Verfahren zur Eisenbestimmung in Milch.

Von

F. E. Nottbohm und W. Weißwange.

Mittheilung aus dem Staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg.

Seit längerer Zeit wird im Handel vielfach eine sogenannte „Eisenmilch“ angetroffen, welche gegenüber gewöhnlicher Marktmilch zu einem beträchtlich höheren Preise verkauft und hauptsächlich für Blutarme empfohlen wird. Der besondere Wert dieser Milch soll darin liegen, daß ihr gegenüber normaler Milch ein höherer Eisengehalt zugeschrieben wird, der durch Verfüttern von Eisenpräparaten an solche Milchtiere, welche dem Ende der Lactationsperiode nahe sind und nur noch verhältnismäßig wenig Milch liefern, angeblich erzielt wird.

Die Frage, ob eine Anreicherung des an sich äußerst geringen Eisengehaltes der Milch durch Fütterung mit Eisensalzen möglich ist, muß auf Grund der vorliegenden Literaturangaben zurzeit als ungelöst bezeichnet werden, wenn auch die Mehrzahl der Autoren, die sich mit der Klärung dieser Frage beschäftigt haben, zu der Ansicht neigen, daß eine wesentliche Vermehrung des Eisengehaltes der Milch auf künstlichem Wege nicht hervorgerufen werden kann. Um einer Lösung dieser Aufgabe näherzutreten und die sogenannte Eisenmilch auf ihren besonderen Wert hin prüfen zu können, bedurfte es zunächst einer Sichtung der bisher angewendeten Methoden der Eisenbestimmung in Milch und der Prüfung ihrer Anwendbarkeit bei Ausführung einer größeren Anzahl von Untersuchungen, da von der Genauigkeit und leichten Handhabung der eingeschlagenen Arbeitsweise der Erfolg in erster Linie abhängig sein muß.

Die seither zur Eisenbestimmung in Milch angewendeten Methoden finden sich fast ausschließlich in medizinischen Zeitschriften (Zeitschrift für physiologische Chemie, Zeitschrift für Biologie, Biochemische Zeitschrift, Archiv für Hygiene und anderen) beschrieben. Es erscheint daher angebracht, auf die Eigenarten der zur Anwendung gelangten Verfahren an dieser Stelle etwas näher einzugehen.

Offenbar hat als erster Schwarz¹⁾ im Jahre 1813 den Eisengehalt der Milch bestimmt. Er zog den in Wasser unlöslichen Teil der Milchasche mit Salpetersäure aus, behandelte den beim Neutralisieren der sauren Lösung mittels Ammoniak erhaltenen Niederschlag mit Salz- und Salpetersäure und fällte aus der filtrierten Lösung das Eisen mit bernsteinsaurem Natrium als Ferrisuccinat.

Später ermittelte Julius Haidlen²⁾ den Eisengehalt der Milch, indem er den wasserunlöslichen Anteil der Milchasche durch Salzsäure in Lösung brachte, durch Zusatz von Alkohol und Schwefelsäure den Kalk als Sulfat ausfällte, und im Filtrat davon durch Zusatz von Ammoniak Eisen und Magnesium als Phosphate fällte. Nach dem Behandeln des Niederschlages mit Essigsäure wurde das zurückbleibende Ferriphosphat in Salzsäure gelöst und durch Zusatz von Schwefelammonium in Schwefeleisen übergeführt, welches nach dem Filtrieren und Glühen als Eisenoxyd zur Wägung gelangte.

¹⁾ Inaugural-Dissertation 1813; nach Archiv f. Hygiene 1887, 7, 291.

²⁾ Annal. d. Chem. u. Pharm. 1843, 45, 263.

In ähnlicher Weise bestimmten R. Wildenstein¹⁾ und auch Bunge²⁾ den Eisengehalt verschiedener Milchaschen. Es wurde hierbei aus der salzsauren Aschenlösung das Eisen durch Ammonacetat als Ferriphosphat gefällt und gewogen.

Von den zuerst angewendeten gewichtsanalytischen Verfahren ist B. Anselm³⁾ insofern abgewichen, als er die oxydierte salzsaure Lösung der Milchasche zunächst mit Weinsäure versetzte und dann mit Ammoniak stark alkalisch machte. Nach mehrtätigem Stehen wurden die abgeschiedenen Phosphate der alkalischen Erden abfiltriert, aus der weinsäuren Lösung das Eisen in der Wärme durch Schwefelammonium gefällt und als Eisenoxyd zur Wägung gebracht.

Im Gegensatz zu den gewichtsanalytischen Eisenbestimmungen in Milchaschen wählte Mendes de Leon⁴⁾ eine colorimetrische Methode. Er brachte die Lösung der Milchasche in Schwefelsäure nach dem Oxydieren mittels Kaliumchlorats auf ein bestimmtes Volumen und verglich nach Zusatz von Rhodankalium die erhaltene Färbung mit der einer Lösung von bekanntem Eisengehalt.

Daß bei der direkten colorimetrischen Bestimmung des Eisens, wie sie Mendes de Leon anwendete, die in der Milchasche vorhandenen Phosphate störend wirken, wies als erster Ewers⁵⁾ nach. Er schmolz deshalb zur Entfernung der Phosphorsäure die Asche mit Soda und Salpeter und nahm die Schmelze mit heißem Wasser auf, wobei die gebildeten Alkaliphosphate in Lösung gehen, während die Erdkalicarbonate mit dem Eisenoxyd ungelöst zurückbleiben. Der unlösliche Rückstand wurde gut ausgewaschen, in 10 ccm verdünnter Salzsäure gelöst und nach Zusatz von Rhodankaliumlösung das Eisen colorimetrisch bestimmt.

Die bekannte titrimetrische Eisenbestimmung mittels Permanganat nach Reduktion durch Zink und Schwefelsäure scheint zuerst Söldner⁶⁾ auf Milchaschen angewendet zu haben.

Die gleiche Methode wählten neuerdings Fendler, Frank und Stüber⁷⁾ für diesen Zweck. Sie titrierten die schwefelsaure Lösung der Asche von 200 ccm Milch nach Reduktion mit Zink mit $\frac{1}{20}$ N.-Permanganatlösung.

Bei seinen späteren Untersuchungen über den Eisengehalt verschiedener Milcharten bediente sich Söldner⁸⁾ aber wieder einer gewichtsanalytischen Methode. Er löste die Milchasche in Salzsäure, fällte mit Ammoniumacetat ein Gemisch von Eisenoxyd, Phosphorsäure und Tonerde (?) aus, löste dieses wieder in Salzsäure und verfuhr dann genau wie Anselm, nur dass er das als Schwefeleisen gefällte Eisen nach Lösen in Salzsäure und Oxydation mittels Salpetersäure mit Ammoniumacetat als basisch essigsaures Eisenoxyd ausfällte und als Eisenoxyd bestimmte.

Nach einer bekannten Modifikation der colorimetrischen Eisenbestimmung als Rhodaneisen führten Hilary Lachs und H. Friedenthal⁹⁾ eine Reihe von Eisen-

¹⁾ Erdmann's Journ. f. prakt. Chem. 1853, 58, 28; nach Archiv f. Hygiene 1887, 10, 293.

²⁾ Zeitschr. f. Biologie 1874, 10, 295.

³⁾ Verhandlungen der Physik-Medizin. Gesellschaft zu Würzburg 1894, N.F., 28.

⁴⁾ Archiv f. Hygiene 1887, 7, 286.

⁵⁾ Apotheker-Zeitung 1898, 13, 536.

⁶⁾ Zeitschr. f. Biologie 1900, 39, 173.

⁷⁾ Diese Zeitschrift 1910, 19, 369.

⁸⁾ Zeitschr. f. Biologie 1903, 44 [N.F., 26], 61.

⁹⁾ Biochem. Zeitschrift 1911, 32, 130.

bestimmungen in Milchaschen aus. Ihrem Vorschlage entsprechend nimmt man am zweckmäßigsten die Asche von 5 ccm Milch mit 1 ccm Wasser und 1 ccm $\frac{6}{1}$ N.-Salzsäure auf, versetzt mit 1 ccm konzentrierter Rhodankaliumlösung und schüttelt mit 1 ccm Äther aus.

Das sich bildende Ferrirhodanid geht in den Äther über und erteilt ihm, bei geringen Eisenmengen, eine rosenrote Farbe, die man mit einer analog hergestellten Farbenskala vergleicht. Um Anhaltspunkte für die Richtigkeit der nach dieser Methode erhaltenen Werte zu gewinnen, bestimmten die obigen Autoren in einem Falle das Eisen in der Milchasche titrimetrisch. Sie versuchten 500 ccm Milch, nahmen die Asche mit Salzsäure auf, neutralisierten annähernd mit Soda und reduzierten mit schwefliger Säure, anstatt wie bisher mit Zink und Schwefelsäure. Nach vollständiger Entfernung der schwefligen Säure durch Kochen wurde mit $\frac{1}{50}$ N.-Permanganatlösung titriert.

Als jüngste Methode der Eisenbestimmung in Milch ist schließlich noch die von F. Edelstein und F. v. Csonka¹⁾ zu nennen. Diese Autoren benutzten das Neumann'sche²⁾ Verfahren, indem sie 1 Liter Milch versuchten, die Asche in Salzsäure unter Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure lösten, in einen Kjeldahl-Kolben filtrierten und mit Schwefelsäure abrauchten. Aus der schwefelsauren Lösung wurde durch Zinksulfat und Ammoniak (event. nach Zusatz von 10 ccm einer bekannten Eisenchloridlösung) bei Gegenwart von genügend Natriumphosphat das Eisen zusammen mit dem Zinkammoniumphosphat gefällt. Der Niederschlag wurde in Salzsäure gelöst und nach der bekannten Mohr'schen Eisenbestimmungsmethode nach Zusatz von Jodkalium die dem Eisenoxyd äquivalente Menge freigewordenen Jods durch $\frac{1}{250}$ N.-Thiosulfatlösung titriert.

Bei Anwendung der vorerwähnten und ähnlicher Methoden sind seitens einer großen Anzahl von Autoren, die sich mit der Bestimmung des Eisengehaltes der am leichtesten zugänglichen tierischen Milchsorten beschäftigt haben, die verschiedenartigsten Werte erhalten worden. Es sollen, wenn wir den Angaben von F. Edelstein und F. v. Csonka hier folgen, beispielsweise für Kuhmilch in der Literatur Werte von 1—15 mg Eisen, entsprechend 1,4—21,4 mg Eisenoxyd pro Liter und darüber hinaus ermittelt sein.

Daß bei dem äußerst geringen Eisengehalt der Milch so beträchtlich voneinander abweichende Werte gefunden worden sind, dürfte weniger auf die Art der Gewinnung bzw. die Behandlung der Milch vor der Untersuchung, als vielmehr auf die für den gegebenen Zweck nicht genügende Genauigkeit der angewendeten analytischen Methoden zurückzuführen sein.

Einschließlich der Methode von Schwarz, welcher aber wohl nur historischer Wert beigemessen werden kann, sind die ersten Bestimmungen von Eisen in der Milch gewichtsanalytisch durchgeführt worden.

In allen Fällen, in denen das Eisen in essigsaurer Lösung als Phosphat gefällt und so zur Wägung gebracht wurde, sind zweifellos zu hohe Werte erhalten worden, weil nach dieser Methode, wenn man den Niederschlag nicht nochmals umfällt, bekanntlich außer Ferriphosphat stets beträchtliche Mengen anderer Aschenbestandteile mitgefällt werden. Bedenkt man ferner, daß neuere Untersuchungen einen Eisengehalt von nur etwa 1 mg Eisenoxyd pro Liter wahrscheinlich gemacht haben, so müßte

¹⁾ Biochem. Zeitschrift 1912, 38, 14.

²⁾ Archiv f. Anatom. und Physiol., Physiol. Abteil. 1902, 362.

bei Anwendung einer gewichtsanalytischen Methode zu jeder Bestimmung mindestens 1 Liter Milch in Arbeit genommen werden, um überhaupt nur 1 mg Eisenoxyd zur Wägung bringen zu können. Die Schwierigkeiten, welche sich der Veraschung und Verarbeitung so großer Mengen Ausgangsmaterial entgegenstellen, haben die meisten der oben genannten Autoren aber gescheut und deshalb wesentlich weniger Milch verascht. Dann treten aber unter gewöhnlichen Verhältnissen schon Wägefehler in so erheblichem Grade in Erscheinung, daß die erhaltenen Resultate auf hinreichende Genauigkeit keinen Anspruch erheben können.

Die Anwendung einer titrimetrischen Eisenbestimmungsmethode bietet gegenüber den gewichtsanalytischen Methoden für Milchaschen unleugbare Vorteile. Aber auch hier können der Wirklichkeit entsprechende Werte nur gewonnen werden, wenn man ebenfalls große Milchmengen in Arbeit nimmt.

Fendler, Frank und Stüber fanden nach der oxydimetrischen Eisenbestimmungsmethode in 100 g Milch 0,4 bis 1,2 mg Eisenoxyd, was bei Verarbeitung von 200 ccm Milch und Titration mittels $\frac{1}{20}$ N.-Permanganatlösung nur einem Verbrauch von rund 0,2 bis 0,6 ccm entspricht.

Bereits Lunge¹⁾ hat darauf hingewiesen, daß schon eine $\frac{1}{10}$ N.-Permanganatlösung „nach keiner der bekannten Methoden auf eine größere Genauigkeit als auf $\pm \frac{1}{200}$ des Gesamtbetrags an aktivem Sauerstoff einzustellen ist. Es wäre ganz illusorisch, eine größere Genauigkeit bei der Arbeit dadurch erzielen zu wollen, daß man eine genau eingestellte $\frac{1}{10}$ N.-Lösung durch Verdünnung mit destilliertem Wasser auf $\frac{1}{50}$ oder $\frac{1}{100}$ N.-Lösung bringt, denn bekanntlich wirkt auch das destillierte Wasser auf Chamäleon, sodaß man die Lösungen erst einige Zeit stehen lassen muß, ehe man sie einstellen darf. Man müßte faktisch die $\frac{1}{50}$ oder $\frac{1}{100}$ N.-Lösung wieder frisch einstellen, was aber wieder mit einer 5- bis 10-fach geringeren Sicherheit als bei $\frac{1}{10}$ N.-Lösung gelingt, sodaß man schließlich gar nicht weiterkommt, als wenn man direkt mit $\frac{1}{10}$ N.-Lösung titriert. Bei Versuchen, den Eisengehalt in Milchschale mit $\frac{1}{100}$ N.-Permanganatlösung zu ermitteln, war es auch uns unmöglich, das Ende der Titration genauer als auf 0,2 ccm zu bestimmen, da das Eintreten der Rosafärbung sehr schwer zu erkennen war. Hinzukommt, daß man bei jeder Titration bei der gebräuchlichen Büretteneinteilung in $\frac{1}{10}$ ccm sehr leicht einen Ablesungsfehler von $\pm 0,02$ bis $0,025$ ccm macht, was aber bei einer $\frac{1}{10}$ N.-Permanganatlösung 0,16 bis 0,20 mg Eisenoxyd ausmachen würde.

Wenn wir, wie bereits erwähnt, für 100 ccm Milch einen Gehalt von rund 0,1 mg Eisenoxyd annehmen, so würde man bei der Titration dieser 100 ccm Milch nur 0,025 ccm $\frac{1}{20}$ N.-Permanganatlösung verbrauchen. Hieraus ist leicht ersichtlich, daß bei der Titration des Eisens selbst aus größeren Milchmengen mittels Permanganat schon die Ablesungsfehler so erheblich ins Gewicht fallen, daß die auf diese Weise erhaltenen Werte den wirklichen Eisengehalt der Milch nur annähernd wiedergeben können. Bei den erheblichen Fehlerquellen, welche der Titration so geringer Eisenmengen mittels Permanganats schon an sich anhaften, erscheint es belanglos, den durch einen etwaigen geringen Eisengehalt des zur Reduktion verwendeten Zinks verursachten Fehler durch Anwendung von schwefliger Säure etc. als Reduktionsmittel zu vermeiden.

Um die Jodometrie, welche bekanntlich als eine der genauesten analytischen

¹⁾ Zeitschr. angew. Chem. 1896, 3.

Methoden gilt, zur Eisenbestimmung in Milch anwenden zu können, muß man ebenfalls beträchtliche Milchmengen verarbeiten (nach F. Edelstein und F. v. Csonka mindestens 1 Liter). Die Mineralisierung einer so großen Milchmenge dauert aber nach Angabe obiger Autoren, falls man nach dem Neumann'schen Verfahren die organische Milchsubstanz direkt im Kjeldahl-Kolben zerstört, etwa 3 Wochen, oder wenn man vorher in einer Platinschale einengt, mindestens 1 Woche. Eine derartig langwierige Methode kann demnach nur da praktische Anwendung finden, wo größere Milchmengen und hinreichend Zeit zur Verfügung stehen.

Aus den angeführten Gründen erschienen uns für die Ermittlung des natürlichen Eisengehaltes der Milch sowohl die gewichtsanalytischen wie die titrimetrischen Eisenbestimmungsmethoden unzweckmäßig. Es blieb also noch zu prüfen, inwieweit die seither angewendeten colorimetrischen Methoden für den angegebenen Zweck verwertbar sind.

Schon Lunge weist darauf hin, daß die bekannte colorimetrische Eisenbestimmung mittels Rhodankalium bzw. Rhodanammonium für die Bestimmung sehr kleiner Mengen von Eisen den gewichtsanalytischen und titrimetrischen Bestimmungen an Genauigkeit weit voransteht.

Nähere Angaben über die Ausführungsform der colorimetrischen Bestimmung des Eisens bei Untersuchung von Wässern hat allem Anscheine nach zuerst A. F. Jolles¹⁾ gegeben.

Die heute bei Vornahme dieser Bestimmung fast allgemein angewendeten graduierten Zylinder mit Ausflußrohr sind allerdings schon von Otto Hehner²⁾ gelegentlich der Bekanntgabe seiner colorimetrischen Methode zur Ermittlung des Ammoniakgehaltes von Wasser in Vorschlag gebracht worden. Ihm gebührt auch das Verdienst, diese Zylinder für alle anderen colorimetrischen Bestimmungen, insbesondere für diejenige des Eisens in Wasser, empfohlen zu haben.

Man arbeitet jetzt gewöhnlich so, daß man die zu prüfende salzsaure Lösung nach der Oxydation in einen Hehner'schen Zylinder gibt und nach Zusatz von 1 ccm einer 5⁰/o-igen Rhodanammonlösung und 1 ccm 20⁰/oiger Salzsäure mit Wasser auf 100 ccm bringt. In einen anderen Hehner'schen Zylinder bringt man eine entsprechende Vergleichslösung (Eisenammonalaun) und füllt ebenfalls nach Zusatz von Rhodanammoniumlösung und Salzsäure auf 100 ccm auf. Nach dem Umschütteln stellt man durch Ablassen der jeweils stärker gefärbten Flüssigkeit auf Farbgleichheit ein.

Wendet man diese Methode ohne weiteres auf eine salzsaure Milchaschenlösung an, wie das offenbar auch Mendes de Leon getan hat, so versagt sie.

Hierauf hat schon Ewers³⁾ hingewiesen. Nach ihm stören die in der Lösung vorhandenen Phosphate die Färbung, indem sie das Rhodaneisen zersetzen.

Jolles gelangte auf Grund vergleichender Untersuchungen zu dem Schluß, daß Nitrate, Chloride und Carbonate der Alkalien die Farbenreaktion nicht beeinträchtigen und daß die Chloride und Carbonate der alkalischen Erden erst dann stören, wenn mehr von ihnen zugesetzt wird, als normaler Weise in Wässern vorkommen.

Da die Milch im Vergleich zu normalen Wässern sehr viel größere Mengen Mineralstoffe enthält und diese auch in einem ganz anderen Verhältnis zueinander

¹⁾ Arch. f. Hyg. 1888, 8, 402.

²⁾ Chemical News 1876, 33, 185.

³⁾ Apotheker-Ztg. 1898, 13, 537.

stehen, erschien es notwendig nachzuprüfen, ob nur die Phosphate oder auch noch sonstige Aschenbestandteile in dem Prozentgehalt, wie sie in einer durchschnittlichen Milchasche enthalten sind, die Farbenreaktion beeinflussen.

Zu diesem Zwecke haben wir Lösungen hergestellt, welche die in der Milch vorkommenden Mineralstoffe in ähnlicher prozentischer Zusammensetzung enthielten, und mit diesen nach Zusatz verschiedener kleiner Eisenmengen in der üblichen Weise vergleichende colorimetrische Bestimmungen ausgeführt.

Außer den in der Milchasche im allgemeinen vorkommenden Bestandteilen wurde für die Lösung derselben nur ein Überschuß von Salzsäure (20 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Salzsäure für 100 ccm Lösung) verwendet, der für 100 ccm 0,3545 g Chlor entspricht.

Die Zusammensetzung der Lösungen zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

100 ccm Lösung enthielten:

Bestandteile	Lösung A (künstliche Milchaschenlösung)	Lösung B	Lösung C	Lösung D
Calciumoxyd (CaO) . . .	0,1201 g	0,1201 g	—	—
Magnesiumoxyd (MgO) .	0,0188 „	0,0188 „	0,0188 g	—
Chlorkalium (KCl) . . .	0,2982 „	0,2982 „	0,2982 „	0,2982 g
Chlornatrium (NaCl) . .	0,1528 „	0,1528 „	0,1528 „	0,1528 „
Schwefelsäure (SO ₃) . .	0,0304 g (=7,6 ccm $\frac{1}{10}$ N.-H ₂ SO ₄)	0,0304 „	0,0304 „	0,0304 „
Phosphorsäure (P ₂ O ₅) . .	0,1850 „ (=0,2554 g H ₃ PO ₄)	—	0,1850 „	—
Chlor (Cl)	0,3545 „ (=20 ccm $\frac{1}{2}$ N.-HCl)	0,3545 g	0,3545 „	0,3545 g

Bei jedem Versuche wurden annähernd 100 ccm der Lösungen A—D in Hehner'schen Zylindern mit verschiedenen Mengen einer Ferriammoniumsulfatlösung, welche in 1 ccm 0,1 mg Eisenoxyd enthielt, versetzt und mit entsprechenden Eisenmengen in destilliertem Wasser nach Zusatz von Rhodanammonium colorimetrisch verglichen.

Die Ergebnisse zeigt die Tabelle II.

Tabelle II.

Zugesetztes Eisen- oxyd (Fe ₂ O ₃)	Wiedergefundenes Eisenoxyd (Fe ₂ O ₃) in Lösung			
	A	B	C	D
0,05 mg	Färbung in keinem Falle mit derjenigen der Vergleichs- lösung vergleichbar	0,050 mg	Ergebnisse wie bei Lösung A	0,034 mg
0,10 „		0,087 „		0,063 „
0,20 „		0,146 „		0,124 „
0,50 „		0,375 „		0,330 „

Aus der Tabelle II geht hervor, daß Lösungen, welche Phosphorsäure in der angegebenen Menge enthalten, nach der üblichen Methode keine Färbungen geben, welche sich mit der Rhodaneisenfärbung colorimetrisch vergleichen lassen. Bei einem Gehalt von 0,2 und 0,5 mg Eisenoxyd waren diese Lösungen (A und C) deutlich

gelb gefärbt, während die entsprechende Vergleichslösung einen roten Farbton zeigte. Dasselbe Resultat gab auch eine wässrige Lösung, die neben Eisenalaun lediglich Phosphorsäure in der angegebenen Menge enthielt.

Diese Versuche bestätigen also die Befunde von Ewers und zeigen, daß sich in einer salzsauren wässrigen Milchaschenlösung das Eisen nach der colorimetrischen Methode ohne weiteres nicht bestimmen läßt.

Die Versuche mit den Lösungen, welche keine Phosphorsäure enthielten, zeigen aber auch, daß die Phosphorsäure nicht allein als störendes Moment bei der colorimetrischen Eisenbestimmung in Betracht kommt, worauf bereits H. Werner¹⁾ hingewiesen hat. Man bekommt hier zwar Rhodaneisenfärbungen, welche denen der Vergleichslösung ähnlich sind, die erhaltenen Werte fallen aber durchweg etwas zu niedrig aus. Die mit Lösung D, welche neben Kalium- und Natriumchlorid nur Schwefelsäure und Salzsäure enthielt, erhaltenen Resultate liegen niedriger als die bei Lösung B erhaltenen, in der Basen (Calcium- und Magnesiumoxyd) zugegen sind. Um zu zeigen, daß die Gegenwart größerer Mengen von Salzsäure und Schwefelsäure allein schon die Bestimmung des Eisens beeinflussen, wurden entsprechende Lösungen, welche Schwefelsäure und Salzsäure in der angegebenen Menge bzw. beide getrennt enthielten nach Zusatz bestimmter Mengen der Vergleichslösung nach der obigen Methode geprüft und auch bei diesen durchweg etwas weniger Eisenoxyd gefunden als in Form von Eisenalaun hineingetan worden war.

Die ausgeführten Versuche zeigen demnach, daß die allgemein übliche Form der colorimetrischen Eisenbestimmung sich für Aschen, welche ähnlich zusammengesetzt sind wie Milchasche, nicht anwenden läßt oder doch nur annähernde Werte ergibt.

Um trotzdem die leicht ausführbare und besonders bei kleinen Eisenmengen sehr genaue colorimetrische Methode zur Ermittlung des äußerst geringen Eisengehaltes der Milchasche anwenden zu können, erscheinen zwei Möglichkeiten Erfolg zu versprechen. Entweder man nimmt wie Lachs und Friedenthal eine ziemlich konzentrierte wässrige Lösung der Asche, schüttelt gleich nach Hinzugabe des Rhodankaliums das sich bildende Rhodaneisen mit Äther aus, und bestimmt dann die Stärke der Färbung der ätherischen Schicht, ein Verfahren, welches schon H. v. Kéler und G. Lunge²⁾ in ähnlicher Ausführung zur Bestimmung des Eisengehaltes der schwefelsauren Tonerde des Handels angewendet und empfohlen haben, oder man trennt vor der colorimetrischen Bestimmung in wässriger Lösung das Eisen von den diese Bestimmung störenden Bestandteilen der Milchasche, insbesondere von der Phosphorsäure.

Letzteren Weg hat, wie schon erwähnt, Ewers eingeschlagen. Er schmilzt zu diesem Zwecke die Milchasche mit Soda und Salpeter, zieht die Schmelze mit Wasser aus und benutzt den wasserunlöslichen Rückstand, der außer Eisen vor allem noch viel Calcium- und Magnesiumcarbonat enthält, nach Lösen in Salzsäure zur colorimetrischen Eisenbestimmung.

Nach diesem Verfahren haben Fendler, Frank und Stüber jedoch keine befriedigenden Werte erhalten. Das Auswaschen der Sodaschmelze ist ziemlich langwierig, ganz abgesehen davon, daß man auf diese Weise nur die Phosphorsäure entfernt, während die Carbonate des Calciums und Magnesiums zurückbleiben, welche

¹⁾ Zeitschr. f. analyt. Chem. 1883, 22, 44.

²⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 1894, 670.

dann auf die colorimetrische Bestimmung in der wässerig-salzsäuren Lösung, wie gezeigt worden ist, einen nachteiligen Einfluß ausüben (siehe Tabelle II, Lösung B). Um diesen Übelstand zu vermeiden und auf eine leicht ausführbare Weise die geringen Eisenmengen der Milch asche von allen übrigen Aschenbestandteilen zu trennen, erschien die Anwendung der vor kurzem von Baudisch¹⁾ veröffentlichten Methode zur quantitativen Bestimmung des Eisens mittels „Cupferron“ am meisten Erfolg zu versprechen.

„Cupferron“ ist das Ammoniumsalz des Nitrosophenylhydroxylamins. Es bildet mit Eisen ein inneres komplexes Salz, das selbst bei Gegenwart von erheblichen Mengen Mineralsäuren in der Kälte wasserunlöslich ist, sich dagegen leicht mit Äther, Chloroform und anderen organischen Lösungsmitteln aufnehmen läßt.

Das Cupferron ist von der Firma Merck-Darmstadt zum Preise von 9 Mk. für 100 g in sehr reinem Zustand zu beziehen und auch seine Darstellung im Laboratorium aus Nitrobenzol macht keine nennenswerten Schwierigkeiten²⁾.

Den Hauptwert der Cupferronmethode erblicken H. Biltz und O. Hödtke³⁾ in der bequemen Trennung des Eisens von Aluminium, Chrom und Schwefelsäure. Neuerdings hat auch R. Fresenius⁴⁾ diese Methode nachgeprüft und auf diese Weise die Bestimmung des Eisens bei Gegenwart von Alkalien, Erdkalien sowie Alkaliphosphaten mit befriedigenden Ergebnissen durchgeführt.

Da alle diese Versuche jedoch mit weit größeren Mengen Eisen, als in der Milch asche bisher gefunden worden sind, ausgeführt wurden, mußte geprüft werden, ob das Cupferron auch noch zur Abscheidung von Bruchteilen eines mg Eisen sich verwenden läßt, wozu es von vornherein infolge seines großen Moleküls geeignet erscheint.

Zunächst wurden je 100 ccm der vorstehend erwähnten künstlichen Milch aschenlösung A, welche genügend mineralsauer war, mit 4 mg Eisenoxyd in Form von Ferriammoniumsulfat versetzt. Nach Hinzufügen von 2 ccm einer 50/0-igen Cupferronlösung entstand ein deutlicher braunroter Niederschlag, der nach kurzem Stehen mit Hilfe der Saugpumpe durch ein kleines aschefreies Filter (Platinkonus) filtriert werden konnte. Der Niederschlag wurde mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das ablaufende Filtrat nicht mehr sauer reagierte. Dann wurden Filter samt Niederschlag in einem kleinen Porzellantiegel verascht, mäßig geglüht und gewogen, wobei 4 mg Eisenoxyd wiedergefunden wurden.

Nach Zusatz von 1 mg Eisenoxyd zu 100 ccm der Lösung A wurde in gleicher Weise verfahren, nur mit dem Unterschiede, daß der Glührückstand nicht gewogen, sondern nach wiederholter Behandlung mit Salzsäure colorimetrisch bestimmt wurde. Auch hier ließ der gefundene Wert von 1 mg die Genauigkeit der Methode erkennen.

Bei noch geringeren Eisenmengen (0,40 bzw. 0,22 mg Eisenoxyd) brachte jedoch die zugesetzte Cupferronlösung nur noch eine Trübung hervor, die sich zwar noch filtrieren ließ, aber bei der colorimetrischen Bestimmung nur 0,33 bzw. 0,15 mg ergab, ein Zeichen, daß ein geringer Verlust beim Filtrieren des kaum sichtbaren Niederschlages eingetreten war. Um dies zu vermeiden, wurden später geringere

¹⁾ Chem.-Ztg. 1909, **33**, 1298.

²⁾ Chem.-Ztg. 1911, **35**, 913.

³⁾ Zeitschr. anorg. Chem. 1910, **66**, 426.

⁴⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1911, **50**, 35.

Eisenmengen als 1 mg nach dem Fällern mit Cupferronlösung nicht mehr filtriert, sondern mit Chloroform ausgeschüttelt.

Die Verwendung von Chloroform hat vor dem anfangs benutzten Äther insofern den Vorzug, als die Flüssigkeit nicht so leicht an den Gefäßwandungen hochkriecht.

Wie aus den nachstehenden Versuchen hervorgeht, hat dieses Ausschüttelungsverfahren zu durchaus befriedigenden Ergebnissen geführt.

Die Versuche erstreckten sich zunächst auf rein wässrige Lösungen von bekanntem Eisengehalt. Je 0,10, 0,07 und 0,04 mg Eisenoxyd (in Form von Ferriammoniumsulfat) wurden mit 40 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Salzsäure und destilliertem Wasser auf 100 ccm verdünnt, mit Cupferron versetzt und nach der später angegebenen Methode weiter behandelt, wobei sich 0,10, 0,06 und 0,03 mg Eisenoxyd ergaben.

Um zu zeigen, daß die in der Milch asche vorhandenen sonstigen Bestandteile auf die Ergebnisse keinen Einfluß haben, wurden zu je 100 ccm der Lösung A bekannte kleine Mengen Eisenoxyd zugesetzt und die Bestimmung in gleicher Weise ausgeführt.

Die Ergebnisse waren die folgenden:

Eisenoxyd	{ zugesetzt	0,1	0,07	0,06	0,05	0,04
(Fe ₂ O ₃) mg	{ wiedergefunden . { a)	0,1	0,06	{ a) 0,05	a) 0,04	0,04
	{ b)	0,1		{ b) 0,05	b) 0,05	

Auf Grund dieser Versuche bringen wir das folgende Verfahren der Eisenbestimmung in Milch in Vorschlag:

100 ccm Milch werden, am besten in zwei Platinschalen, unter Glastrichtern auf dem Wasserbade eingetrocknet, im Luftrockenschrank allmählich auf 150—180° erhitzt und dann möglichst in einer Quarzmuffel verascht. Die völlige Veraschung nimmt man bei bedeckten Schalen über Pilzbrennern vor.

Um die letzten Spuren Kohle zu entfernen, verreibt man die Asche mit etwas Wasser, trocknet wieder auf dem Wasserbade ein und glüht nochmals schwach. Die gänzlich weiß gebrannte Asche wird 2-mal mit eisenfreier Salzsäure auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, mit etwa 40 ccm $\frac{1}{2}$ N.-Salzsäure aufgenommen, in einen Erlenmeyer-Kolben übergeführt und nach Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure oxydiert.

Nach völligem Erkalten spült man die Aschenlösung in einen Scheidetrichter, versetzt mit 2 ccm einer 5%igen Cupferronlösung, mischt gut durch und läßt $\frac{1}{4}$ Stunde stehen. Dann schüttelt man die Lösung zweimal mit etwa 25 ccm Chloroform aus, läßt die gelb bis grünlich gefärbte Chloroformschicht in einen 100 ccm fassenden weithalsigen Erlenmeyer-Kolben aus Jenenser Glas fließen und destilliert das Chloroform auf dem Wasserbade bis auf die letzten Spuren ab, was durch Neigen des Kölbchens leicht zu erreichen ist. Der Rückstand wird durch vorsichtiges Erhitzen des Kölbchens über freier Flamme völlig verascht. Das nun deutlich wahrnehmbare Eisenoxyd bringt man durch Erwärmen mit Salzsäure und etwas Salpetersäure in Lösung, raucht noch zweimal mit Salzsäure ab und bestimmt schließlich in der üblichen, früher beschriebenen Weise das Eisen colorimetrisch.

Nach dieser Methode haben wir in einer gewöhnlichen Marktmilch, bei der also die Möglichkeit einer zufälligen Verunreinigung durch Eisen nicht ausgeschlossen war, zwei Bestimmungen ausgeführt, welche beide 0,13 mg Eisenoxyd in 100 ccm ergaben.

Zur weiteren Prüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurden dann dem einen von uns ohne sein Wissen zu je 50 ccm der gleichen Milch bekannte Eisenmengen zugesetzt.

Gefunden wurden an Eisenoxyd: a) 0,135 mg, b) 0,11 mg.
Nach Abzug von 0,065 mg für je 50 ccm Milch blieben

bei a) 0,07 mg

„ b) 0,045 „

während 0,08 bzw. 0,04 mg zugesetzt waren.

Die bei der eingeschlagenen Arbeitsweise erzielten Ergebnisse erscheinen hinreichend genau, um den wirklichen Eisengehalt der Milch bestimmen und einen etwaigen Übergang selbst kleinster Mengen Eisen in die Milch durch entsprechende Fütterung nachweisen zu können.

Hierüber soll in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Untersuchung von Mosten des Jahres 1911 aus den preußischen Weinbaugebieten.

Von

C. von der Heide.

Mitteilung aus der Önochemischen Versuchsstation Geisenheim a. Rh.

[Eingegangen am 14. April 1912.]

Zur Untersuchung gelangten im Herbste 1911 653 (darunter 7 rote) Moste.
Es entfallen auf das Gebiet:

Maingau	5 Moste,
Rheingau	208 „
Rechtes Rheintal } unterhalb	9 (2 rote) Moste,
Linkes „ } des Rheingaues	10 (3 rote) „
Nahe	42 Moste,
Mosel	192 „
Saar und Ruwer	173 „
Ahr	2 (2 rote) Moste,
Lahn	3 Moste,
Ostdeutsches Weinbaugebiet	9 „ .

Die Gesamtergebnisse werden in den „Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte“ veröffentlicht. Die folgende Tafel gibt eine kurze Übersicht über Mostgewicht und Säuregehalte der untersuchten Moste.