

# Ein Beitrag zur Bestimmung der Phosphorsäure in organischen Substanzen.

Von  
**Fritz Rieger.**

Aus dem Laboratorium der Kinderpoliklinik mit Säuglingsheim in Dresden.  
(Der Redaction zugegangen am 16. October 1901.)

Die Gewinnung einer weissen, absolut kohlefreien Asche aus organischen Substanzen gehört zu den schwierigeren, jedenfalls aber den langwierigsten Arbeiten in der physiologischen Chemie. Verfährt man hierbei nach der Methode Hoppe-Seyler's, so trocknet man zunächst die Substanzen, bringt sie dann in eine kleine, dünne Platin- oder Porzellanschale und beginnt langsam zu erwärmen. Man steigert successiv die Hitze bis zur beginnenden Rothglut und erhält bei derselben, bis die Kohle fest und unbeweglich geworden ist. Alsdann lässt man die Kohle erkalten und übergiesst sie mit ein wenig Wasser, zerreibt sie unter demselben möglichst fein, erhitzt unter Zusatz von mehr Wasser zum Sieden, filtrirt durch ein aschefreies Filter, das nach dem Abfließen der Flüssigkeit mit heissem Wasser genügend ausgewaschen wird. Schale oder Tiegel werden jetzt mit der noch vorhandenen Kohle und dem Filter im Luftschrank getrocknet, die trockene Substanz allmählich erhitzt und so lange in Glut erhalten, bis die Kohle völlig oder bis auf geringe Spuren verascht ist.<sup>1)</sup> Kommt es bei der Analyse auf Bestimmung des Phosphors an, so hat man noch auf einen weiteren Umstand zu achten: wird nämlich die Veraschung bei Phosphorbestimmungen nicht von Anfang bis Ende bei Gegenwart von kohlensaurem Alkali ausgeführt, so kann sich ein Fehler in diese Bestimmung einschleichen. Auch Hoppe-Seyler bemerkt, es sei in gewissen Fällen durchaus nöthig, der zu veraschenden Substanz kohlensaures Alkali zuzusetzen, um die Zersetzung von Säuren zu vermeiden. Welche Differenzen eine Phosphorsäurebestimmung ohne Beachtung

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologischen und pathologischen Analyse.

dieses Hinweises ergeben kann, lehrt Juckenack's Mittheilung über die Zusammensetzung des Hühnereies.<sup>1)</sup> Er fand nach Veraschung des Eidotters mit Soda und Salpeter 1,279%  $P_2O_5$ , ohne Soda und Salpeter nur 0,67%  $P_2O_5$ . Nun wird aber gerade nach Hoppe-Seyler's Verfahren die fest und unbeweglich gewordene Kohle mit heissem Wasser ausgewaschen, also fast von Alkali befreit. Glüht man nun eine derartige Alkalikohle, so wird die etwa noch vorhandene Phosphorsäure zum Theil in Pyrophosphorsäure verwandelt. Diese geht aber erst nach Kochen mit Salpetersäure in Orthophosphorsäure über. Dieser Moment wird vor der Fällung mit Molybdänlösung oft nicht berücksichtigt, hierauf ist jedoch der grösste Werth zu legen, da nur die Orthophosphorsäure mit der Molybdänlösung Phosphormolybdänammon bildet. Unterlässt man das Aufkochen, so entzieht man daher einen mehr oder weniger grossen Theil der Fällung. Will man also nach Hoppe-Seyler's Methode veraschen und den Phosphor bestimmen, so muss man mit Salpetersäure aufkochen, auf ca. 80° abkühlen lassen, nun die Molybdänlösung zufügen und bei dieser Temperatur die Flüssigkeit lange Zeit stehen lassen. Mit der Molybdänlösung darf man die gelöste Asche nicht kochen, da sich erstere dabei zersetzt. Aus dem angeführten Grunde hat sich gegen die am 25. Juni 1896 veröffentlichten officiellen Vorschriften für die Phosphorsäurebestimmung im Wein ein förmlicher Kampf erhoben.<sup>2)</sup>

Einheitliche Resultate für den Phosphorgehalt organisch chemischer Substanzen kann man nur dann zu erhalten hoffen, wenn man Asche herstellt, die, in Salpetersäure gelöst, keine Spuren von Kohle mehr enthält. Gelegentlich zahlreicher Phosphorbestimmungen in Menschen-, Kuh-, Ziegen- und Eselsmilch hatten auch wir mit der Schwierigkeit zu kämpfen, eine reine weisse Asche derselben zu erhalten. Aber nur auf diese Weise ist man sicher, sämmtlichen Phosphor des Caseins, des Lecithins oder andere phosphorhaltige organische Substanzen

1) Göthener Chemik. Zeitung. Repertor. 1900. Bd. 24. 49.

2) Chem. Zeitung. 1901. Bd. 25. 263 und 291.

der Milch in Phosphorsäure umgewandelt, bezw. an Alkali gebunden zu haben.

Wir sind nun bei unseren fortgesetzten Untersuchungen zu einer Methode gekommen, die deshalb zu beschreiben von Werth ist, weil sie in kürzester Zeit eine prachtvolle Schmelze liefert und auch bei anderen Nahrungsmitteln ausser Milch Verwendung finden kann. Unser Verfahren ist kurz folgendes:

50 ccm. Milch werden in einer geräumigen Platinschale (die unsere hat einen Durchmesser von 10 cm. und eine Höhe von 4,5 cm.) unter öfterem Umrühren auf dem Wasserbade zur Sirupsdicke eingedampft, mit 3 Löffeln chemisch reiner wasserfreier, fein gepulverter Soda verrührt und vorsichtig im Abzuge verbrannt, darauf  $\frac{1}{4}$  Stunde lang geglüht. Die vollkommene Veraschung der Milch wird zuletzt dadurch erreicht, dass man den in breiter, aber dünner Schicht befindlichen Tiegelinhalt mit einer Mischung von 1 Theil genannter Soda und 2 Theilen krystallinischen Kalisalpeters reichlich bedeckt und unter Umrühren mit einem Glasstab über einem Dreibrenner glüht. Es entsteht dann eine weisse, breiige Masse, die bei starkem Glühen flüssig wird. Die breiige Masse rührt man zu einem Häufchen zusammen, legt den Glasstab in eine Porzellanschale, lässt erkalten und kann dann, nachdem dies geschehen, durch leichtes Zusammendrücken der Platinschale die ganze Schmelze in einem oder mehreren grossen Stücken herausheben. Man gibt sie in ein geräumiges Becherglas, ebenso den Glasstab, fügt verdünnte Salpetersäure zu und lässt die Schmelze in dem mit einem Uhrglas bedeckten Becherglase in der Kälte sich lösen. Inzwischen hat man in die Platinschale verdünnte Salpetersäure gegeben und fügt zu dem im Becherglas gelösten Theil sodann den in der Platinschale zurückgebliebenen gelösten Rest der Asche hinzu. Man erhält auf diese Weise eine fast klare Flüssigkeit, kocht dieselbe auf und behandelt sie weiter nach der Molybdänmethode. Sollten von dem Glasstab Splitter abgesprungen sein, so filtrirt man diese vor der Fällung mit Molybdänlösung ab.

Man sieht, dass die ganze Procedur gar nicht viel Zeit in Anspruch nimmt, und dass durch Umrühren der Schmelze

die Milchtheile nicht allein mit dem Sauerstoff der Luft, sondern auch mit dem aus dem Salpeter entstammenden in Berührung kommen und, ohne wegzuspringen, ruhig abbrennen. Nach dieser Methode haben wir auch Koth, Muskelfleisch und ähnliche Substanzen zur darauffolgenden Phosphorbestimmung verascht.

Neben dieser Veraschungsmethode leistet uns das folgende, seit Carius bekannte<sup>1)</sup> und von uns etwas modificirte Verfahren bei der Phosphorbestimmung recht gute Dienste. In einen Kjeldahl'schen Kolben werden 50 ccm. Milch oder Urin gegeben und 5 ccm. concentrirte Salpetersäure zugefügt, um bei dem darauffolgenden Einengen auf ca. 20 ccm. Ueberkochen zu vermeiden. Man hat besonders darauf zu achten, dass dieser Vorgang bei kleiner Flamme geschieht. Erst dann wird die Oxydation der Milch durch 20 ccm. rauchende Salpetersäure eingeleitet. In der weiteren Ausführung dieser Phosphorbestimmung sind wir Keller gefolgt.<sup>2)</sup> Sobald die braunen Dämpfe durch Erwärmen verschwunden sind, lässt man abkühlen und fügt 20 ccm. concentrirte Schwefelsäure zu. Nachdem sich die Flüssigkeit, die man wieder erwärmt, schwarz gefärbt hat, werden 25 g Ammonitrat in 2 Portionen zugefügt und die Lösung dabei so lange mit kleiner Flamme erhitzt, bis sie farblos ist. Mehrfaches Umschütteln während des Erhitzens führt hierbei schneller zum Ziel. Nach abermaligem Abkühlen wird alkalisch gemacht, sodann mit Salpetersäure stark angesäuert und die weitere Phosphorbestimmung nach der Molybdänmethode vollendet. Man hat den beim Erhitzen der Milch mit Schwefelsäure gebildeten schwefelsauren Kalk vor der Fällung mit Magnesiummischung abzufiltriren. Vielleicht lässt sich der so hoch gefundene  $P_2O_5$ -Gehalt der Kuhmilch (2,4 g pro Liter)<sup>3)</sup> durch das Unterlassen dieser Massnahme erklären.

Als Beleg für die Güte der beiden Verfahren möge Folgendes dienen: Je 50 ccm. Frauenmilch, mit Salpetersäure oxydirt und nach der Molybdänmethode weiter behandelt, ergaben:

1) Siehe Bernthsen, Lehrb. d. org. Chemie.

2) Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIX, Heft 2

3) Siehe diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 150.

I. 0,0307 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . II. 0,029 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . Durch Veraschung mit Soda und Salpeter ergab die gleiche Milch in 50 ccm. 0,0291 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

Zum Schlusse möchten wir auf ein drittes Verfahren aufmerksam machen, welches wir bei Bestimmung des gesammten Phosphors in Milch verwenden. Die Milch wird hiernach mit Kupfervitriol und Natronlauge so gefällt, wie es Ritthausen für die quantitative Bestimmung der Eiweisskörper angegeben hat.<sup>1)</sup> Man erhält alsdann in der Fällung nicht allein die Eiweisskörper, sondern den gesammten Phosphor. Die qualitative Prüfung des Filtrates ergab regelmässig völlige P-Freiheit, ebenso wie auch der folgende Beleg beweist, dass in der That aller Phosphor auf diese Weise mit ausgefällt wird. Der aus der Milch mit Kupfervitriol erhaltene Niederschlag wurde mit Soda und Salpeter in der vorher angegebenen Weise verascht, um die Phosphorsäure zu binden.

Ein Liter Eselsmilch ergab dabei 1,55 g Gesamt- $\text{P}_2\text{O}_5$ , dieselbe Milch einfach mit Salpetersäure oxydirt 1,56 g Gesamt- $\text{P}_2\text{O}_5$ . Es ergibt sich also hieraus aufs Neue die Richtigkeit der seiner Zeit von Schlossmann<sup>2)</sup> gegenüber Pfeiffer aufgestellten Behauptungen, dass bei der Ritthausen'schen Fällung nicht nur das Casein niedergeschlagen wird, sondern dass ausserdem alle Eiweisskörper, ja anscheinend ausser diesen noch andere stickstoffhaltige Substanzen ausgefällt werden. Es finden sich vielmehr in dem Ritthausen'schen Niederschlag nicht nur die gesammten Eiweisskörper, sondern auch die mehr oder weniger bekannten und genau identificirten Phosphorträger der Milch, und zwar ebenso die anorganischen wie die organischen.

Zum Schluss erfülle ich noch die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef, Herrn Dr. Arthur Schlossmann, für die Anregung zu dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

1) Journ. für prakt. Chemie, Bd. 15, S. 329.

2) «Ueber einige bedeutungsvolle Unterschiede zwischen Kuh- und Frauenmilch in chemischer und physiologischer Beziehung.» Leipzig. Verlag von B. G. Teubner.