als solches entweicht (siehe Abschnitt 7).

Erforderliche Lösungen.

1. Wässriges Säuregemisch, bestehend aus gleichen Volumtheilen Wasser, concentrirter Salpetersäure (specifisches Gewicht 1,4) und concentrirter Schwefelsäure.

2. 5%ige Kaliumpermanganatlösung.

3. 5%ige Ferroammonsulfatlösung (mit Schwefelsäure bis zur Klärung versetzt).

4. Eisenoxydammoniakalaun (kalt gesättigte Lösung).

5. Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt (bei geringem Chlorgehalt benutzt man zweckmässig eine solche, von der 1 ccm 0.002 g NaCl entspricht).

6. Rhodankalium(ammonium)lösung, gegen die Silberlösung genau eingestellt.

Apparatur. In den Tubus einer Retorte von ca. $\frac{1}{2}$ Liter Inhalt ist ein Tropftrichter luftdicht eingeschliffen. Das möglichst lange Rohr der Retorte verjüngt sich so, dass es leicht durch den Hals eines Kolbens von $\frac{1}{2}$ Liter Volumen hindurchgeht. Dieser als Vorlage dienende Kolben liegt in einer Schale, welche zur Kühlung mit Wasser gefüllt wird.

Ausführung der Chlorbestimmung. Feste Substanzen werden feucht oder trocken in die Retorte gebracht; Flüssigkeiten müssen vorher bei schwacher Sodaalkalescenz soweit wie möglich concentrirt werden.

Nachdem man in den Vorlagekolben überschüssige, genau abgemessene Mengen Silberlösung gegeben hat, fügt man so viel Wasser hinzu, dass $\frac{1}{4}$ des Kolbens mit Flüssigkeit gefüllt ist. Sodann legt man ihn in die mit Wasser gefüllte

Schale und schiebt das Retortenrohr so hinein, dass sein Ende sich etwa 1 cm über der Flüssigkeit befindet. Nunmehr setzt man den Tropftrichter in den Tubus luftdicht ein und lässt aus demselben das verdünnte Säuregemisch langsam unter Erwärmen eintropfen. Das übergehende Destillat erzeugt alsbald in der Silberlösung weisse Trübung oder Niederschlag von Chlorsilber. Nach Verlauf von $\frac{1}{2}$ Stunde prüft man, ob noch Salzsäure übergeht. Dazu lässt man aus derselben Bürette, aus welcher man die Silberlösung für die Vorlage abgemessen hat, 1—2 cem in ein weites Reagensglas fliessen und lässt das zu prüfende Destillat in dieses tropfen. Wenn kein Chlorsilber mehr ausfällt, ist die Destillation beendet. Die zu den Proben benutzten Silbermengen werden quantitativ mit der Hauptmenge in der Vorlage vereinigt; ausserdem notirt man die Gesamtsilbermenge nach dem Stande in der Bürette.

Da die mitübergegangene salpetrige Säure die Titration mit Rhodanlösung stört, so muss sie vorher entfernt werden. Zu dem Zwecke kocht man 5—10 Minuten (am besten, um Stossen zu vermeiden, auf einem Baboblech), bis alle braunen Dämpfe entwichen sind. Der Rest der salpetrigen Säure wird durch Zufügen von Kaliumpermanganat bis zur beginnenden Rothfärbung wegoxydirt und dann der Ueberschuss an Permanganat durch einige Tropfen Ferroammonsulfat entfärbt.

Nach völligem Erkalten wird unter Hinzufügen von 5 cem Eisenoxydammoniakalaun mit der Rhodankaliumlösung zurücktitrirt. Man gibt letztere schnell unter starkem Umschütteln hinzu, bis gerade eine röthlich-bräunliche Färbung eintritt, welche bei ruhigem Stehen 5—10 Minuten erhalten bleibt, dann aber allmählich durch Zersetzung des Chlorsilbers verschwindet.

Berechnung. Durch Subtraction der verbrauchten Rhodankaliummenge von dem Gesamtsilber erhält man die Silbermenge, welche durch die in der Substanz enthaltene Salzsäure als Chlorsilber gefällt war; man kann daraus nach der Titerstellung die Salzsäuremenge leicht ermitteln.

6. Bisherige Bestimmungsmethoden im Anschluss an die Säuregemisch-Veraschung.

Wie bereits im zweiten Abschnitt erwähnt ist, kann man in der durch die Säuregemisch-Veraschung erhaltenen Aschenlösung in den meisten Fällen nach den bisherigen Methoden Bestimmungen ausführen. Dabei ist Voraussetzung, dass die genaue Bestimmung weder durch die grossen Mengen Schwefelsäure, noch durch die vielen Ammonsalze nach der Neutralisation mit Ammoniak beeinträchtigt wird, was besonders dann vorkommen kann, wenn nur sehr geringe Mengen des zu bestimmenden Körpers vorhanden sind. Ist dieses der Fall, so empfiehlt es sich, die Schwefelsäure durch starkes Erhitzen des unverdünnten Veraschungsproductes abzurauchen. Sollte dabei das Erhitzen in dem Veraschungskolben zu lange dauern, so ist es zweckmässig, mit wenig Wasser zu verdünnen, in eine Platin- oder Porzellanschale quantitativ überzugliessen und in dieser soweit wie möglich abzdampfen.

Kalium- und Natriumbestimmung. Bei dieser Bestimmung dürfte besonders das eben beschriebene Verfahren zu empfehlen sein, da hier zunächst alle übrigen Substanzen durch Chlorbaryum und Barytwasser entfernt werden und sich ohne vorherige Entfernung der Schwefelsäure ungeheure Mengen von Baryumsulfat bilden würden, die durch ihre Menge und schwierige Filtration die genaue Bestimmung sehr erschweren können. Weiterhin verfährt man dann in der bisher üblichen Weise, indem man aus dem Filtrat den Baryt durch Ammoniak und Ammoncarbonat fällt, das Filtrat eindampft und bis zur Entfernung der Ammonsalze schwach glüht. Man bestimmt dann die Summe der Alkalisalze einerseits, andererseits die Menge des Kaliums durch Fällung mit Platinchlorid und erhält dann das Natrium durch Subtraction.

Calcium- und Magnesiumbestimmung. Wenn nicht sehr kleine Mengen der einen oder der anderen Substanz vorhanden sind, kann man ohne Entfernung der Schwefelsäure die Bestimmungen ausführen. Die Bestimmung des Calciums durch

Titration des Oxalats mittelst Permanganat ist wegen ihrer Einfachheit in den Vordergrund gestellt worden.

Man macht die gekochte Aschenlösung (Abschnitt 1, S. 118) deutlich ammoniakalisch (dazu bringt man ein Stück Lakmuspapier in die Flüssigkeit), säuert mit Essigsäure an, filtrirt eventuell von ungelöstem Ferriphosphat ab und fällt mit Ammoniumoxalat. Sodann lässt man etwa 1 Stunde auf dem Wasserbade stehen, damit sich der Niederschlag vollständig abscheiden kann, und filtrirt unter Decantiren (siehe bei der Eisenbestimmung) durch ein kleines, aschefreies Filter von 3—4 cm Radius, indem man so wenig wie möglich von dem Niederschlag auf das Filter bringt. Nun wäscht man mit warmem Wasser unter Decantiren so lange aus, bis eine Probe des Filtrats nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure oder nitritfreier Salpetersäure und Erwärmen einen Tropfen der zur Titration verwendeten Permanganatlösung nicht mehr entfärbt. Durch diese Prüfung kann man die völlige Entfernung von Oxalsäure und salpetriger Säure, die von der Veraschung herrührt, erkennen; ihre Anwesenheit würde die Titration mittelst Permanganat beeinflussen. Sodann löst man, indem man den Trichter mit Filter auf den Kolben stellt, der die Hauptmenge des Niederschlages enthält, die kleinen Mengen Calciumoxalat auf dem Filter mit heisser nitritfreier Salpetersäure¹⁾ und wäscht mit heissem Wasser völlig aus. Man hat dann allen Kalk in der salpetersauren Lösung und titirt nun, indem man erwärmt, bis gerade Blasen springen, je nach der Kalkmenge mit einer ca. n_{10} oder n_{100} Permanganatlösung, deren Gehalt man jedesmal durch Titrirung einer n_{10} oder n_{100} Oxalsäure ermittelt. Es empfiehlt sich, die Flüssigkeitsmengen bei der Titerstellung und bei der Haupttitration annähernd gleich zu nehmen.

Man kann selbstverständlich auch die Bestimmung des

1) Hat man sehr viel Niederschlag auf das Filter gebracht, so verfährt man besser in der früheren Weise, indem man den Niederschlag vom Filter spült und nach Zusatz von Schwefelsäure und Erwärmen titirt.

Calciumoxalats auf gewichtsanalytischem Wege als Calciumoxyd ausführen.

Das Filtrat vom Kalkniederschlage wird möglichst weit concentrirt, mit Ammoniak, citronensaurem Ammoniak und Natriumphosphat versetzt und der Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia in der üblichen Weise als pyrophosphorsaure Magnesia bestimmt.

7. Analytische Resultate.

Um die Richtigkeit der Methoden zur Bestimmung des Eisens, der Phosphor- und Salzsäure zu prüfen, sind ein grosse Menge von Versuchen ausgeführt worden, welche sehr exacte Resultate ergaben. Es würde zu weit führen, diese Resultate im Einzelnen hier aufzuzählen: ich will nur Einiges über den Gang der Prüfung im Allgemeinen sagen und eine Anzahl analytischer Resultate anführen, welche an Nahrungsmitteln und Körpersubstanzen gewonnen wurden.

Zunächst wurde die Richtigkeit der Methoden durch Ermittlung in Lösungen von bekanntem Gehalt geprüft. Für die Eisenbestimmung wurde die dort (S. 125) angegebene Eisenchloridlösung (10 ccm = 2 mg Fe), für die Phosphorsäurebestimmung die (S. 130) beschriebene Dinatriumphosphatlösung (50 ccm = 100,32 mg P_2O_5) benutzt; für die Salzsäurebestimmung dienten Lösungen, welche in je 10 ccm 100 resp. 20 mg NaCl enthielten.

Mit diesen Lösungen von bekanntem Gehalt wurden die Bestimmungen nach den obigen Methoden ausgeführt, indem die Ausgangsmenge mehrfach verändert wurde. Es wurden stets die angewendeten Mengen innerhalb sehr geringer Fehlergrenzen wieder gefunden.

Sodann wurde mit den Lösungen unter Zufügen von 1 g chemisch reinen Traubenzuckers ebenfalls unter Variation der Substanzmengen die Säuregemisch-Veraschung ausgeführt und daran die Bestimmung angeschlossen. Auch hier wurden dieselben genauen Resultate wie ohne Veraschung erhalten.

Zum Beweise dafür, dass bei der Salzsäurebestimmung,

auch wenn das Retortenrohr nicht in die Silberlösung eintaucht, alle Salzsäure in Chlorsilber übergeführt wird, wurden mehrfach gewichtsanalytische Versuche angestellt, welche ergaben, dass alles Chlor als Chlorsilber vorliegt und in der Retortenflüssigkeit keine Spur von Chlor mehr nachweisbar ist.

Die titrimetrischen Versuche mit Rhodanlösung wurden durch Wägung des Chlorsilbers controllirt, welche völlige Uebereinstimmung ergaben. Dass es nöthig ist, wässriges Gemisch zu verwenden, wurde dadurch ermittelt, dass bei concentrirtem Gemisch regelmässig etwas zu niedrige Werthe gefunden wurden, was bei wässrigem Gemisch nicht der Fall war. Anscheinend wird durch concentrirtes Gemisch etwas Chlor frei, welches nicht von der Silberlösung aufgenommen wird.

Ich lasse noch einige Resultate, welche an Nahrungsmitteln und Körpersubstanzen gewonnen wurden, folgen:

Eisen: getr. Faeces (3—4 g): 0,0755; 0,0759; 0,0754% Fe;
getr. Blutkörperchen (ca. 1 g): 0,265; 0,265; 0,256; 0,260; 0,265% Fe;
defibrin. Schweineblut (10 resp. 20 ccm): 0,0383; 0,0385; 0,0380 g Fe
in 100 ccm.

Harn: Ueber die Eisenmengen im Harn vergleiche die folgende Abhandlung.

Phosphorsäure¹: getr. Faeces (ca. 1 g): I. 4,222; 4,211% P₂O₅.
II. 4,888; 4,900% P₂O₅.
Schabefleisch (feucht): 0,445; 0,441% P₂O₅.
Reis: 0,2359; 0,2358% P₂O₅.
Cakes: 0,3113; 0,3049% P₂O₅.
Milch: I. 0,2041; 0,2052 g P₂O₅ } in 100 ccm Milch
II. 0,2059; 0,2071 g P₂O₅ }

1) Die Phosphorsäurebestimmung ist bereits von Anderen benutzt worden, welche sehr gute Resultate mit derselben erzielt haben. Vergl. darüber:

John Malcolm. Note on the percentage composition of egg-yolk. Journal of Physiology. Bd. 27, S. 355 (1901).

W. Cronheim und E. Müller. Versuche über den Stoff- und Kraftwechsel des Säuglings mit besonderer Berücksichtigung des organisch gebundenen Phosphors. Zeitschrift für diätetische und physikalische Therapie. 1902/1903, Bd. 6, Heft 1 u. 2. Diese Arbeit enthält drei Controllanalysen, welche die Genauigkeit der Methode darthun.

Salzsäure: getr. Faeces: 0,5241, 0,5345% NaCl;

getr. Blutkörperchen, welche durch Kochsalzlösung abge-
schieden waren: 5,232: 5,434% NaCl.

Von den im 6. Abschnitt erwähnten Bestimmungen wurde die Kalkbestimmung, welche etwas modificirt ist, an Lösungen von bekanntem Gehalt nachgeprüft. Die Prüfung ergab scharfe Resultate.

Bei der Ausführung der vielen Untersuchungen, welche zur Feststellung der beschriebenen Methoden führten, hatte ich mich der schätzenswerthen und fleissigen Mitarbeit der Herren E. Baum, Dr. Cl. Flamand und W. Sadikoff zu erfreuen, denen ich hiermit besten Dank ausspreche.