

Zeitschrift:	Mémoires de la Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles. Chimie = Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Freiburg. Chemie
Herausgeber:	Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles
Band:	2 (1903-1907)
Heft:	3: Sur le dosage du calcium en physiologie avec application au sang et au système nerveux
 Artikel:	 Sur le dosage du calcium en physiologie avec application au sang et au système nerveux
Autor:	Grimmé, Georges-Louis
Kapitel:	I: Dosage du calcium dans les recherches physiologiques
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-306711

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 18.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

CHAPITRE I.

Dosage du Calcium dans les recherches physiologiques.

Les tissus et les liquides organiques renferment habituellement, associés au calcium, du fer et du magnésium. Tel est le cas, notamment, chez les vertébrés sur lesquels nos recherches ont porté. Or, la présence, dans les cendres, d'oxyde ferrique et de magnésie à côté de la chaux ne permet pas un dosage rigoureux du calcium par les méthodes employées couramment en chimie physiologique.

La séparation de la chaux dans les mélanges magnésiens a été, de la part des analystes, l'objet de nombreux travaux ayant conduit à l'élaboration de méthodes qui, appliquées aux dosages physiologiques, fourniraient des résultats entièrement satisfaisants si les cendres ne contenaient pas de fer. Mais, comme il y a au contraire toujours du fer dans les cendres, ces procédés ne permettent pas de faire des déterminations exactes. En effet le fer, que, suivant le mode opératoire ordinaire, on commence par séparer sous forme de phosphate ferrique, est presque constamment souillé de chaux et souvent la proportion de chaux entraînée dans le précipité obtenu est considérable. Nous avons donc cherché à réaliser une méthode simple de dosage qui permit de se mettre à l'abri de cette cause d'erreur tout en effectuant correctement la séparation de la chaux et de la magnésie. Avant d'exposer la technique que nous avons adoptée, nous allons prouver l'assertion précédente, car c'est cette constatation qui a été le point de départ de nos recherches sur les modifications que l'on devait apporter à la méthode d'analyse classique.

I. Entraînement de chaux par le précipité de phosphate ferrique

Ce fait est nettement démontré par les recherches de Bunge et Hugounenq sur le dosage du fer par pesée sous forme de phosphate ferrique $(\text{PO}_4^4)^2\text{Fe}^2$.

Bunge (42)¹ dit : « les déterminations par pesée conduisent toujours à des valeurs trop grandes, car le précipité ferrique est accompagné de petites quantités d'acide silicique, de *chaux*, etc. ». C'est ce que l'on vérifie par l'examen des documents analytiques qui se trouvent en appendice de ce mémoire. Ainsi 51 gr. 93 de pain de son fournissent un précipité de phosphate ferrique du poids de 0,0093 gr. qui devrait renfermer, s'il était pur, 0,003449 Fe. Or, si l'on détermine la quantité de fer que renferme en réalité ce précipité par dosage volumétrique au moyen du procédé de Marguerite, on trouve seulement 0,002325 Fe. Bunge prend la moyenne de ces deux valeurs — différentant de près d'un tiers — comme expression de la teneur du pain en fer. Il admet en effet que, si la pesée du précipité fournit des valeurs majorées, par contre le titrage conduit à des chiffres trop bas. C'est ce qu'il nous paraît difficile d'admettre après la critique expérimentale que L. Lapicque (35 et 39) a faite du procédé de Marguerite ; et l'écart tient, suivant nous, aux impuretés (calciques notamment) du précipité de phosphate ferrique.

Peut être plus significatifs encore, à l'appui de notre thèse, sont les faits publiés par Hugounenq (43). Voici comment il s'exprime sur ce sujet : « Tous les auteurs indiquent que, pour doser le fer dans un mélange très riche en acide phosphorique et en chaux, il faut dissoudre la matière dans l'acide chlorhydrique pur, évaporer à sec au bain-marie et reprendre par l'eau. Le liquide et les eaux de lavage sont alors additionnés d'un excès d'ammoniaque

¹ Les numéros entre parenthèses renvoient à l'index bibliographique placé en appendice.

jusqu'à précipitation abondante de phosphate de chaux ; on redissout dans un excès d'acide acétique ; tout le fer reste insoluble à l'état de phosphate ferrique qu'on recueille immédiatement, qu'on lave et qu'on pèse après calcination. Ce procédé peut donner quelquefois des chiffres exacts ; mais le plus souvent, en présence d'un excès de phosphate calcaire, on voit se précipiter du phosphate de chaux et il peut arriver que la proportion de ce dernier dépasse de beaucoup celle du phosphate de fer

Ainsi, dans une expérience, une première précipitation a donné un poids de phosphate de fer correspondant à :



Le dosage direct et précis du fer dans le précipité a montré que ce phosphate, très impur et souillé d'une grande quantité de phosphate de chaux, ne renfermait, en réalité, que



La différence s'élevait donc à 52 % entre les deux résultats ».

Renvall (56) récemment attirait encore l'attention sur les erreurs de dosage qui peuvent résulter de la forte adhérence du calcium (et du magnésium) au précipité de phosphate ferrique.

Nous avons tenu à nous assurer du bien fondé des observations précitées en faisant quelques expériences de contrôle parmi lesquelles nous pouvons relater les suivantes à titre d'exemples :

Exp. I. Les liqueurs employées pour ces essais étaient :

a) Solution de chlorure de calcium — 1 cmc. contient 0,398 mgr. Ca.

b) Solution de sulfate ferrique — 1 cmc. » 0,557 » Fe.

c) Solution de phosphate d'ammonium

— 1 cmc. contient 1,314 mgr. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

On a préparé la série de liqueurs :

α — sol. a 7,5 cmc.

β — » id. + sol. b 3,5 cmc. + sol. c 12 cmc.

γ — » 15 cmc.

δ — » id. + sol. b 3,5 cmc. + sol. c 12 cmc.

Chacun de ces échantillons a été étendu d'eau distillée, ou réduit par évaporation suivant le cas, jusqu'à ce que le volume atteignît 25 cmc. environ. On a ensuite alcalinisé fortement avec de l'ammoniaque, puis on a ajouté une quantité d'une solution d'acétate de soude acétique¹ suffisante pour le virage à l'acidité. Les échantillons α et γ sont additionnés, à la température de l'ébullition, d'un excès d'oxalate d'ammonium. Les essais β et δ sont, au bain-marie, maintenus à une température voisine de l'ébullition pendant près d'une heure,² puis placés à l'étuve à 40° pendant 12 heures environ. On sépare alors par filtration le précipité floconneux de phosphate ferrique, on le lave à l'eau froide [Socin (27)] jusqu'à ce qu'une goutte de l'eau de lavage ne donne plus de réaction acide ; un excès d'oxalate d'ammonium est versé dans le filtrat en procédant comme pour les liqueurs α et γ .

Les précipités d'oxalate de calcium sont maintenus dans les liqueurs où ils ont pris naissance et à l'étuve à 40° pendant 18 heures environ. Ils sont alors recueillis sur des filtres, lavés, etc. Les quantités de calcium qu'ils renferment sont déterminées par dosage de l'acide oxalique au moyen du caméléon (la technique du dosage est décrite au paragraphe V, 3°). D'autre part, les précipités de phosphate ferrique (β et δ) ont été redissous au moyen d'acide chlorhydrique dilué et chaud ; les solutions ont été alcalinisées par l'ammoniaque, étendues jusqu'à volume égal à 25 cmc. Le dosage du calcium s'est effectué en milieu citraté conformément à la technique décrite au paragraphe V, 2°.

¹ Cette solution est ainsi composée : on dissout 100 gr. d'acétate de soude cristallisé dans un peu d'eau ; on ajoute 100 cmc. d'acide acétique glacial, et, par addition d'eau, on amène le volume à 1 L.

² D'après Hoppe-Seyler (31, p. 307 et 308), la liqueur renfermant le précipité de phosphate ferrique doit être chauffée ; Fresenius, dans l'analyse des cendres végétales (36, p. 1124), recommande également de chauffer un peu pour faciliter le dépôt du précipité. Suivant L. de Koninck (57), il y aurait, à la température d'ébullition, précipitation de phosphates bi- et tricalciques ; il semble donc préférable d'opérer la séparation à la température ordinaire.

Quantités de calcium			Différences		Quantité de Ca dans le précipité de phosphate ferrique	
Introduites	Trouvées	Retrouvées	Abs. en mgr	p. 100	Abs. mgr	p. 100
α 2,985 mgr.	2,952 mgr.	98,9 %	— 0,033	— 1,1		
β id.	2,725 »	91,3 » ¹	— 0,260	— 8,7	0,219	7,34
γ 5,970 »	5,910 »	99,5 »	— 0,060	— 0,5		
δ id. »	5,133 »	85,98 » ¹	— 0,837	— 14,02	0,801	13,42

En faisant la somme des quantités de calcium retrouvées dans le filtrat et le précipité de phosphate ferrique, on obtient sensiblement la valeur introduite. Le principal inconvénient de cette technique, un peu compliquée, est qu'elle nécessite 2 dosages.

Exp. II. Dosage du calcium dans les muscles de grenouille (novembre 1903).

On a détaché les muscles des pattes postérieures de quelques grenouilles, puis on les a soigneusement dépouillés des aponévroses, tendons, vaisseaux, nerfs. On les a incinérés en procédant comme il est indiqué au paragraphe V, 1^o. La solution a été fortement alcalinisée, additionnée ensuite d'un excès de solution acétique d'acétate de soude, et le dosage conduit dès lors comme dans l'expérience précédente, sauf que le calcium entraîné par le précipité de phosphate ferrique a été également dosé en milieu acétique.

Quantité de muscles mis en œuvre	Quantité de Ca dans le filtrat ²	Quantité de Ca dans le précipité de phosph. fer.	Quantité tot. dans 1000 gr. de substance fraîche		
	Abs. en mgr.	p. 100	Abs. en mgr.	p. 100	
10 gr. 380	0,707	59,16	0,488	40,84	mgr. : 115

En négligeant la recherche et le dosage du calcium dans le précipité de phosphate ferrique, on aurait donc commis une erreur en moins de 40 pour 100: c'est là un cas extrême.

¹ Dosage dans le filtrat après séparation du précipité de phosphate ferrique.

² Après séparation du phosphate ferrique.

II. Absence de précipité de phosphate ferrique en milieu citraté

Dans une note qui n'a pas été remarquée des physiologistes, Guyard (24) a indiqué le parti qu'on pouvait tirer de l'emploi des citrates pour la séparation et le dosage de la chaux en présence notamment d'un grand excès d'oxyde de fer, d'acide phosphorique et de magnésie. Nous croyons devoir citer textuellement le passage de sa communication auquel nous faisons allusion : « L'alumine, l'oxyde de fer, la chaux et les phosphates de ces trois bases sont, on le sait, solubles dans le citrate d'ammoniaque ammoniacal.¹ J'ai reconnu qu'en n'employant, autant que possible, que la quantité convenable de citrate nécessaire pour maintenir ces corps à l'état de dissolution parfaite, la chaux se précipitait très bien et très complètement à l'aide de l'oxalate d'ammonium. La présence de la magnésie ne gène en rien le dosage direct de la chaux ; il suffit d'opérer la précipitation à 70—80° pour que le phosphate ammoniaco-magnésien, qui pourrait se précipiter à froid, reste en dissolution ».

Guyard n'a pas publié de documents analytiques à l'appui de ses conclusions. Nous avons éprouvé la valeur du procédé qu'il préconise par les expériences suivantes dans lesquelles on a employé les quatre solutions :

- Sol. A — CaCl_2 — 1 cmc. contient 0,712 mgr. Ca^{2+} .
- Sol. B — $\text{Fe}^{2+}(\text{SO}_4)^{2-}$ — 1 cmc. » 1,007 » Fe.
- Sol. C — Phosphate d'ammonium à 10 %.
- Sol. D — Citrate d'ammonium à 10 %.

¹ Différentes explications de ce phénomène de solubilisation ont été proposées notamment par Spiller, Lebaigue, Landrin (23), Sabatani (48).

² Cette liqueur a été préparée en partant d'un poids déterminé de carbonate de calcium parfaitement pur et sec qui a été dissous dans de l'acide chlorhydrique très dilué. L'excès de HCl a été neutralisé par AzH³.

Exp. III. α — On mélange 1 cmc. de sol. **B** + 1 cmc. de sol. **C**, on ajoute de l'ammoniaque en quantité suffisante pour que la réaction soit alcaline. La liqueur, très trouble par formation du précipité floconneux de phosphate ferrique, est additionnée de $\frac{1}{2}$ cmc. de sol. **D**. Elle s'éclairent lentement à la température du laboratoire, rapidement à chaud. En y versant 5 cmc. de sol. **A**, alors qu'elle est devenue parfaitement transparente, on constate qu'elle devient louche, mais sans production d'aucun précipité ; on chauffe à l'ébullition la liqueur légèrement louche — la réaction étant restée franchement alcaline — on la place à l'étuve. 36 heures après, la réaction étant toujours alcaline, il n'y a pas de changement apparent — louche persistant, aucune sédimentation appréciable.

β — Comme l'essai α , sauf qu'on ajoute 1 cmc. de sol. **D** (au lieu de $\frac{1}{2}$ cmc.). Le précipité de phosphate ferrique se redissout plus rapidement. L'addition des 5 cmc. de sol. **A** détermine un louche moins prononcé qui disparaît après quelques minutes d'ébullition. Après 36 heures (la réaction étant toujours alcaline), état de limpidité parfaite.

γ — On mélange 5 cmc. sol. **A** + 1 cm. sol. **B** + 1 cmc. sol. **C**, on alcalinise et étend à vol. = 25 cmc. La liqueur chargée d'un volumineux précipité de phosphate tricalcique et de phosphate ferrique est additionnée d'un cmc. de sol. **D**. Eclaircissement léger — on porte à l'ébullition : d'abord le précipité se condense, puis se redissout au bout de quelques instants ; finalement la liqueur devient limpide.

δ — Si l'on ajoute à la liqueur γ avant l'alcalinisation 2 cmc. d'acide sulfurique (66° B), la transparence de la liqueur est obtenue beaucoup plus rapidement et est plus parfaite après addition de 1 cmc. de sol. **D**. On verra ultérieurement que, dans les analyses physiologiques, nous partons précisément d'une solution sulfurique des cendres ; nous nous trouvons donc dans des conditions analogues à celles présentées par cette expérience.

Remarque : Crispo [cité par Grupe et Tollens (21)] a reconnu que les échantillons de citrates de diverses origines

présentaient des différences notables du pouvoir dissolvant. Nous avons constaté que le citrate d'ammonium de Merck, que nous avons employé pour les dosages physiologiques, était sensiblement moins actif que celui (dont la provenance nous est restée inconnue) que nous avions utilisé pour les recherches sur la méthode de dosage.

Exp. IV. Les liqueurs, dont la composition est indiquée ci-après, ont été additionnées d'ammoniaque jusqu'à franche alcalinité — le volume complété à 25 cmc. — puis chauffées au voisinage de l'ébullition. On précipite le calcium au moyen d'oxalate d'ammonium (2 cmc. environ d'une solution saturée à la température du laboratoire). Après un séjour de 24 heures à l'étuve à 40°, détermination du calcium par dosage de l'acide oxalique que renferme le précipité au moyen du caméléon.

α — Sol. A 5 cmc.

β — » » id.

γ — » » id. + sol. B 1 cmc. + sol. C 1 cmc. + sol. D $\frac{1}{2}$ cmc.

δ — » » id. + » id. + » id. + » 1 cmc.

Voici les résultats fournis par les dosages :

Quantités de calcium			Différences	
Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100
α 3,560 mgr.	3,466 mgr.	97,4 %	— 0,094	— 2,6
β id. »	3,470 »	97,5 »	— 0,090	— 2,5
γ id. »	3,447 »	96,8 »	— 0,113	— 3,2
δ id. »	3,425 »	96,2 »	— 0,135	— 3,8

Ainsi, par rapport aux déterminations de contrôle (α et β), le déficit produit par la présence d'oxyde ferrique ne porte que sur quelques centièmes de milligramme et n'atteint pas 1 p. 100. Dans ces conditions, les résultats fournis par le procédé peuvent être considérés comme entièrement satisfaisants.

L'examen des déterminations précédentes montre qu'en présence de citrate d'ammonium ammoniacal, en proportion convenable, la précipitation de la chaux par l'oxalate d'am-

monium est bien complète et que dans un tel milieu l'oxalate de calcium doit être fort peu soluble. C'est, en effet, ce qu'avait annoncé Guyard et ce que démontre l'expérience suivante :

Exp. V. α — sol. A 5 cmc. + sol. D 1 cmc. + eau 15 cmc.
 β — » id. + » id. + » id.

On dose en procédant comme ci-dessus.

Quantités de calcium			Différences	
Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100
α 3,560 mgr.	3,515 mgr.	98,7 %	— 0,045	— 1,3
β id. »	3,560 »	100,0 »	nulle	nulle

En comparant les dosages α et β des expériences IV et V, on constate donc que les résultats sont plus exacts en milieu citraté, ce qui tient sans doute à ce que l'oxalate de calcium est moins soluble en milieu citraté que simplement dans l'eau ammoniacale.

Par contre, le degré de solubilité de l'oxalate de calcium dans les liqueurs renfermant des acétates et de l'acide acétique libre constitue une cause de pertes appréciables. C'est là un fait bien connu [voir Fresenius (36), p. 471 et p. 1281 exp. c] et c'est pourquoi Guyard (24) dit que le procédé si employé de précipitation en milieu acétique n'est pas recommandable. Le travail tout récent de Järvinen (55) en fournit une nouvelle et nette démonstration.

III. Séparation de la chaux d'avec la magnésie en milieu citraté.

Voici quelles sont les conditions que nous avons réalisées pour empêcher l'entraînement, l'« occlusion », de magnésie dans la précipitation de la chaux par l'oxalate d'ammonium.

En premier lieu, nous avons opéré en présence de sels ammoniacaux. On sait, en effet, que les sels magnésiens ont une tendance remarquable à former des sels

doubles ammoniacaux solubles¹, de telle sorte que l'acide oxalique dans un milieu renfermant suffisamment de sels ammoniacaux ne précipiterait pas de magnésie (Wurtz Diction. article Mg p. 278).

En second lieu, afin d'éviter plus sûrement l'occlusion de magnésie dans le précipité d'oxalate de calcium, nous avons introduit l'oxalate d'ammonium en deux temps. On additionne d'abord la liqueur d'oxalate d'ammonium tant qu'il se fait un précipité. Après un séjour de quelques heures à l'étuve à 40°, on dilue la liqueur, puis on ajoute une nouvelle portion d'oxalate d'ammonium. On laisse de nouveau la liqueur à l'étuve pendant quelques heures avant de recueillir le précipité d'oxalate de calcium.

Nous avions adopté cette introduction en deux temps de l'oxalate d'ammonium, avec dilution intermédiaire, à la suite d'essais personnels qui nous avaient permis de nous convaincre de l'avantage de cette pratique. Depuis, nous avons reconnu que cette façon de procéder avait déjà été recommandée par Richards (46).

Fresenius et beaucoup d'autres auteurs [Wittstein (6), Chizinski (7), Grupe et Tollens (19 et 21), Järvinen (55)] ont conseillé, pour débarrasser le précipité d'oxalate de calcium des traces de magnésie qu'il pourrait renfermer, de le redissoudre dans l'acide chlorhydrique, d'ajouter de l'eau, puis de l'ammoniaque en excès et enfin de reprécipiter la chaux par addition d'oxalate d'ammonium. Järvinen a montré que ce procédé ne fournissait pas dans tous les cas des résultats irréprochables.

En troisième lieu, nous séparons par filtration l'oxalate de calcium à une température voisine de l'ébullition ; le phosphate ammoniaco-magnésien qui pourrait se déposer à froid reste en solution à 70-80° (Guyard).

Dans les expériences suivantes, nous avons employé,

¹ On admet actuellement qu'il s'agit là de phénomènes d'équilibre. Voir : Treadwell (62, p. 57).

outre les liqueurs dont la composition a été indiquée précédemment, une solution de sulfate magnésien (**sol. E**) contenant 9,9 mg. Mg par centimètre cube.

Exp. VI. On prépare deux liqueurs (α et β) ainsi composées :

$$\text{sol. A } 5 \text{ cmc.} + \text{sol. E } 0,5 \text{ cmc.} + \text{sol. D } 1 \text{ cmc.}$$

On alcalinise avec de l'ammoniaque et on complète le volume à 25 cmc. avec de l'eau distillée. En se conformant au mode opératoire décrit ci-dessus, le dosage fournit :

Quantités de calcium.			Différences.	
Introduites.	Trouvées.	Retrouvées.	abs. en mgr.	p. 100.
a) 3,560 mgr.	3,394 mgr.	95,3 %	— 0,166	— 4,7
$\beta)$ id. »	3,421 »	96,1 %	— 0,139	— 3,9

On ne constate donc pas d'erreur en plus dans le dosage du calcium en présence de magnésium dans la proportion préindiquée. Notons que la valeur du rapport $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ dans les expériences précédentes est 0,66.

IV. Dosage du calcium à partir d'une liqueur sulfurique.

Ainsi qu'on le verra dans l'exposé de la technique pratique, nous avons effectué la destruction de la matière organique au sein de l'acide sulfurique. Avec ce procédé on obtient finalement les cendres — en partie en solution, en partie en suspension — dans quelques cmc. d'acide sulfurique. Nous avons donc fait un certain nombre d'essais pour nous rendre compte si le dosage du calcium en milieu citraté était bien applicable à partir d'une liqueur sulfurique.

Exp. VII. On a préparé trois liqueurs (α , β , γ) de même composition, soit :

$$\text{Sol. A } 5 \text{ cmc.} + \text{sol. B } 1 \text{ cmc.} + \text{sol. C } 1 \text{ cmc.} + 2 \text{ cmc. d'ac. sulfurique (D = 1,84).}$$

On verse de l'ammoniaque jusqu'à ce que la réaction soit franchement alcaline, puis on ajoute un centimètre cube de sol. **D**, enfin on complète le volume à 25 cmc. On conduit le dosage comme dans le cas de l'expérience IV ; on vérifie l'alcalinité de la liqueur jusqu'au recueil du précipité d'oxalate de calcium.

Résultats des analyses :

Quantités de calcium.			Différences.	
Introduites.	Trouvées.	Retrouvées.	abs. en mgr.	p. 100.
a) 3,560 mgr.	3,542 mgr.	99,5 %	— 0,018	— 0,5
β) id "	3,526 "	99,0 "	— 0,034	— 1,0
γ) id "	3,534 "	99,3 "	— 0,026	— 0,7

Dans les séries d'expériences que nous rapporterons maintenant les liqueurs renferment en plus de la magnésie.

Exp. VIII. On a préparé six mélanges de composition identique, soit :

Sol. **A** 5 cmc. + sol. **B** 1 cmc. + sol. **C** 1 cmc. + sol. **E** $\frac{1}{2}$ cmc. + Ac. sulfurique ($D = 1,84$) 2 cmc.

On alcalinise au moyen d'ammoniaque, additionne de 1 cmc. de sol. **D** et procède au dosage du calcium en ajoutant l'oxalate d'ammonium en 2 temps (filtrant à chaud, etc., comme il est indiqué au paragraphe III).

Résultats des analyses :

Quantités de calcium			Différences		$\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$
Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100	
α 3,560 mgr.	3,515 mgr.	98,7 %	— 0,045	— 1,3	
β id. "	3,512 "	98,6 "	— 0,048	— 1,35	
γ id. "	3,478 "	97,7 "	— 0,082	— 2,3	
δ id. "	3,451 "	96,9 "	— 0,109	— 3,1	
ε id. "	3,534 "	99,3 "	— 0,026	— 0,7	
ζ id. "	3,440 "	96,6 "	— 0,120	— 3,4	
moyenne 3,560 "	3,488 "	97,97 "	— 0,072	— 2,02	0,72

Exp. IX. Les essais ne différaient des précédents que par la variation de la teneur en calcium. Cette teneur nous

restait inconnue jusqu'à la fin du dosage, une autre personne introduisant un nombre déterminé de cmc. de la solution calcique titrée dans nos liqueurs. Les analyses étaient effectuées exactement comme celles de la série VI. Les résultats obtenus sont indiqués ci-dessous :

Sol. A cmc.	Quantités de calcium			Différences		Ca Mg
	introduits	Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100
5	3,560 mgr.	3,398 mgr.	95,4 %	— 0,162	— 4,6	0,72
4	2,848 »	2,903 »	101,9 »	+ 0,055	+ 1,9	0,58
6	4,272 »	4,271 »	99,98 »	— 0,001	— 0,02	0,86
8	5,696 »	5,421 »	95,8 »	— 0,275	— 4,8	1,15
3	2,136 »	2,136 »	100,0 »	+ 0,000	+ 0,0	0,43
10	7,120 »	6,781 »	95,2 »	— 0,339	— 4,8	1,44
7	4,984 »	4,729 »	94,9 »	— 0,255	— 5,1	1,01
moyenne	4,373 »	4,234 »	97,5 »	— 0,139	— 2,5	0,88

Exp. X. Les liqueurs à analyser sont préparées comme pour l'expérience VII, sauf qu'après l'alcalinisation par l'ammoniaque on ajoute, au lieu de citrate d'ammonium, une solution d'acétate de soude dans l'acide acétique. Après séparation du précipité de phosphate ferrique, on dose le calcium suivant le procédé classique en milieu acétique.

Sol. A cmc.	Quantités de calcium			Différences		Ca Mg
	introduits	Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100
5	3,560 mgr.	3,309 mgr.	92,9 %	— 0,251	— 7,1	0,72
7	4,984 »	4,498 »	90,25 »	— 0,486	— 9,75	1,01
10	7,120 »	6,521 »	91,6 »	— 0,599	— 8,4	1,44
moyenne	5,221 »	4,776 »	91,58 »	— 0,445	— 8,42	1,06
moyenne Exp. IX	id.	4,969 »	95,2 »	— 0,252	— 4,8	id.

On voit par les expériences VIII et IX que le dosage du calcium en milieu citraté même en présence de magnésie s'effectue très exactement. Les résultats obtenus par la méthode acétique (Exp. X) sont notablement moins satisfaisants, encore nous semble-t-il probable, d'après ce que disent les auteurs et d'après les résultats de nos expériences I et II, que la perte en Ca est atténuée par compensation due à la présence d'oxalate de magnésie dans le précipité.

Il peut être intéressant de comparer les valeurs du rapport $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ dans les solutions de cendres artificielles que sont les liqueurs employées dans nos essais (exp. VI, VIII, IX et X) à celles que présente ce rapport dans quelques tissus physiologiques.

Voici quelques indications sur ce sujet :

Valeur du rapport $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ dans le sang

Espèces	$\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$	Auteurs	Observations
Homme	2,00	Jarisch (66)	Moyenne de 4 analyses
»	2,00	Verdeil (66)	
»	1,74	Henneberg (66)	
Vache	2,30	Abderhalden (79)	
Taureau	2,09	»	
Veau	3,59	Weber (66)	
Mouton	2,32	Verdeil	Moyenne de 2 analyses
» I	2,51	Abderhalden	
» II	2,49	»	
Cheval I	0,94	»	
» II	0,97	»	
Porc	0,91	»	
Lapin	1,50	»	
Chat	1,05	»	
Chien	2,24	Jarisch	Moyenne de 3 analyses
» I	1,42	Abderhalden	
» II	1,07	»	

Valeur du rapport $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ dans le système nerveux

Espèces	Organes ou tissus nerveux	$\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$	Auteurs
Homme I	Encéphale	0,30	Geoghegan (83)
» II	»	0,29	»
» III	»	0,23	»
Chien I	»	0,33	Aloy (94)
» II	»	0,19	»
Cheval	»	0,39	» (40)
»	Substance grise	2,78	Toyonaga (95)
»	» blanche	0,30	»
Veau	» grise	1,72	»
»	» blanche	1,14	»
Cheval	Nerfs périphériques	1,56	»

Valeurs du rapport $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ dans les muscles striés.

Espèces	$\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$	Auteurs
Homme	0,35	Katz (38)
Chien	0,29	Katz
» I	0,54	Aloy (94)
» II	0,60	»
Porc	0,29	Katz
Bœuf	0,09	»
Veau	0,47	»
Cerf	0,33	»
Lapin	0,64	»
Chat	0,30	»
Poule	0,28	»
Grenouille	0,67	»
Aigre-fin	1,32	»
Anguille	2,20	»
Brochet	1,28	»

Dans les autres tissus (Foie, Reins, Rate, Poumons), la valeur de ce rapport est généralement supérieure à l'unité.

Les expériences précédentes mettent en question la transformation du sulfate de calcium en oxalate. On trouve peu de renseignements sur ce sujet dans la littérature. Luckow (26) parle de la transformation facile de quelques sulfates en oxalates respectifs lorsqu'on les fait bouillir dans une liqueur renfermant un excès d'acide oxalique.

Krüger (28) s'est préoccupé de l'influence que pouvaient exercer les particules de charbon que renferment habituellement les cendres sur le titrage par le caméléon dans le dosage du calcium. Pour obtenir des cendres exemptes de charbon, il les traitait par le nitrate d'ammonium et l'acide sulfurique. Il constata que le sulfate de calcium, même incomplètement dissous, était en milieu acétique rapidement et intégralement transformé en oxalate si la liqueur contenait une quantité suffisante d'oxalate d'ammonium.

Krüger a fait sur ce sujet des expériences spéciales que nous avons répétées avec les mêmes résultats. La suivante servira d'exemple au point de vue qualitatif :

Exp. XI. Dans 150 cmc. d'eau additionnés de 10 gr. d'oxalate d'ammonium, on introduit 2 grammes de sulfate de calcium pur. On laisse le tout en digestion au bain-marie pendant une heure ; on filtre alors et lave le précipité à l'eau froide jusqu'à ce que les eaux de lavages ne précipitent plus par le chlorure de baryum. Le précipité est desséché, calciné au rouge sombre, enfin dissous dans l'acide chlorhydrique étendu. La liqueur traitée par le chlorure de baryum fournit un louche à peine appréciable.

Les déterminations quantitatives de Krüger ainsi que les résultats de nos expériences consignées dans ce paragraphe ne laissent aucun doute au sujet de la transformation complète du sulfate de calcium en oxalate dans les conditions préindiquées.

V. Technique pratique.

Nous traiterons successivement les points suivants :

- 1^o Destruction de la matière organique ;
- 2^o Précipitation du calcium à l'état d'oxalate ;
- 3^o Dosage volumétrique du calcium.

1^o Destruction de la matière organique.

On sait combien il est difficile par simple calcination d'obtenir sans pertes des cendres exemptes de charbon. Aussi on tend, pour la plupart des déterminations, à lui substituer l'incinération par voie humide au moyen de l'action combinée à chaud des acides sulfurique et azotique.

Cette technique, avec quelques variantes de détails, a été notamment recommandée par Gautier pour le dosage de l'arsenic et par Lapicque (35 et 39) pour le dosage du fer ; elle a été généralisée depuis par Neumann (50 et 59).

Nous avons adopté le mode opératoire employé par Lapicque. En voici la description empruntée presque textuellement à ses mémoires.

La matière dans laquelle on se propose de doser le calcium est introduite dans un ballon (matras ovoïde) en verre dur, de 125 cmc. de capacité, préalablement taré. On pèse par différence le tissu (ou le liquide) introduit. On ajoute alors de l'acide sulfurique pur. La quantité convenable varie, proportionnellement au poids de l'échantillon, avec la nature de la matière à incinérer. Il faut compter de 0,5 à $1 \frac{1}{2}$ cmc. (1 cmc. en moyenne), d'acide par gramme de tissu frais. Il est recommandable de diviser les tissus en petits fragments et de les laisser macérer quelques heures dans l'acide ; la combustion ultérieure se trouvera ainsi facilitée.

On place alors les ballons, dans une position telle que le col soit incliné, sur des supports métalliques, au dessus d'un bec Bunsen, comme si il s'agissait de procéder à un dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl. On chauffe doucement de façon à éviter toute projection au dehors.

La matière organique se dissout en fournissant un liquide d'aspect goudronneux. Bientôt l'eau étant vaporisée, on chauffe un peu plus de façon à amener l'acide sulfurique à une température voisine de l'ébullition, ce qu'on reconnaît à ce que l'atmosphère du ballon, d'abord chargée d'épaisses vapeurs blanches, est redevenue limpide ; toute la surface interne du ballon, y compris la partie inférieure du col, est d'ailleurs mouchetée d'éclaboussures noirâtres. Saisissant alors le ballon par le col avec une pince en bois, on l'écarte du feu et on le laisse un peu refroidir ; puis, le maintenant toujours incliné, on y fait tomber de l'acide azotique pur au moyen d'un flacon compte-gouttes ; il y a une vive réaction avec dégagements abondants de vapeurs nitreuses. Il faut que le contenu du ballon soit assez refroidi pour que le contact de l'acide azotique avec l'acide sulfurique ne donne pas lieu à une

explosion qui pourrait entraîner des pertes ; d'autre part, il ne faut pas que l'acide sulfurique soit trop refroidi, car alors la réaction ne se produit pas bien. On ajoute goutte à goutte l'acide azotique tant que la réaction se produit, puis on replace le ballon sur le feu ; généralement, la liqueur, qui s'était éclaircie par l'action de l'acide azotique jusqu'à la couleur rouge, brunit de nouveau ; on recommence alors comme la première fois, puis une troisième, une quatrième fois s'il le faut, jusqu'à ce que finalement la liqueur ne présente plus qu'une teinte jaune verdâtre très claire qui ne se modifie pas par un chauffage prolongé.

Par refroidissement la liqueur doit devenir complètement incolore.

La combustion est alors terminée. A l'acide parfaitement refroidi, on ajoute, avec précaution et par petites portions en mélangeant chaque fois, 25 à 30 cmc. d'eau. On porte à l'ébullition pendant quelques minutes. Cette opération vise un double but : 1) chasser les dernières traces d'acide nitrique et de vapeurs nitreuses ; 2) dissoudre autant que possible le précipité.

2^e Précipitation du calcium à l'état d'oxalate

La liqueur ainsi obtenue est fortement alcalinisée avec de l'ammoniaque et additionnée de citrate d'ammonium (sol. 10 %) jusqu'à ce que le précipité floconneux déterminé par l'alcalinisation commence à se redissoudre. On chauffe alors ; et, en maintenant quelque temps à une température voisine de l'ébullition, on voit le précipité disparaître entièrement. La quantité de solution de citrate nécessaire pour obtenir ce résultat a, dans les dosages physiologiques que nous avons effectués, varié entre 0,5 et 3 cmc.

On vérifie alors l'alcalinité de la liqueur, éventuellement on ajoute encore de l'ammoniaque ; puis, dans la liqueur maintenue à l'ébullition, on introduit peu à peu de l'oxalate d'ammonium (en solution saturée à la température

du laboratoire). On voit apparaître le précipité d'oxalate de calcium pulvérulent et cristallin. On continue l'addition d'oxalate d'ammonium tant que le précipité semble augmenter et verse encore après un léger excès.

Le mieux est de traiter la liqueur dans le ballon même où s'est effectuée la combustion ; dans certains cas, cela est même indispensable : c'est lorsque, comme il arrive assez souvent, des traces de sulfate de calcium restent adhérentes aux parois du ballon. Ce sulfate de calcium non dissous est en effet facilement transformé à chaud en oxalate de calcium en présence d'un excès d'oxalate d'ammonium (observations de Krüger et expériences personnelles). Quand il en est ainsi, on force un peu la dose d'oxalate d'ammonium. Nous n'avons jamais eu à employer plus de 10 cmc. On continue de chauffer la liqueur à une température voisine de l'ébullition pendant une dizaine de minutes, puis on la met à l'étuve à 40° où elle restera de 12 à 15 heures. (Nous avons fait faire des boîtes de carton à bord échancre qui sont très commodes pour placer les ballons).

Ce délai écoulé, on s'assure que la liqueur est restée franchement alcaline ; souvent on constate la présence, à côté du fin précipité d'oxalate de calcium, de cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien en lamelles grandes et miroitantes. On dilue avec la quantité d'eau distillée correspondant au tiers environ du volume de la liqueur, puis on chauffe à l'ébullition. Les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien sont alors complètement dissous. Après addition d'ammoniaque, on verse de nouveau quelques centimètres cubes de solution d'oxalate d'ammonium et maintient la liqueur 10 minutes au bain-marie, puis on l'abandonne à l'étuve pendant 18 à 24 heures. Le volume total de la liqueur dans nos dosages a été compris entre 50 et 100 cmc.

L'effet de cette seconde addition d'oxalate d'ammonium est, suivant Richards, de diminuer la solubilité des dernières traces d'oxalate de calcium. De fait, on constate

qu'elle détermine une délimitation plus nette du précipité. Pour procéder au dosage du calcium, il faut recueillir le précipité. A cette fin, on chauffe la liqueur à l'ébullition et la fait passer immédiatement sur un petit filtre sans pli (Schleicher et Schüll n° 589, bande blanche, de 7 cm. de diamètre). La liqueur alcaline passe parfaitement claire. On lave à plusieurs reprises le ballon avec de l'eau qui est en suite versée sur le filtre supportant le précipité. On arrête le lavage quand l'eau qui s'écoule (échantillon de 5 cmc. environ additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique) ne décolore plus une goutte de la solution de permanganate de potasse que nous employons pour le dosage (voir ci-dessous). Le lavage était généralement terminé avec un volume d'eau à peu près égal à celui du filtrat.

Remarque : Il convient de conserver aseptiquement la solution de citrate d'ammonium ; ce qu'on réalise par stérilisation de la solution en la portant à l'ébullition dans une fiole-pipette analogue aux modèles utilisés par les bactériologistes pour la distribution des milieux de culture.

3^e Dosage volumétrique du calcium

On sait qu'Hempel (1) a proposé de doser le calcium, précipité à l'état d'oxalate, en déterminant, au moyen d'une solution titrée de permanganate de potassium, la quantité d'acide oxalique renfermée dans le précipité. Fresenius (36, p. 201) a vérifié la grande exactitude de la méthode.

Martin Krüger (28) a adapté ce procédé au dosage des très petites quantités de calcium auxquelles on a souvent affaire en physiologie. C'est son mode opératoire, légèrement modifié, que nous avons suivi.

Les solutions titrées employées sont :

- A. Solution de chlorure de calcium (correspondant à 0,995 mgr. CaCO_3 par centimètre cube).
- B. Solution d'acide oxalique $\text{N}/_{50}$ (1,26 gr. d'acide oxalique crist. par litre). Le titre est contrôlé par comparaison avec une liqueur d'acide sulfurique $\text{N}/_{50}$.

C. Solution de permanganate de potassium : 1 cmc.
sol. $\text{CaCl}_2 = 1 \text{ cmc}$. sol. oxalique = 1,06 cmc. sol.
de caméléon ; donc 1 cmc. de sol. de caméléon =
0,945 mgr. CaCO_3 .

Le précipité d'oxalate de calcium bien lavé est dissous, alors qu'il est encore humide, en faisant passer dessus, par fractions successives, 25 cmc. d'une solution chaude d'acide sulfurique (6 cmc. d'acide de $D = 1,84$ dans 94 cmc. d'eau). On dose l'acide oxalique directement dans la liqueur sulfurique au moyen de la solution titrée de caméléon qu'on fait couler goutte à goutte, en agitant constamment, jusqu'à l'apparition d'une légère coloration rose persistant quelque temps. La lecture est faite avec grand soin en appréciant le centième de centimètre cube.

(Notons que la fixation du titre du caméléon se fait en employant une liqueur renfermant une quantité connue d'acide oxalique sous un volume de 25 cmc. également). Afin de rendre constante la valeur de l'excès de caméléon nécessaire pour l'obtention de la coloration rose, Krüger recommande de faire 4 déterminations successives avec addition chaque fois après la première détermination d'un cmc. de solution d'acide oxalique $\frac{N}{50}$.

L'exemple suivant montre comment doit être conduit le calcul du résultat :

	Solution d'acide oxalique cmc. ajoutés.	Solution de caméléon cmc. employés.
1 ^{re} détermination	—	1,89
2 ^{me}	»	2,98
3 ^{me}	»	4,00
4 ^{me}	»	5,06

Par conséquent les quantités de caméléon exigées par chaque détermination sont :

$$\begin{aligned} 1^{\text{er}} & 1,89; 2^{\text{me}} 2,98 - 1,06 = 1,92; 3^{\text{me}} 4,00 - 2,12 = 1,88; \\ & 4^{\text{me}} 5,06 - 3,18 = 1,88; \text{ moy.} = 1,89. \end{aligned}$$

Remarque : Sauf indication contraire, le dosage a toujours été effectué dans le ballon où avaient eu lieu la combustion et la précipitation.

Il est nécessaire de procéder à un second épuisement du précipité, en faisant passer de nouveau 25 cmc. de liqueur sulfurique sur le filtre. Le dosage de l'acide oxalique enlevé est effectué comme précédemment, sauf que pour accélérer la réaction, on introduit dès le début 1 cmc. de solution oxalique ; de plus, ce dosage est réalisé dans un verre de Bohême.

Voici un exemple de calcul :

	Solution d'acide oxalique cmc. ajoutés.	Solution de caméléon cmc. employés.
1 ^{re} détermination	1	1,29
2 ^{me} »	1	2,34
3 ^{me} »	1	3,39

Par conséquent, les quantités de caméléon exigées par chaque détermination sont :

$$1^{\text{re}} \quad 1,29 - 1,06 = 0,23; \quad 2^{\text{me}} \quad 2,34 - 2,12 = 0,22;$$
$$3^{\text{me}} \quad 3,39 - 3,18 = 0,21; \quad \text{moy.} = 0,22.$$

La liqueur de second épuisement a ordinairement exigé l'emploi de 0,20 à 0,50 cmc. de caméléon.

Nous avons vérifié par un troisième épuisement qu'en aucun cas il ne restait de l'acide oxalique sur le filtre après le second épuisement.

La somme des volumes du caméléon étant $1,89 + 0,22 = 2,11$ cmc.
Le poids correspondant est : en $\text{CaCO}_3 \quad 2,11 \times 0,945 = 1,994$ mgr.
en $\text{Ca} \quad 2,11 \times 0,378 = 0,798$ mgr.

Nous avons toujours exprimé *en calcium* les résultats des dosages physiologiques.

La plupart des déterminations des auteurs étant exprimées *en chaux*, quelquefois *en phosphate tricalcique*, nous avons dû les convertir en calcium afin de faciliter la comparaison avec nos chiffres.

Nous avons répété les expériences de Krüger sur l'exactitude du procédé en dosant des quantités de calcium du même ordre de grandeur.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

N°s d'ordre	Quantités de calcium			Différences	
	Introduites	Trouvées	Retrouvées	abs. en mgr.	p. 100
1	1,194 mgr.	1,160 mgr.	97,2 %	- 0,034	- 2,8
2	id. »	1,153 »	96,6 »	- 0,041	- 3,4
3	id. »	1,236 »	103,5 »	+ 0,042	+ 3,5
4	id. »	1,179 »	98,7 »	- 0,015	- 1,3
5	id. »	1,192 »	99,8 »	- 0,002	- 0,2
6	0,996 »	0,994 »	99,8 »	- 0,002	- 0,2
7	id. »	0,984 »	98,8 »	- 0,012	- 1,2
8	0,796 »	0,720 »	90,5 »	- 0,076	- 9,5
9	id. »	0,776 »	97,5 »	- 0,020	- 2,5
10	id. »	0,796 »	100,0 »	+ 0,000	+ 0,0
11	id. »	0,816 »	102,5 »	+ 0,020	+ 2,5
moyenne	1,045 »	1,029 »	98,55	0,016	1,45
moy. de Krüger	0,846 »	0,816 »	96,88	0,030	3,12

La moyenne ci-dessus est faite en ne tenant pas compte des essais 3 et 11 pour lesquels on a trouvé un excédent de calcium sur la quantité introduite, ni de l'essai 8 qui présente une perte accidentelle colossale. Nos résultats sont voisins de ceux de Krüger.

Nous avons appliqué essentiellement ce procédé de dosage à la détermination de la teneur en calcium du sang et du tissu nerveux.

Nos résultats seront exposés dans les chapitres suivants.

Nous nous bornons à transcrire ici, comme exemples analytiques, quelques dosages effectués sur d'autres tissus.

Poids de substance mis en œuvre	Volume de caméléon employé	Quantité correspondante de calcium	Teneur en Ca du tissu frais	Volume solut. de citrate introduit p. 1000 gr.
Reins de lapin ¹ 24,00 gr.	2,66 cmc.	1,005 mgr.	42 mgr.	1 cmc.
» 7,79 »	2,75 »	1,039 »	133 »	1 $\frac{1}{4}$ »
» 9,10 »	2,88 »	1,088 »	119 »	1 $\frac{1}{4}$ »
Reins de chien ¹ 37,82 »	2,99 »	1,130 »	30 »	2 »
» 37,95 » ¹	2,96 »	1,119 »	29,5 »	2 »
Poumons de lapin ¹ 15,07 »	2,22 »	0,839 »	56 »	2 »
Rate de chien 5,54 »	0,63 »	0,238 »	43 »	1 »
Foie » 41,96 »	3,88 »	1,466 »	34,9 »	2 $\frac{1}{2}$ »

¹ Provenant de sujets dont l'appareil circulatoire avait été lavé.