

73. Titrationsen mit Chrom(II)-Salzlösungen I.

Apparatur zur chromometrischen Titration

von R. Flatt und F. Sommer.

(23. IV. 42.)

Reduzierbare Substanzen werden, soweit sie nicht ausgesprochene Oxydationsmittel sind, massanalytisch meist auf indirektem Weg bestimmt, indem man vorerst durch ein geeignetes Reduktionsverfahren den zu bestimmenden Stoff in eine niedrigere Oxydationsstufe überführt und dann mit einem kräftigen Oxydationsmittel titriert. So werden beispielsweise Eisen(III)-Salze in der Regel zu Eisen(II)-Salzen reduziert und hierauf mit Permanganat titriert, obwohl es durchaus möglich und oft auch sehr zweckmässig wäre, Eisen(III)-Salze mit einem starken Reduktionsmittel direkt zu titrieren.

Die Beliebtheit des Permanganats in der Massanalyse liegt in folgenden hervorstechenden Eigenschaften begründet:

1. hohes Oxydationspotential ($E = + 1,52$ Volt),
2. gute Beständigkeit,
3. hohe Farbintensität.

Seitdem man oxydimetrische Titrationsen potentiometrisch durchführt, haben sich als Titrierflüssigkeiten mit hohem Oxydationspotential ebenfalls eingeführt und ausgezeichnet bewährt:

Kaliumdichromat ($E = + 1,3$ Volt) und
Cer(IV)-sulfat ($E = + 1,44$ Volt).

Die Verwendung sehr kräftiger Reduktionsmittel zur potentiometrischen Titration ist erst in letzter Zeit aufgekommen. Es liegen verschiedene Gründe vor, die dem Arbeiten mit solchen Titrierlösungen hemmend im Wege stehen:

1. die Unsicherheit in der Titerbeständigkeit,
2. die Notwendigkeit, die Titrierlösungen unter Luftabschluss aufzubewahren,
3. die Notwendigkeit, unter Luftabschluss zu titrieren.

Diese Komplikationen machen sich besonders dann geltend, wenn die Reduktionsreaktionen langsam verlaufen und man genötigt ist, das Reduktionsmittel im Überschuss anzuwenden und dann nach einiger Zeit zurückzutitrieren.

Betrachtet man die Normalpotentiale der verschiedenen, als Reduktionsmittel in Frage kommenden Reagentien, so erkennt man sofort als besonders interessant:

Zinn(II)-Salze (E = + 0,15 Volt)

Titan(III)-Salze (E = - 0,04 Volt)

Chrom(II)-Salze (E = - 0,41 Volt).

Die Stannometrie wird kaum benützt; dagegen ist die Titanometrie, die sich auf die umfangreichen Arbeiten von *Knecht* und *Hibbert*¹⁾ stützt, Allgemeingut der Analytiker geworden.

Über die Verwendung der Chrom(II)-Salze liegt ebenfalls eine umfangreiche Literatur vor. Zu erwähnen sind vor allem die zahlreichen Untersuchungen von *Zintl* und *Rienäcker*²⁾, sowie diejenigen von *Brintzinger* und Mitarbeitern³⁾. Eine Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiet ist von *E. Brennecke*⁴⁾ publiziert worden.

Das Normalpotential Chrom(II)/Chrom(III) liegt bei - 0,41 Volt, also ganz wesentlich unter demjenigen des Wasserstoffs. Man sollte deshalb auf Grund der Potentiale annehmen, dass wässrige Lösungen von Chrom(II)-Salzen unter Wasserstoffentwicklung in Chrom(III)-Salze übergehen müssten, und viele Autoren⁵⁾ führen die beobachtete rasche Titerabnahme von Chrom(II)-Salzen auf diese Selbstersetzung zurück.

Orientierende Versuche haben uns jedoch gezeigt, dass saure Chrom(II)-Salzlösungen, in geeigneter Weise unter völligem Luftabschluss aufbewahrt, vollkommen stabil sind und selbst nach vielen Monaten keine oder nur ganz unbedeutende Titerveränderungen zeigen. Sie sind bezüglich Titerbeständigkeit dem Permanganat wesentlich überlegen. Diese Feststellung hat uns veranlasst, neue Analysenverfahren unter Verwendung von Chrom(II)-Salzlösungen als Titrierflüssigkeiten zu suchen. Vor allem interessierten uns Methoden zur Bestimmung von Legierungsmetallen, wie Molybdän, Wolfram, Uran, Vanadium, Titan, Antimon, Zinn, Wismut einzeln und in Gemischen; anderseits besteht Aussicht, mit Chrom(II)-Salzen langsam verlaufende Reduktionen aus dem Gebiete der organischen Chemie analytisch erfassen zu können.

In der vorliegenden ersten Mitteilung berichten wir über eine für chromometrische Titrations geeignete Apparatur, die allen Anforderungen genügt, sowie über die Herstellung der titerstabilen Chrom(II)-Salzlösungen.

Es ist eine längst bekannte Tatsache, dass Sauerstoff durch Kautschuk hindurch diffundiert. Über das Ausmass dieser Erschei-

¹⁾ New Reduction Methods in Volumetric Analysis. 2. Aufl. London, Longmans and Green 1925.

²⁾ Z. anorg. Ch. **161**, 374 (1927) u. a.

³⁾ Z. anorg. Ch. **165**, 221 (1927) u. a.

⁴⁾ in „Neuere massanalytische Methoden“, S. 108—129 (Die Chemische Analyse, Band XXXIII).

⁵⁾ *W. Traube* und *A. Goodson*, B. **49**, 1679 (1916); *Zintl* und *Rienäcker*, l. c.

nung gibt man sich aber meist nicht genügend Rechenschaft und sorgt nicht für deren Verhinderung. So wurde beispielsweise vorgeschlagen, chromometrische Titrations in einem Becherglas auszuführen, das mit einer Kautschukmembran abgeschlossen wird¹⁾. Nach unserer Erfahrung ist diese Apparatur durchaus ungenügend und führt unweigerlich zur Oxydation des Chrom(II)-Salzes durch eindiffundierenden Luftsauerstoff.

Es ist nicht empfehlenswert, eine Apparatur vollständig aus Glas mit Glasschliffen aufzubauen. Der Preis wäre hierfür sehr hoch, und das Arbeiten wäre der Zerbrechlichkeit wegen sehr heikel. Wir verwenden mit vollem Erfolg Kautschukverbindungen, die nach aussen durch eine Quecksilberschicht vom Luftsauerstoff getrennt sind. Kautschukstopfen werden in den Kolbenhälsen versenkt und mit Quecksilber übergossen, Rohrverbindungen werden mit einem weiten Rohr umgeben, und dieses wird mit Quecksilber gefüllt (a, b, c in Fig. 2).

Der Potentialverlauf hängt bei vielen potentiometrischen Titrations nicht nur von der Acidität ab, sondern oft auch von der Konzentration der in der Lösung vorhandenen fremden Ionen. So wird beispielsweise Kupfer(II)-Salz in schwefelsaurer Lösung durch

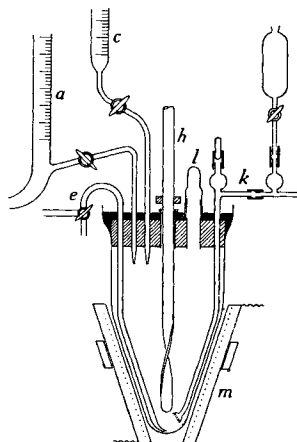


Fig. 1.

Chrom(II)-Salz direkt zu Metall reduziert, während in salzsaurer Lösung vorerst die Kupfer(I)-Stufe erscheint. Um die Vielseitigkeit der Verwendung unserer Apparatur zu gewährleisten, schlossen wir an das Titriergefäß eine Bürette für eine 0,1-n. Chrom(II)-sulfatlösung und eine zweite Bürette für 0,1-m. Chrom(II)-chloridlösung an. Diese Lösungen sind bezüglich Reduktionsvermögen 0,1-normal.

Das Titriergefäß (Fig. 1) hat konische Form, wodurch erreicht wird, dass das Volumen der zu analysierenden Lösung in weiten Grenzen variiert werden kann (Minimum 10 cm³, Maximum 200 cm³). Es ist durch einen 11-fach durchbohrten Kautschukstopfen (Durchmesser: 8,5 cm)

verschlossen, der mit Quecksilber überschichtet wird. In das Gefäß sind eingeführt:

- a) eine Bürette für 0,1-m. Chrom(II)-sulfat,
- b) eine Bürette für 0,1-m. Chrom(II)-chlorid,
- c) eine Bürette für 0,1-n. Kaliumpermanganat,
- d) eine Bürette für eine weitere oxydierende Titrierlösung (Kaliumdichromat, Jod, Eisen(III)-Salz),

¹⁾ E. Zintl und G. Rienäcker, Z. anorg. Ch. **161**, 376 (1927).

- e) ein Gaseinleitungsrohr für Kohlendioxyd oder Stickstoff, das auch zur Entleerung der Titrationsgefäßes dienen kann,
- f) ein Gasableitungsrohr mit Quecksilberschleuse,
- g) ein Thermometer, 0—120° C,
- h) ein gasdicht eingesetzter Rührer,
- i) eine Indikator-Elektrode aus Platin,
- k) ein Stromschlüssel mit angeschlossener Vergleichselektrode (Kalomel- oder Quecksilber(I)-sulfatelektrode),
- l) ein Einfüllstutzen zur Einführung fester oder flüssiger Analysensubstanzen.

Über die Konstruktion der Chrom(II)-Salzbüretten mit angeschlossener Vorratslösung orientiert Fig. 2. An den 5-Liter-Rundkolben ist ein mit Zinkdrehspänen und einer Leuko-Indigokarminlösung gefülltes U-Rohr angeschlossen, und dieses steht mit einem Wasserstoffentwicklungsgefäß (Zink und Schwefelsäure) in Verbindung. Die Leukolösung ist notwendig, um die unvermeidlichen Sauerstoffspuren im entwickelten Wasserstoff zu absorbieren.

Zur Vermeidung der Diffusion von Luft durch das Gasableitungsrohr ist dieses zu einer Spitze ausgezogen, die in Quecksilber taucht.

Zum Rühren verwenden wir einen KPG-Rührer von *Schott*; der untere Teil ist schraubenförmig und so schmal, dass der Rührer durch das Lager herausgezogen werden kann. Mit einem Tropfen Wasser als Schmiermittel erreicht man gasdichten Abschluss. Der Antrieb erfolgt mit flexibler Welle durch einen seitlich montierten Elektromotor. Die Indikatorelektrode aus Platin ist ebenfalls herausnehmbar; die Konstruktion ist aus Fig. 3 ersichtlich.

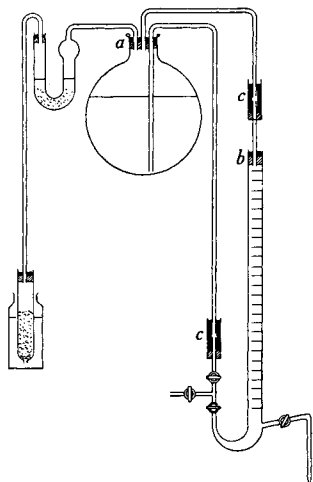
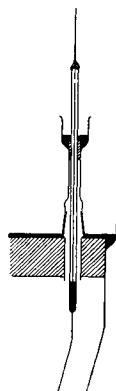


Fig. 2.



Elektrode
Fig. 3.

Als Vergleichselektrode dient für Titrationsen mit Chrom(II)-chlorid eine Kalomelektrode, die durch einen mit Glasfritten versehenen Stromschlüssel mit der zu titrierenden Lösung in Verbin-

dung steht. Der Stromschlüssel enthält 10-proz. Salzsäure. Titriert man mit Chrom(II)-sulfat in schwefelsaurer Lösung, so kann es zweckmässig sein, mit einer Quecksilber(I)-sulfatelektrode und 20-proz. Schwefelsäure im Stromschlüssel zu arbeiten. Wir verwenden die in Fig. 1 (k) skizzierte Konstruktion, die ein rasches Austauschen der Vergleichselektrode und Ausspülen des einen Schenkels erlaubt.

In zahlreichen Fällen muss in heisser Lösung titriert werden. Zur Heizung dient ein konischer elektrischer Heizkörper, der von unten an das Titriergefäss angelegt werden kann (m in Fig. 1).

Alle Titrations müssen in sauerstofffreier Atmosphäre ausgeführt werden. Wir benützen zur Verdrängung der Luft bei Operationen in saurem Milieu sorgfältig gereinigtes Kohlendioxyd, für Titrations in neutraler oder alkalischer Lösung sauerstofffreien Stickstoff.

Herstellung von sauerstofffreiem Kohlendioxyd.

Flüssiges Kohlendioxyd enthält immer beträchtliche Mengen Sauerstoff, die beim Verdampfen zum grössten Teil in die Kopffraktion gelangen. Es ist daher empfehlenswert, zuerst einige kg Kohlendioxyd aus der gefüllten Bombe abzublasen und diese erst dann anzuschliessen. Als rasch wirksames Absorbens für Sauerstoff hat sich Leuko-Indigokarminlösung gut bewährt. Sie wird durch Schütteln einer 2-proz. wässrigen Indigokarminlösung mit Zinkstaub hergestellt und dann dauernd im Kontakt mit Zinkspänen gehalten, die gebildetes blaues Indigokarmin rasch wieder in die gelbe Leukoverbindung zurückführen. Es ist nicht zweckmässig, die Indigokarminlösung konzentrierter zu wählen, da dann eine Fällung auftreten kann, die die Fritten verstopft.

Das der Bombe entnommene Kohlendioxyd strömt durch zwei mit Leukoindigolösung und Zink beschickte Absorptionsgefässe A und B (Fig. 4), von denen das erste mit einem Drucksicherungsrohr C

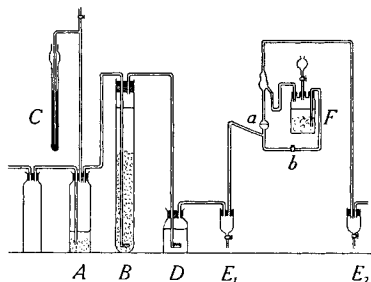


Fig. 4.

verbunden ist, dann durch eine Chrom(II)-sulfatlösung D und gelangt nach Passieren eines Tropfabscheiders E_1 in das Kontrollgerät F, in

welchem die absolute Sauerstofffreiheit festgestellt wird. Das Kohlendioxyd streicht hier durch wenige cm^3 Leuko-Indigokarminlösung. Ganz geringe Sauerstoffspuren färben die gelbe Lösung in der Kugel a grün oder blau; wenn also die vom Kohlendioxyd durchströmte Lösung in a dauernd gelb bleibt, so ist die völlige Abwesenheit von Sauerstoff gewährleistet. Durch Öffnen des Hahns b kann die Leuko-Indigokarminlösung regeneriert werden.

Herstellung von sauerstofffreiem Stickstoff.

Der uns zur Verfügung stehende Bombenstickstoff enthält Sauerstoff in solchen Mengen, dass die für das Kohlendioxyd benützte Absorptionsanlage nicht genügt, um den Sauerstoff völlig zu entfernen. Wir schalten deshalb ein Absorptionsrohr nach *Meyer* und *Ronge*¹⁾ vor, in dem der Sauerstoff bei ca. 200°C an fein verteiltes Kupfer gebunden wird. In dieser Kolonne muss nach ca. 50-stündigem Betrieb das gebildete Kupferoxyd durch Wasserstoff wieder zu Kupfer reduziert werden.

Die ganze Titrationsapparatur ist an 4 vertikalen, in die Mauer eingelassenen Stäben fixiert. Sie erfordert eine Mauerfläche von 1,4 m Breite und 1,2 m Höhe.

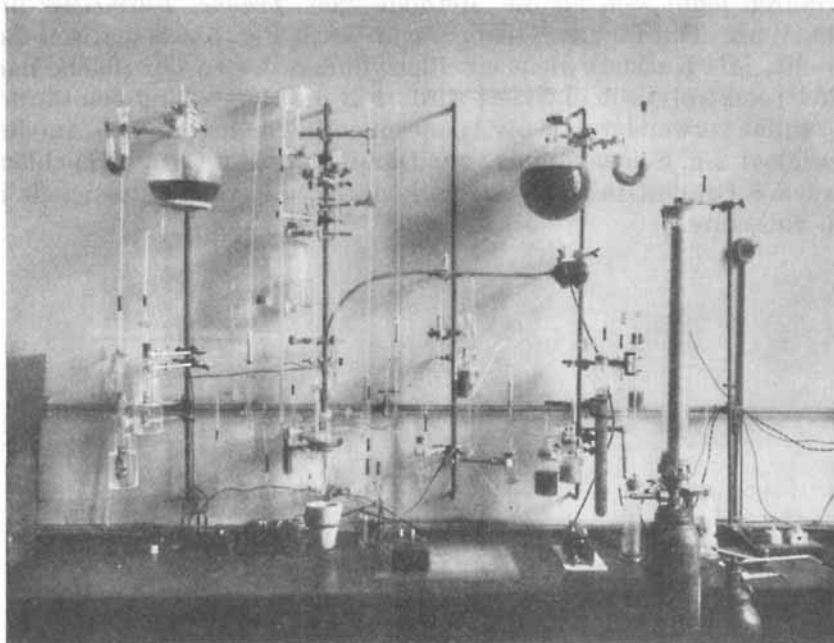


Fig. 4a.

¹⁾ Z. angew. Ch. 52, 637 (1939).

Herstellung der Chrom(II)-Salzlösungen.

Die Chrom(III)-Salze des Handels enthalten meist merkliche Mengen Verunreinigungen, die nur schwer eliminiert werden können (vor allem Eisen(III)-Salze). Sie eignen sich daher nicht zur Herstellung einwandfreier Chrom(II)-Salzlösungen. Dagegen ist Kaliumdichromat in sehr reiner Form erhältlich; wir benützen daher dieses Salz als Ausgangsmaterial.

Es ist zweckmässig, das Kaliumdichromat vorerst zu Chrom(III)-Salz zu reduzieren und zwar für die Gewinnung des Sulfates durch Behandeln mit Schwefeldioxyd und Schwefelsäure und für die Herstellung von Chrom(II)-chlorid durch Erwärmen mit konzentrierter Salzsäure.

Die so gewonnenen Chrom(III)-Salzlösungen können auf zwei Arten zu Chrom(II)-Salz reduziert werden:

- a) durch Behandeln mit Zinkgriess unter Luftabschluss,
- b) durch elektrolytische Reduktion.

Beide Verfahren geben einwandfreie Lösungen. Da wir jedoch ein Interesse daran haben, für gewisse Zwecke über zinkfreie Titrierlösungen zu verfügen, arbeiten wir jetzt mit elektrolytisch gewonnenen Chrom(II)-Salzlösungen. Das von uns benützte Reduktionsverfahren lehnt sich an die Methode von *Traube, Burmeister* und *Stahn*¹⁾ an. Die Elektrolyseapparatur ist in Fig. 5 schematisch dargestellt. Als Kathode dient ein Bleizylinder, dessen Oberfläche nach *Tafel*²⁾ elektrolytisch aktiviert wird. Für die Herstellung von Chrom(II)-sulfat verwendet man als Anode einen Bleimantel und als Anodenflüssigkeit 2-n. Schwefelsäure; zur Darstellung von Chrom(II)-chlorid werden 8 Graphitstäbe als Anode benützt; die Anodenflüssigkeit ist 2-n. Salzsäure.

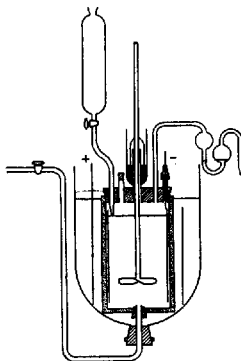


Fig. 5.

¹⁾ Z. anorg. Ch. **147**, 50 (1925).

²⁾ Z. physikal. Ch. **34**, 204 (1900).

Arbeitsvorschrift zur Bereitung von 5 Liter 0,1-m.
Chrom(II)-sulfat.

80 g reinstes Kaliumdichromat werden mit 400 g Wasser gelöst. Man gibt 30 g konz. Schwefelsäure hinzu und reduziert durch Einleiten von Schwefeldioxyd. Dann wird unter Durchleiten von Luft eingedampft, bis der Geruch des Schwefeldioxyds vollständig verschwunden ist. Man verdünnt auf 500 cm³ und bringt diese Lösung in den Tonzylinder. Unser Elektrolysegefäß fasst 300 cm³; wir verarbeiten deshalb die Lösung in zwei Portionen à 250 cm³. Man elektrolysiert mit 16 Volt und 0,02 Amp. pro cm² Kathodenfläche und kontrolliert von Zeit zu Zeit durch Titration einer Probe das Fortschreiten der Reduktion. Die Analyse wird so durchgeführt, dass man 5 cm³ der Lösung in überschüssiges Kaliumpermanganat fließen lässt und den Permanganatüberschuss jodometrisch ermittelt. Die Reduktion dauert ca. 7 Stunden. Die Kathodenlösung wird nun durch das untere Abzugsrohr und den seitlichen Hahn der Titrierbürette in die mit Kohlendioxyd oder Stickstoff gefüllte Vorratsflasche gesaugt; dann verdünnt man mit 4,5 Liter Wasser und mischt durch, indem man längere Zeit sauerstoff-freies Kohlendioxyd durchleitet.

Die 0,1-m. Chrom(II)-chloridlösung gewinnt man in analoger Weise, indem man 80 g Kaliumdichromat mit 400 cm³ konz. Salzsäure bis zum Verschwinden des Chlorgeruches erwärmt, dann mit 0,5-n. Salzsäure auf 500 cm³ verdünnt und in zwei Portionen mit 8 Volt und 4 Amp. (0,02 Amp. pro cm²) elektrolysiert. Wir bemerken, dass die elektrolytische Reduktion zu Chrom(II)-chlorid bedeutend rascher erfolgt als für die Gewinnung von Chrom(II)-sulfat (Dauer ca. 3 Stunden).

In der Literatur¹⁾ findet man Darstellungsmethoden, nach welchen die reduzierte Lösung mit Natriumacetat versetzt wird, wobei Chrom(II)-acetat ausfällt, das nach Abtrennung der Lösung mit Schwefelsäure gelöst wird. Wir halten dieses komplizierte Verfahren für unzweckmässig, denn die auf diesem Weg gewonnene Lösung enthält Essigsäure. Bekanntlich ist das Acetation ein energischer Komplexbildner. Es ist deshalb zu erwarten, dass bei chromometrischen Titrationen Störungen auftreten können, wenn man, statt wie üblich in stark saurer Lösung, in schwach saurem, neutralem oder alkalischem Milieu titrieren will.

Titerstellung der Chrom(II)-Salzlösungen.

Zur Einstellung der Chrom(II)-Salzlösungen können die verschiedensten Oxydationsmittel verwendet werden. Vor allem kommen in Betracht:

¹⁾ E. Zintl und G. Rienäcker, Z. anorg. Ch. **161**, 374 (1927); H. Brintzinger und F. Rodis, Z. anorg. Ch. **166**, 53 (1927).

Kaliumpermanganat als 0,1-n. Lösung,
 Kaliumdichromat pro Analyse,
 Kaliumbromat pro Analyse,
 Eisen(III)-chlorid als 0,1-m. Lösung,
 Kupfersulfat pro Analyse (Titration in salzsaurer Lösung).

Der Äquivalenzpunkt wird am besten potentiometrisch ermittelt. Wir benützen hiefür ein Pehavi C.

Beispiel:

angewandt: 25 cm³ 0,1-m. Kupfersulfat
 + 20 cm³ Salzsäure 20-proz.
 + 20 cm³ gesättigtes Kaliumchlorid

verbrauchte Reagensmenge: 1. Versuch: 25,89 cm³ Chrom(II)-chlorid
 2. Versuch: 25,87 cm³ Chrom(II)-chlorid
 3. Versuch: 25,86 cm³ Chrom(II)-chlorid
 Mittel: 25,87 cm³ Chrom(II)-chlorid.

Der Potentialsprung im Äquivalenzpunkt der Kupfer(I)-chloridbildung ist sehr scharf (Fig. 6 Kurve a). Kurve b wurde wie folgt erhalten:

Man versetzt die salzsaure Kupfersulfatlösung mit wenig Chrom(II)-chlorid, damit vorhandener Sauerstoff verbraucht wird; dann gibt man Kaliumbromat in geringem Überschuss zu und titriert mit Chrom(II)-chlorid. Der Reagensverbrauch vom ersten zum zweiten Potentialsprung entspricht dem angewandten Kupfersalz.

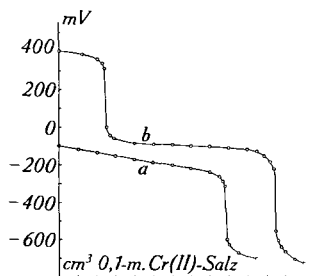


Fig. 6.

Titration von CuSO_4 mit CrCl_2 in HCl -saurer Lösung.

Beständigkeit der Chrom(II)-Salzlösungen.

Eine Chrom(II)-sulfatlösung, die durch Reduktion des Chrom(III)-Salzes mit Zink hergestellt worden war, hatte zu Beginn einen Faktor von 1,6085. Nach 150 Tagen war er auf 1,5832 gesunken.

Eine elektrolytisch gewonnene Lösung erwies sich als wesentlich stabiler, wie folgende Tabelle zeigt:

Datum	Tage	Faktor
26. 6. 41	0	1,322 ₈
30. 6. 41	4	1,322 ₇
15. 7. 41	19	1,322 ₀
24. 8. 41	64	1,320 ₀
27. 9. 41	95	1,318 ₇
3. 11. 41	130	1,317 ₀
1. 12. 41	158	1,315 ₈

Es ergibt sich daraus eine Gehaltsabnahme von $3,3 \times 10^{-5}$ Einheiten pro Tag.

Im Kontakt mit Metallen können Chrom(II)-Salzlösungen mit beträchtlicher Geschwindigkeit Wasserstoff entwickeln; sehr wirksam ist z. B. platinisiertes Platin. Aus diesem Grund muss als Indikator-elektrode blankes Platin verwendet werden.

Anwendungen.

Mit der beschriebenen Apparatur bietet das Titrieren mit starken Reduktionsmitteln keine Schwierigkeiten. Wir haben zahlreiche, in der Literatur bereits beschriebene Titrationsmethoden nachgeprüft und einige neue Analysenverfahren ausgearbeitet, über die wir demnächst berichten werden. Wir geben in Fig. 7 und 8 ein paar typische Titrationskurven.

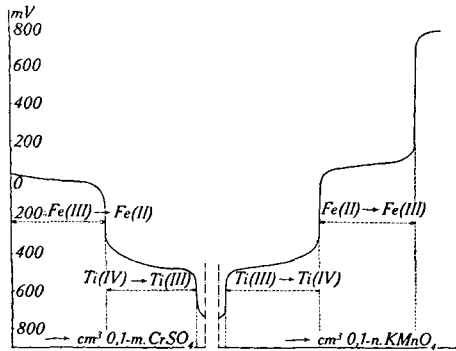


Fig. 7.

Titration von Fe(III)+Ti(IV) mit CrSO₄ und Rücktitration mit KMnO₄.

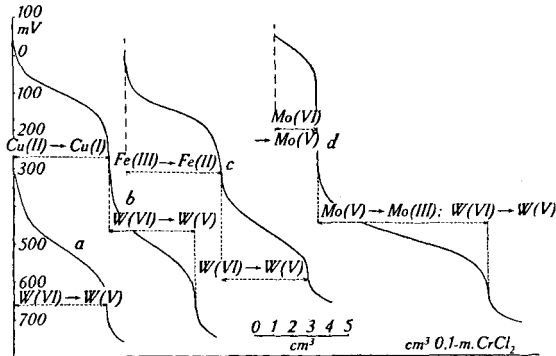


Fig. 8.

Titration von Wolframat mit CrCl_2

- | | |
|--|--|
| a) $\text{W(VI)} \rightarrow \text{W(V)}$ | c) $\text{W(VI)} + \text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)}$ |
| b) $\text{W(VI)} + \text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ | d) $\text{W(VI)} + \text{Mo(VI)} \rightarrow \text{Mo(V)}$ |

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Apparatur zur Titration unter absolutem Sauerstoffausschluss beschrieben.
2. Es wird gezeigt, dass Chrom(II)-Salzlösungen unter Luftabschluss unbeschränkt haltbar sind.
3. Es wird eine Anlage zur Herstellung sauerstofffreier Gase beschrieben.
4. Es werden Potentialkurven für einige wichtige chromometrische Titrations mitgeteilt.

Chemisches Institut der Universität Bern,
Laboratorium für analytische und angewandte Chemie.

74. Über die Wirkung von β -[Naphtyl-(1)]acrylsäure auf das Wachstum von *Bacterium coli*

von Hubert Bloch und H. Erlenmeyer.

(30. IV. 42.)

Bei Untersuchungen über die Bildung von Indol aus Tryptophan durch *Bact. coli* beobachtete *P. Fildes*¹⁾, dass das Wachstum von *Bact. coli* durch Indolyl-acrylsäure gehemmt wird. Andere Indol-derivate waren ohne Wirkung. Diese Beobachtung führte *Fildes* zu

¹⁾ *P. Fildes*, *Bioch. J.* **32**, 1600 (1938).