

Zur radiometrischen Mikroanalyse.

Von **Rudolf Ehrenberg**.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Göttingen.)

(Eingelangt am 12. Juli 1929.)

Die im Prinzip und einigen biologisch wichtigeren Anwendungen anderenorts¹⁾ dargestellte Methode der radiometrischen Mikroanalyse beruht auf der Mitfällung eines radioaktiven Elements mit ausfallenden Niederschlägen. Verwendet wurde bisher nur das Bleiisotop Thorium B, das relativ wohlfeil und leicht zu gewinnen ist und wegen seiner kurzen Halbwertszeit nicht die Gefahr der radioaktiven Verseuchung der Instrumente und Gerätschaften mit sich führt. Gemeinsam ist allen Bestimmungen der Ausgang der analytischen Operationen in eine Fällung, welche einen proportionalen Anteil des Thorium B mit niederschlägt sowie die elektrometrische Bestimmung der restierenden strahlenden Substanz im aliquoten Teil der überstehenden Lösung.

Die analytische Endfällung ist bei einem Teil der Bestimmungen die eines Bleisalzes, hier verteilt sich das Thorium B zwischen Niederschlag und Lösung nach Maßgabe des in der letzteren verbleibenden relativen Bleigehaltes. In diesen Fällen kann daher die eigentliche Analyse auch durch eine Fällung mit nichtindiziertem (Thorium-B-freiem) Blei beendet und späterhin die Bestimmung des gelöst verbliebenen Bleis auf radiometrischem Wege angeschlossen werden. Als solche, für die verschiedenen Analysengänge einheitliche abschließende Bleibestimmung hat sich am besten bewährt der Zusatz von 0,5 ccm indiziertem n/1000-Bleininitrat zu 1 ccm der fraglichen bleihaltigen Lösung und Ausfällung mit 0,5 ccm n/1000-Kaliumchromat, der restierende Thorium-B-Anteil geht mit der Menge des gefragten Bleis, geeicht wird direkt auf das eigentliche Analysenobjekt.

Bei einem anderen Teil der Analysen ist die Endfällung keine solche von Blei, sondern irgendeinem anderen Salz, das, wie die Erfahrung gezeigt hat, das Thorium B mitreißt, und zwar innerhalb eines gewissen, jeweils festzustellenden Bereiches proportional der Menge des ausfallenden Niederschlages. Von solchen Fällungen wurden bisher als brauchbar befunden die von Kalzium als Oxalat

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 164, 183 (1925); 172, 10 (1926); 183, 63 u. 68 (1927); 197, 467 (1928); und Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 56, 466.

und Phosphat, die von Eisen als Chromat. Diese Methode hat gegenüber der erstgenannten den Vorzug, daß die Bestimmung nicht durch die Anwesenheit bleifällender Ionen gestört wird, so vor allem, daß die radioaktive Bestimmung bei alkalischer Reaktion vorgenommen werden kann. Allerdings verläuft die Eichkurve hier nicht geradlinig oder ist vielmehr nur innerhalb eines Teilbereiches als annähernd geradlinig zu verwenden, dieser Bereich ist aber — in Anbetracht der analytisch vorgegebenen Mengen — immer weit genug, und die Genauigkeit ist durch mehrfache Parallelbestimmungen fast beliebig zu steigern.

Grundsätzlich wird bei allen Analysen jeweils ein bestimmtes Quantum des erfragten Elements der Analysensubstanz zugefügt, derart, daß dadurch einerseits die Bestimmung in den günstigsten Meßbereich gebracht wird, andererseits alle etwa vorhandenen sonstigen Ionen unter die störungsfähige Konzentration gebracht werden. Außerdem kann von dem zu erzielenden Niederschlag ein Quäntchen in Substanz vorher zugesetzt werden, um die Lösung zu sättigen.

Im nachfolgenden wird über einige weitere Verbesserungen und Modifikationen der Kalium-, Sulfat-, Phosphat- und Karbonat-(C-Bestimmung auf nassem Wege) Bestimmungen berichtet sowie die radiometrische Auswertung der Bestimmung des Natriums als Pyroantimoniat dargestellt werden; ferner werden für einige Analysen allgemein verwendbare Eichkurven angegeben. Bisher waren zu jeder Analysenreihe die Eichwerte eigens mitbestimmt, es läßt sich das aber auf die Festlegung jeweils eines Eichwertes und Umrechnung auf die Aktivitäten einer aus zahlreichen Eichbestimmungen errechneten Einheitstabelle reduzieren. Bei der Errechnung der Eichstabelle wurde eine Aktivität von 10.000 als „Kontrolle“, das heißt als die Aktivität des elektrometrisch bestimmten Lösungsvolumen ohne Fällung zugrunde gelegt. Bei solchen Analysen wie der Kohlenstoffbestimmung, wo die verwendeten definierten Lösungen nicht genau reproduzierbar sind (in Anbetracht der Analysenempfindlichkeit), müssen die Eichwerte auch weiterhin für jede Bestimmungsserie eigens festgelegt werden.

Als Beispiel sei hier eine Kalzium-Eichbestimmung und ihre Umrechnung angegeben:

| Kontrolle | 4 | 7 | 10 | 13 mg/1000 Ca |
|-----------|------|------|------|---------------|
| 11750 | 7805 | 5799 | 4424 | 3908 |
| 10000 | 6643 | 4935 | 3765 | 3325 |

Spezielle Bestimmungsverfahren.

1. Kalzium. Wie schon früher berichtet, wird die Kalziumbestimmung nach der Methode der Mitfällung von Thorium B mit dem Kalziumoxalatniederschlag ausgeführt. Zu 1 ccm der kalziumhaltigen Lösung mit einem Kalziumgehalt zwischen 4 und 13 mg/1000 Ca — bester Meßbereich: 7 bis 13 — wird 0,5 ccm gesättigte „indizierte“ Ammonoxalatlösung gebracht, drei Stunden stehengelassen, zentrifugiert, 1 ccm der überstehenden Lösung eingedampft und elektrometrisch bestimmt. Zur Indizierung der Oxalatlösung wird nach Zusatz einiger Tropfen Eisessig das mit Thorium B beladene Platinblech eine halbe Stunde in der Lösung belassen, danach wird diese mit Ammoniak gegen Phenolphthalein eben alkalisch gemacht.

Eichtabelle für Kontrollaktivität = 10.000:

| | | | | |
|------|------|------|------|---------------|
| 4,0 | 7,0 | 10 | 13 | 16 mg/1000 Ca |
| 6530 | 4816 | 3697 | 2930 | 2905 |

2. Kalium. Die früher beschriebene, auf der KRAMERTISDAL'schen Mikroausführung der Nitrokobaltiatmethode beruhende Bestimmung wurde darin modifiziert, daß die radioaktive Endfällung des restierenden Oxalats nicht mit indiziertem Blei, sondern gemäß oben unter 1. als Kalziumfällung ausgeführt wird. Die Modifikation ergab einen günstigeren Meßbereich mit größeren Aktivitätsunterschieden gegenüber dem früheren Verfahren. Der Kobaltnitritniederschlag wurde in der bekannten Weise erzeugt und nach drei Stunden Stehen zentrifugiert und ausgewaschen; Kaliumgehalt zwischen 7,8 und 31,3, günstigster Meßbereich 15,6 bis 23,4 mg/1000 K. Nach dem Auswaschen werden 0,2 ccm n/10-HCl und 0,5 ccm n/100-KMnO₄ zugesetzt, der Niederschlag in der Kapillare des Zentrifugenglases aufgewirbelt, genau fünf Minuten im siedenden Wasserbade digeriert und nach Zusatz von 0,5 n/100-Ammonoxalat noch eine halbe Minute. Das restierende Oxalat wird nach Abkühlung mit 0,5 ccm der nachstehend angegebenen Kalziumchloridlösung gefällt, das Gesamtvolumen (graduierte Zentrifugengläser) auf 3 ccm gebracht, drei Stunden stehengelassen, zentrifugiert, 1 oder 2 ccm eingedampft und radiometriert. Die verwendete Kalziumchloridlösung ist ungefähr n/10, sie wird nach Zusatz von drei Tropfen Eisessig mit dem beladenen Platinblech indiziert (20 ccm) und mit 0,1 ccm konzentrierter Ammoniaklösung alka-

lich gemacht. Eine höhere Alkaleszens ist zu vermeiden, nach Zusatz der Kalziumlösung auftretende braune Trübung zeigt die Unbrauchbarkeit der Bestimmung an. Bei der Feststellung der Kontrollaktivität muß das mit den 0,5 ccm der indizierten Kalziumlösung auf 3 ccm gebrachte Volumen auch die 0,2 ccm n/10-HCl enthalten, andernfalls zeigt die eingedampfte Probe einen viel zu niedrigen Aktivitätswert. Die Untersuchung dieses Einflusses stärkerer Alkaleszens auf die in der Lösung verbleibende Aktivität (Adsorption, Kolloidalität des Thorium B bei alkalischer Reaktion) ist noch nicht abgeschlossen.

Kalium-Eichtabelle für Kontrollaktivität = 10.000:

| | | | |
|------|------|------|----------------|
| 7,8 | 15,6 | 23,4 | 31,3 mg/1000 K |
| 8666 | 3696 | 2527 | 2146 |

3. Sulfat. Neben dem früher beschriebenen direkten Verfahren der Sulfatfällung mit indiziertem Blei hat sich eine indirekte Methode, wie sie analog schon für die Chloridbestimmung angegeben wurde, bewährt, die vor der ersteren den Vorzug der geringeren Löslichkeit des Barium- gegenüber dem Bleisulfat hat. Innerhalb eines Sulfatgehaltes, entsprechend 2,7 bis 16 mg/1000 S, wird 0,5 ccm der Analysenlösung mit 0,5 ccm n/500-BaCl₂ gefällt, das gelöst verbliebene Barium mit 0,1 ccm n/100-Kaliumchromat, schließlich das restierende Chromat mit 0,5 ccm indiziertem Bleinitrat niedergeschlagen. Die Fällungen werden in einem Zentrifugenglas nacheinander ausgeführt, am Schluß zentrifugiert und 1 ccm der Lösung zur radiometrischen Bestimmung eingedampft; Kontrollaktivität wie sonst, entsprechend 1 ccm des Reaktionsvolumens, ohne Fällung.

S-Eichtabelle für Kontrollaktivität = 10.000:

| | | | | |
|------|------|------|------|----------------|
| 2,7 | 4,0 | 5,3 | 8,0 | 16,0 mg/1000 S |
| 9520 | 7670 | 5780 | 2810 | 493 |

Bester Meßbereich: 2,7 bis 5,3 mg/1000 S.

4. Phosphat. Diese Bestimmung wurde früher ebenfalls in der Form der direkten Fällung von indiziertem Blei als Phosphat beschrieben. Demgegenüber hat die Methode der Mitfällung der strahlenden Substanz mit ausfallendem Kalziumphosphat den Vorzug größerer Empfindlichkeit und der Ausführung in alkalischer Lösung. Es wird 0,5 ccm der phosphathaltigen, neutralen bis schwach alkalischen Lösung mit 1 ccm einer gesättigten Kalziumchloridlösung gefällt, die nach Essigsäurezusatz indiziert

und mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht war; 1 ccm wird nach halbstündigem Stehen und Zentrifugieren eingedampft und radiometriert. Bester Meßbereich zwischen 4,9 und 7,9 mg/1000 P.

Eichtabelle für Kontrollaktivität = 10.000:

| | | | |
|------|------|------|----------------|
| 3,8 | 4,9 | 7,9 | 16, mg/1000 P. |
| 3752 | 2960 | 2047 | 895 |

5. Ammoniak- (Stickstoff-) Bestimmung. Der früher beschriebenen Methode der Überdestillation des Ammoniaks und Aufnahme in ein mit 5 ccm n/1000-Bleinitrat (nicht indiziert) beschicktes 10-ccm-Maßkölbchen sowie nach Auffüllung anschließender Bleibestimmung in 1 ccm nach der Chromatmethode sind nur einige Anmerkungen nachzuführen. Statt der Quarzapparatur ist auch eine solche aus bestem Jenaer Geräteglas verwendbar. Wie die Erfahrung gezeigt hat, geht das Ammoniak immer erst mit dem austropfenden Wasser über, man braucht das Destillationsendröhrchen nicht in die Vorlage eintauchen zu lassen und vermeidet so die Gefahr des Zurücksteigens. Die Alkaleszens der Destillationslösung wird zweckmäßig nicht so stark gewählt wie bei den gewöhnlichen Mikrokjeldahldestillationen, 10% Natronlauge (reinstes Natriumhydroxyd, Lösung vorher gekocht, immer gleiche Volumina) ist mehr als genügend. Als Kontrolle dient die Chromat-Bleibestimmung der Auffüllung ohne Ammoniakdestillation.

Eichtabelle für Kontrollaktivität = 10.000:

| | | |
|------|------|---------------|
| 14 | 28 | 42 mg/1000 N. |
| 8290 | 6539 | 4843 |

6. Kohlenstoffbestimmung auf nassem Wege. Für dieses ebenfalls früher beschriebene Verfahren, dessen radiometrischer Teil auch zur Bestimmung kleinster Kohlensäuremengen bei biologischen Versuchen dienen sowie an die Elementaranalyse angeschlossen werden kann, wurden zwei neue Modifikationen ausgearbeitet.

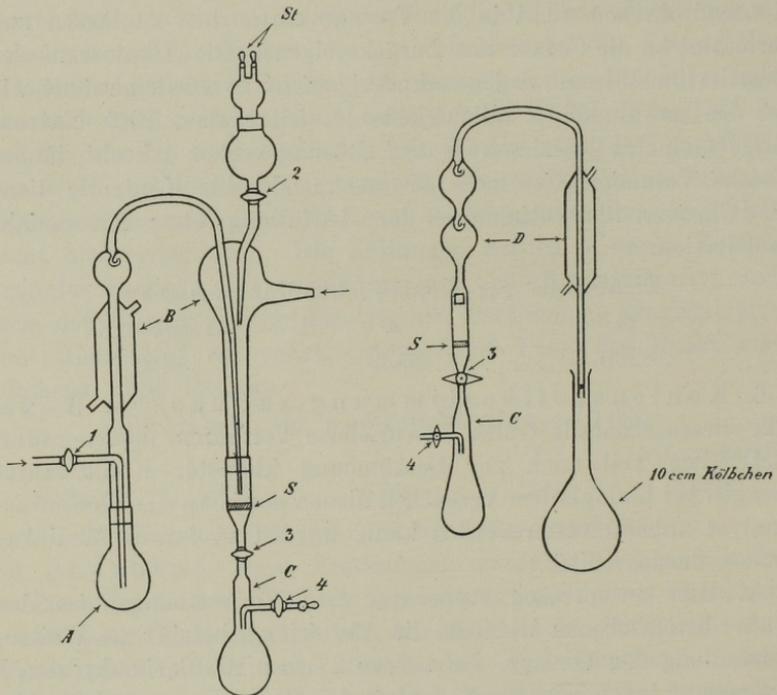
A. Hier entsprechen Apparatur und Verbrennungsweise der früher beschriebenen Methode, die Abweichung betrifft die Weiterbehandlung der Vorlage. Es werden 2 ccm n/100-Bariumhydroxyd vorgelegt, davon wird nach Schluß der Verbrennung und Durchlüftung 1 ccm im Zehner-Maßkölbchen mit 1 ccm n/100-Kaliumchromat versetzt und aufgefüllt. Von der Auffüllung wird 1 ccm mit 1 ccm indiziertem n/1000-Bleinitrat versetzt, zentrifugiert,

1 ccm eingedampft und radiometriert. Hier, wie bei allen Modifikationen der Karbonatbestimmung, müssen die Eichwerte für jede Bestimmungsreihe festgelegt werden, dazu diente eine Salizylsäurelösung von 0,00985 g auf 100 ccm, entsprechend n/100-Karbonat. Als Kontrollaktivität gilt 1 ccm der 1 : 1 verdünnten indizierten Bleinitratlösung.

Beispiele:

| Kontrolle | Leerverbrennung | 0,5 | 1,0 Salic. | 0,5 „K“ |
|-----------|-----------------|------|------------|---------|
| 2160 | 1737 | 1206 | 789 | |
| | 1738 | 1226 | 790 | |
| 5000 | 4130 | 3380 | 2170 | 3350 |
| | 4280 | 3380 | 2210 | 3340 |

„K“ ist ein Kaseinhydrolysat (Schwefelsäure) von einem C-Gehalt, entsprechend c. n/100-Karbonat. Der Kohlenstoffwert der Bestimmungen geht also von 30 bis 60 mg/1000 C.



B. Die zweite Modifikation wurde ausgearbeitet, um eine karbonatempfindlichere Vorlage verwenden zu können und die radio-metrische Bestimmung auf die sehr bewährte Ammoniakbestim-

mung hinauszuführen. Als Vorlage diene eine $n/500$ -NaOH, die ein Fünftel gesättigt bezüglich $BaCl_2$ war. Die verwendete Apparatur aus Jenaer Gerätéglass (siehe Abb. S. 66) besteht aus vier Teilen, von denen A, B und C während des ersten Teiles der Bestimmung — Verbrennung und Kohlensäureüberführung — in ihren Schlifren zusammengefügt sind, C und D während des zweiten Teiles — Ammoniakdestillation. Während des ganzen ersten Teiles bleibt Hahn 3 geschlossen, Hahn 4 während der ganzen Bestimmung, nachdem zu Beginn durch ihn C etwas evakuiert worden ist. Der Hahn 2 wird geschlossen, nachdem — vor Beginn der Erhitzung von A — die Apparatur kohlenstofffrei gemacht worden ist (kohlenstofffreie Druckluft), alsdann werden aus mit den Stopfen St gleichgeschliffener Bürette 5 ccm der Vorlagelösung in die Aufsatzkugel gelassen und durch Hahn 2, bei schwachem Ansaugen am Luftaustrittsrohr, in den Aufnahmeteil von B gebracht, sie setzen im Hals von C auf der Jenaer Siebplatte S auf. Hahn 2 wird geschlossen, die Verbrennung und langsame Durchlüftung wird anderthalb Stunden in Gang gehalten. Nach anschließendem viertelstündigen Kaltdurchlüften wird Hahn 3 geöffnet und die Vorlage durch die Siebplatte in C gesogen, von dem Aufsatzkölbchen aus werden 2 bis 3 ccm kohlenstofffreien Wassers nachgesogen. Jetzt wird C abgenommen und bei offenem Hahn 3 zum Sieden erhitzt: mit dem Kondenswasser wird der Bariumkarbonatniederschlag aus der Siebplatte hinaufgedrückt und mit zugefügtem, siedehißem Wasser — bei dauerndem Sieden in C — fortpipettiert. Dann wird in das erkaltende Kölbchen 1 ccm der Ammoniak liefernden Lösung und etwas Nachspülwasser gesogen. Als solche Lösung diene $n/100$ -Ammonazetatlösung, die auf 100 ccm 0,02 ccm Eisessig enthält, diese gibt beim Kochen ohne Alkali kein Ammoniak ab, wohl aber mit der Natronlauge der Vorlage gemäß dem verbliebenen Alkali.

Das Ammoniak wird mit einigen ccm Wasser in ein Zehnermaßkölbchen überdestilliert (Apparatur C + D), das 5 ccm $n/500$ -Bleinitrat enthält; nach Auffüllen des Kölbchens wird in 1 ccm nach der Chromatmethode mit indiziertem $n/1000$ -Bleinitrat der Bleigehalt radiometriert. Geeicht wird direkt auf Kohlenstoff mit der unter A. genannten Salizylsäurelösung; Kontrolle ist die Ammoniakdestillation mit unverbrauchten 5 ccm der Vorlagelösung.

Beispiele:

| Kontrolle | 0,25 ccm = 15 | 0,5 ccm Saliz. s. lsg. = 30 mg/1000 C |
|-----------|------------------|--|
| 1073 | 3426 | 4575 |
| 1085 | 3395 | 4247 |
| 1082 | 2606 | 4257 |
| | 2955 | 4266 |
| | 2965 | 4250 |
| | | 4259 |

7. Natrium. Diese, gemeinsam mit Herrn Dr. med. HANS NAUCKE ausgearbeitete Methode eignet sich in der vorliegenden Form nur zu Bestimmungen im Mengenbereich der gewöhnlichen Mikroanalyse — Meßbereich zwischen 0,46 und 1,38 mg Na —, dürfte sich aber bei ihrer bequemen Handhabung und guten Genauigkeit zur Natriumbestimmung in Körperflüssigkeiten wohl empfehlen. Sie beruht darauf, daß der in der üblichen Weise erzeugte Natriumpyroantimoniat-Niederschlag in der Hitze mit n/10-HCl — 1 ccm bei den angegebenen Natriummengen — zerlegt und die verbrauchte Salzsäure radiometrisch bestimmt wird. Daß bei diesem Verfahren der Verbrauch an Säure der Menge des Pyroantimoniats proportional ist, war in Vorversuchen mit gewöhnlicher Titration festgestellt worden.

Der Pyroantimoniatniederschlag wird im Zentrifugenglas erzeugt und mit 30% Alkohol ausgewaschen, nach dem Aufwirbeln in etwas Wasser wird er mit 1 ccm n/10-HCl beschickt und eine halbe Stunde im siedenden Wasserbad gehalten, er wandelt sich dabei in die amorphe Antimonsäure um. Es muß jetzt erheblich länger zentrifugiert werden, dann wird die überstehende Lösung mit mehrfachem Nachspülen in ein Fünzfingiger-Maßkölbchen überführt, je 1 ccm n/10-Soda und n/10-Bleinitrat zugesetzt, aufgefüllt und, nach Abzentrifugieren des Bleikarbonats, je 0,5 ccm mit je 0,5 ccm indiziertem n/1000-Bleinitrat und n/1000-Kaliumchromat versetzt, zentrifugiert und 1 ccm radiometriert. Die Kontrollaktivität wird gewonnen, indem 1 ccm n/10-Bleinitrat auf 50 ccm aufgefüllt und davon 0,5 ccm, wie oben, nach der Chromatmethode bestimmt wird.

Eichtabelle auf Kontrollaktivität = 10.000:

| | | | |
|------|------|------|------------|
| 0,46 | 0,92 | 1,15 | 1,38 mg Na |
| 7661 | 6605 | 6015 | 5490 |