

Über die alkalimetrische Phosphorsäurebestimmung nach A. Neumann.

Von

J. P. Gregersen.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Der Redaktion zugegangen am 8. Oktober 1907.)

Die von A. Neumann erst im Archiv für Anatomie und Physiologie 1900 mitgeteilte, später in dieser Zeitschrift, Bd. XXXVII und XLIII ausführlicher beschriebene titrimetrische Phosphorsäurebestimmung (auch beschrieben in Thierfelder: Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Anal. 1903) ist bereits in einer Reihe von Arbeiten¹⁾ verwertet worden, besonders zur P-Bestimmung in organischen Produkten nach vorhergehender Veraschung gemäß der von Neumann an demselben Orte angegebenen Methode (Säureveraschung). Die genannten Autoren waren mit der Methode zufrieden, indes führt Ehrström an, daß die Methode in einzelnen Fällen, ohne daß er die Ursache erklären könne, falsche Resultate gegeben habe. Es liegen jedoch weder in Neumanns Abhandlung noch, meines Wissens, anderswo veröffentlichte Kontrollanalysen an genau bekannten P-Mengen in größerer Anzahl vor, um über den Grad der Genauigkeit der Methode und über die Grenzen, innerhalb deren die Methode zuverlässig ist, Aufklärung zu geben. Neumann selbst führt nur an, man dürfe den Phosphorsäuregehalt (P_2O_5) aus praktischen Gründen — überflüssig großem Verbrauch von

¹⁾ Cronheim und Müller, Zeitschr. f. diät. u. physik. Therap., Bd. VI. Malcolm, Journal of Physiol., Bd. XXVII, S. 355. Donath, Diese Zeitschr., Bd. XLII, S. 142. Ehrström, Skand. Arch. f. Physiol., Bd. XIV, S. 82. Wendt, ibid., Bd. XVII, S. 215. Rubow: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. LVII, S. 71. Glikin, Biochem. Zeitschr. 1907, S. 240. Erlandsen, Diese Zeitschr., Bd. LI, S. 85.

Normalflüssigkeiten — nicht höher wählen als 50 mg, und selbst bei Analysen mit einem Gehalt von 15 mg P_2O_5 erziele man sehr zuverlässige Resultate.

Ich habe deshalb im hiesigen Laboratorium, wo die Methode bei zahlreichen Analysen des verschiedenartigsten Materials zur Anwendung gekommen ist, eine Reihe Analysen an bekannten, sehr verschiedenen P-Mengen zu dem Zwecke unternommen, teils zu untersuchen, welchen Einfluß das Variieren der Fällungsbedingungen auf die Resultate übt, teils zu erfahren, auf welche Genauigkeit man Rechnung machen kann, wenn die geeignetsten Fällungsbedingungen gewählt werden, und endlich die Brauchbarkeit der Methode zu Analysen mit sehr geringem Phosphorgehalt zu prüfen.

Neumanns Methode besteht in Kürze in folgendem: Handelt es sich um die Analyse eines organischen Produktes, so verascht man dieses durch Erhitzung mit einer Mischung aus gleich großen Volumina konzentrierter Schwefelsäure und konzentrierter Salpetersäure, wodurch der in organischer Verbindung befindliche Phosphor in Phosphorsäure umgewandelt wird; hat man mit einer Salzlösung zu tun, so wird nur Säuremischung zugesetzt. Das Fällen der Phosphorsäure geschieht in der stark sauren Flüssigkeit, die reichlich mit Ammoniumnitrat versetzt wird, bei einer Temperatur von 70—80° mittels einer 10%igen wässrigen Lösung Ammoniummolybdats (40 ccm dieser Lösung fällen 60 mg P_2O_5). Der Bodensatz wird durch Dekantieren mit eiskaltem Wasser ausgewaschen, in Überschuß von $n/2$ -Natron gelöst, man entfernt das Ammoniak durch Kochen, setzt Phenolphthalein hinzu und titriert mit $n/2$ -Schwefelsäure zurück, bis die rote Farbe verschwindet. Aus der verbrauchten Menge $n/2$ -Natron läßt sich die P-Menge berechnen, indem zu jedem Molekül phosphormolybdänsauren Ammoniaks 28 Moleküle NaOH verbraucht werden. Die Methode setzt also voraus, daß der gelbe Bodensatz die konstante Zusammensetzung $(NH_4)_3PO_4$, 12 MoO_3 , 2 HNO_3 hat, die zur Neutralisation eine konstante Menge $n/2$ -Natron verbraucht, was Neumann seiner Angabe nach durch zahlreiche Kontrollanalysen bestätigt fand, wenn, nach Verwendung von höchstens

40 ccm Säuregemisch (es wird keine untere Grenze angegeben) bei der Veraschung, die Fällung in einer Flüssigkeitsmenge von ca. 250 ccm, die 10% Ammoniumnitrat enthält, bei einer Temperatur von 70—80° vorgenommen wird.

Daß frühere Versuche titrimetrischer Phosphorsäurebestimmungen durch Lösung des gelben Bodensatzes in Natron nicht gelangen, rührt nach Neumann davon her, teils daß man durch die Art und Weise, wie man titrierte, keinen hinlänglich scharfen Übergang zu erreichen vermochte, teils daß man wegen der Verhältnisse, unter denen die Fällung der Phosphorsäure geschah, zu keiner konstanten Zusammensetzung des phosphormolybdänsauren Ammoniaks gelangte.

Ich wandte zu meinen Analysen Lösungen phosphorsaurer Salze (KH_2PO_4 und $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) an, von deren Reinheit ich mich dadurch überzeugte, daß ich die Gewichtsänderung nach Ausglühen (Umbildung in Metaphosphat) untersuchte. Die Gewichtsänderung entsprach genau der angenommenen Zusammensetzung. Die Einstellung meiner Normalflüssigkeiten erfolgte nach Sörensens Methode (der Oxalatmethode).

Zu den Analysen wurde nur konzentrierte Schwefelsäure allein hinzugesetzt, was dasselbe Verhältnis gibt wie nach Destruktion durch Säuremischung, indem die zugesetzte Salpetersäure während der Veraschung verkocht. Die Temperatur (ca. 70—80°), bei der die Fällung geschah, das Schütteln (ca. $\frac{1}{2}$ —1 Min.), das Stehen (ca. $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ St.), das Dekantieren waren bei allen Analysen dieselben (wie von Neumann angegeben). Indes muß man, wie ja überhaupt beim Titrieren mit Säure und Alkali mit Phenolphthalein zum Indikator, die vorhandene Kohlensäure berücksichtigen, ein Umstand, den Neumann nicht erwähnt. Die Kohlensäure, die sich in größerer oder geringerer Menge stets sogar in der am sorgfältigsten bereiteten Natronlösung findet, oder die sich während des Stehens, des Auftröpfelns und während des übrigen Verlaufes der Analyse nach und nach einstellt, wird beim Zurücktitrieren mit $\frac{n}{2}$ -Schwefelsäure bewirken, daß die rote Farbe früher verschwindet, als wenn die Flüssigkeit kohlenstofffrei wäre. Man muß deshalb mit ein wenig Säure übertitrieren ($\frac{1}{2}$ —1 ccm

$n/2$ -Säure), die Kohlensäure aus der sauren Flüssigkeit verkochen, abkühlen und mit Natron zurücktitrieren. Der Fehler, der mehrere Zehntel Kubikzentimeter betragen kann und daher nicht unwesentlich ist, wird bewirken, daß man zu hohe Resultate erhält.

Variationen der Schwefelsäurekonzentration.

Volumen: ¹⁾ 250 ccm, 10% Ammonnitrat, 4 g Ammonmolybdat.

Schwefelsäure	5 ccm	10 ccm	20 ccm	5 ccm	10 ccm	20 ccm
P-Gehalt in Milligrammen	9,43	9,43	9,43	19,64	18,85	19,64
	9,56	9,49	9,41	19,71	18,86	19,65
	9,59	9,49	9,41	19,75	18,88	19,67
	9,63	9,49	9,44			19,68
Gefundene P-Menge	9,68	9,49	9,44			
in Milligrammen	9,68	9,51				
		9,51				
		9,52				
		9,54				
		9,54				

Man sieht, daß es keineswegs gleichgültig ist, welche Menge Schwefelsäure man anwendet. Die Resultate sind sehr befriedigend, wenn die Fällung in 250 ccm Flüssigkeit unternommen wird, die 10% Ammoniumnitrat und 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure enthalten. Bei einem Gehalt von 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure sind die Werte hinsichtlich derjenigen Analysen befriedigend, die einen größeren P-Gehalt haben; bei Analysen mit einem geringeren P-Gehalt werden die Werte weniger genau, und bei einem Säuregehalt von 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure werden die Werte sowohl bei einem größeren als bei einem geringeren P-Gehalt um bedeutend zu hoch. Die Menge der während der Fällung vorhandenen Schwefelsäure übt also Einfluß auf die Zusammensetzung.

¹⁾ Unter Volumen versteht sich hier wie im folgenden die Flüssigkeitsmenge nach Zusatz von Schwefelsäure, Ammonnitratlösung und Ammonmolybdatlösung.

ung des Bodensatzes, worauf Neumann nicht zur Genüge aufmerksam macht, indem er nur eine obere Grenze für den Säureverbrauch während der Destruktion nennt. Da es mithin wünschenswert wäre, daß man bei sämtlichen Analysen die gleiche Menge Schwefelsäure anwenden könnte, versuchte ich, ob sich genaue Resultate bei einem Gehalt von 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure erzielen ließen, wenn der prozentige Gehalt an Ammoniumnitrat geändert wurde, indem ich, wie ich unten erörtern werde, gefunden habe, daß man zur Destruktion niemals eine größere Menge Schwefelsäure einzuführen braucht.

Variationen der Ammoniumnitratkonzentration.

Volumen: 250 ccm, 10 ccm konz. Schwefelsäure, 4 g Ammonmolybdat.

Ammonnitrat	3%	5%	7%	10%	13%	15%	20%	25%
P-Gehalt in Milligrammen	9,43	9,43	9,43	9,43	9,43	9,43	9,43	9,43
Gefundene P-Menge in Milligrammen	9,60	9,57	9,60	9,49	9,49	9,44	9,42	9,44
	9,62	9,60	9,60	9,49	9,52	9,44	9,44	9,44
		9,62		9,49		9,47		
		9,65		9,49				
				9,51				
				9,51				
				9,52				
				9,54				

Volumen: 250 ccm, 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure.

	4 g Ammonmolybdat				2 g Ammonmolybdat			
Ammonnitrat	7%	10%	15%	20%	10%	13%	15%	20%
P-Gehalt in Milligrammen	19,64	18,85	18,85	18,85	1,65	1,65	1,65	1,59
Gefundene P-Menge in Milligrammen	19,86	18,86	18,83	18,74	1,79	1,70	1,73	1,66
	19,95	18,88	18,86	18,78	1,81	1,73	1,74	1,69
	19,80		18,88		1,84	1,73	1,76	1,69

Bei Analysen mit einem P-Gehalt von 18—19 mg erhält man die genauesten Werte (der Fehler nicht über 0,04 mg P), wenn die Flüssigkeit, in welcher die Fällung stattfindet, 10 bis 15⁰/₀ Ammoniumnitrat enthält; bedeutend ungenauere Werte bekommt man sowohl bei größerem Gehalt (20⁰/₀) an Ammoniumnitrat (zu niedrige Werte) als namentlich auch bei geringerem Gehalt (7⁰/₀) an Ammoniumnitrat (zu hohe Werte).

Bei Analysen mit geringerem P-Gehalt (9,4 mg) erhält man die günstigsten Resultate durch Fällung in Flüssigkeit mit einem Gehalt von 15—25⁰/₀ Ammoniumnitrat (der Fehler ist hier stets unter 0,04 mg P); bei geringerem Gehalt an Ammoniumnitrat wird der Fehler um so größer, je niedriger der prozentige Gehalt an Ammoniumnitrat ist.

Bei Analysen mit sehr geringem P-Gehalt (weniger als ein paar Milligramm) bekommt man die genauesten Werte durch Fällung in Flüssigkeit mit 13—20⁰/₀ Ammoniumnitrat, wengleich der Fehler hier etwas größer wird (0,11 mg P).

Sowohl was die Analysen mit einem größeren als auch was die Analysen mit einem geringeren Phosphorgehalt betrifft, sind 15⁰/₀ daher der geeignetste Gehalt an Ammoniumnitrat während des Fällens (unter Voraussetzung eines Schwefelsäuregehalts von 10 ccm).

Bei den folgenden Analysen, wo der Überschuß an Ammoniummolybdat variierte, fällte ich deshalb in 250 ccm Flüssigkeit, die 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure und 15⁰/₀ Ammoniumnitrat enthielten (Tabelle S. 459).

Aus den Analysen geht hervor, daß man selbst bei ziemlich bedeutendem Überschusse an molybdänsaurem Ammoniak noch sehr genaue Resultate erhält; erst ein Überschuß von mehreren Gramm gibt eine nur geringe Verschiebung der Werte nach oben, die besonders da eintritt, wo der P-Gehalt der Analyse ein sehr geringer ist.

Die Analysen sind im ganzen geneigt, ein wenig zu hohe Werte zu geben, namentlich gilt dies von Analysen mit sehr niedrigem P-Gehalt, wo der Fehler auch absolut größer wird als bei Analysen, die mehr Phosphor enthalten. Ich versuchte deshalb, ob die Resultate bei solchen Analysen mit sehr ge-

ringem P-Gehalt nicht besser werden möchten, wenn die Fällung in einem kleineren Volumen unternommen würde.

Variationen des Überschusses an Ammoniummolybdat.

Volumen: 250 ccm, 10 ccm konz. Schwefelsäure, 15% Ammonnitrat.

Ammonmolybdat	2 g	3 g	4 g	5 g	4 g	5 g
P-Gehalt in Milligrammen	9,35	9,35	9,35	9,35	18,85	18,69
Gefundene P-Menge in Milligrammen	9,36	9,39	9,41	9,41	18,86	18,72
	9,36	9,36	9,41	9,41	18,88	18,74
Ammonmolybdat	2 g	4 g	2 g	4 g	2 g	4 g
P-Gehalt in Milligrammen	7,01	7,01	4,67	4,67	2,35	2,35
Gefundene P-Menge in Milligrammen	—	7,09	—	—	—	—
	7,05	7,06	4,72	4,74	2,41	2,48
	7,05	7,06	4,69	4,74	2,38	2,48

Variationen des Volumens.

Ammonmolybdat . . .	2 g			16 g		
Ammonnitrat	15%	15%	20%	12%	12%	5%
Schwefelsäure	10 ccm	10 ccm	5 ccm	10 ccm	30 ccm	10 ccm
Volumen	250 ccm	100 ccm	50 ccm	250 ccm	750 ccm	250 ccm
P-Gehalt in Milligr. . .	1,65	1,59	1,59	95,01	95,01	95,01
Gefundene P-Menge in Milligrammen	1,73	1,61	1,58	94,54	94,95	95,04
	1,74	1,63	1,61	94,69		95,23
	1,76	1,63	1,61			

Wie man sieht, werden die Werte genauer, wenn man in einem geringeren Volumen Flüssigkeit fällt und zugleich die Konzentration der Säure vermehrt.

Bei Analysen, die große P-Mengen (mehr als 35 mg) enthalten, erweist es sich, daß die Werte um ein beträchtliches

zu niedrig werden. In Analogie mit dem oben Gesagten untersuchte ich nun, wie sich die Resultate stellen würden, wenn ich bei solchen Analysen in einem größeren Volumen fällte. Die Resultate sind in obenstehender Tabelle angeführt. Man wird sehen, daß der Fehler bedeutend geringer wird, wenn man unter Beibehaltung der Konzentration der Säure und des Ammoniumnitrats die Fällung in einem größeren Volumen Flüssigkeit unternimmt. Dasselbe läßt sich schon erreichen, wenn man nur die Konzentration des Ammoniumnitrats vermindert.

Da derartige Analysen mit einem sehr großen P-Gehalt, ohne die Resultate besser zu machen, die Analyse erheblich erschweren (großer Verbrauch von Normalflüssigkeit und langsames Dekantieren), sollte man, wie von Neumann hervorgehoben, für die Analyse keinen so großen P-Gehalt wählen.

Vergleicht man die oben angeführten Resultate miteinander, so sieht man, daß man sogar bei sehr verschiedenem P-Gehalt der Analysen genaue und gleichartige Resultate erzielen kann, wenn man nur beim Fällen folgendes beobachtet: man fällt in 250 ccm Flüssigkeit, die 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure und 15 % Ammoniumnitrat enthalten.

Da es wünschenswert ist, während des Fällens denselben Schwefelsäuregehalt zu haben, weil Schwankungen desselben nicht unwesentliche Veränderung der Resultate bewirken, versuchte ich, die Veraschung in der Weise auszuführen, daß ich sogleich die gesamte Schwefelsäuremenge zusetzte, indem ich damit anfang, daß ich 20 ccm von Neumanns Säuremischung hinzufügte, und während des weiteren Verlaufes der Veraschung reine konzentrierte Salpetersäure (statt der Säuremischung) zutröpfelte und nach beendeter Veraschung den Überschuß an Salpetersäure verkochte. Auf diese Weise veraschte ich bedeutende Mengen des verschiedenartigsten Materials: Harn, Kot, Albuminstoffe, Lecithin, Fett, Zucker, Zellulose usw., und die Veraschung erfolgte ebenso leicht, als wenn Säuremischung hinzugeutröpfelt wird.

Durch Zusetzen von Eisenchlorid, Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, wie auch von verschiedenen Kalium- und Natriumsalzen zu den Analysen überzeugte ich mich, daß das Vor-

handensein dieser Stoffe keinen Einfluß auf die Genauigkeit der Resultate übt.

Schließlich werde ich die wenigen Änderungen resümieren, deren Anwendung bei Neumanns Phosphorbestimmung ich vorschlage:

1. Bei der Veraschung werden sogleich 20 ccm von Neumanns Säuremischung zugesetzt, und während des weiteren Verlaufes der Veraschung tröpfelt man nur konzentrierte Salpetersäure hinzu (bei einer Analyse von einem phosphorsauren Salze setzt man nur 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu).

2. Die Fällung geschieht in 250 ccm Flüssigkeit, die 15% Ammoniumnitrat enthält, mittels eines nicht gar zu großen Überschusses an Ammoniummolybdat (zu Analysen, die 10 bis 25 mg P enthalten, verwende ich ca. 4 g, zu solchen, die mutmaßlich weniger als 10 mg P enthielten, ca. 2 g Ammoniummolybdat).

3. Beim Titrieren wird ein kleiner Überschuß ($1/2$ —1 ccm $n/2$ -Säure) zugesetzt, die Kohlensäure verkocht, und dann mit $n/2$ -Natron zurücktitriert.

4. Handelt es sich darum, Mengen von ein paar Milligramm und darunter zu bestimmen, so verwendet man zur Veraschung nur ca. 10 ccm Säuremischung und unternimmt die Fällung in einem Volumen Flüssigkeit von 50 ccm (die 15% salpetersauren Ammoniaks enthalten); im übrigen verfährt man ganz ebenso, wie oben gesagt.

Im folgenden führe ich die Ergebnisse aller in oben beschriebener Weise ausgeführten Analysen an.

Die erste der untenstehenden Tabellen zeigt, daß man sehr genaue Resultate zu erzielen vermag, wenn man nur die hervorgehobenen Fällungsbedingungen beobachtet, und daß man also, wenn nur kein gar zu großer Überschuß von Ammoniummolybdat zugesetzt wird (1,5—2 g), im übrigen die Fällung ganz in derselben Weise unternehmen kann, selbst wenn der P-Gehalt der Analyse sehr bedeutend schwankt (von 32,66 bis 2,35 mg). Nur bei letzterem geringen Werte (2,35) erreicht der Fehler 0,06 mg P, während er bei allen übrigen Analysen 0,05 mg nicht übersteigt. Bei Analysen, die weniger als ein

Volumen: 250 ccm, 10 ccm konz. Schwefelsäure, 15% Ammonnitrat.

P-Gehalt in mg	Gefundene P-Menge in mg	Ammon- molybdat in g	P-Gehalt in mg	Gefundene P-Menge in mg	Ammon- molybdat in g
32,66	32,66	7	9,35	9,36	3
32,66	32,71	7	9,35	9,39	3
23,31	23,33	4	9,35	9,36	2
23,31	23,36	4	9,35	9,36	2
18,85	18,86	4	7,01	7,05	2
18,85	18,88	4	7,01	7,05	2
18,85	18,83	4	4,67	4,72	2
18,69	18,74	5	4,67	4,69	2
18,69	18,72	5	2,35	2,41	2
14,01	14,04	4	2,35	2,38	2
14,01	14,01	4	1,65	1,76	2
14,01	14,06	4	1,65	1,74	2
			1,65	1,73	2

Volumen: 50 ccm, 5 ccm konzentrierte Schwefelsäure.

15% Ammonnitrat, 2 g Ammonmolybdat.

P-Gehalt in Milligrammen	Gefundene P-Menge in Milligrammen.
2,35	2,38
2,35	2,38
2,35	2,36
1,17	1,20
1,17	1,23
1,17	1,23

paar Milligramm P enthalten, ist der Fehler etwas größer; wie aus der letzten Tabelle zu ersehen, kann man aber dadurch, daß man die Fällung in 50 ccm Flüssigkeit unternimmt, den Fehler bis auf eine ähnliche Größe herabsetzen wie bei Analysen mit größerem P-Gehalt.

Neumanns Methode ist also als eine besonders vorzügliche zu betrachten; sie leistet im Anschluß an eine brauch-

bare und zuverlässige Veraschungsmethode eine Phosphorsäurebestimmung, die sich auf sehr verschiedene P-Mengen, ganz bis 1 mg P hinab, anwenden läßt, und deren Genauigkeit, besonders wenn es sich um Analysen mit geringem P-Gehalt handelt, wohl von keiner anderen Methode übertroffen wird. Die Ausführung der Analysen geschieht sehr einfach und schnell, man kann leicht 3—4 oder noch mehr Analysen auf einmal in Gang haben.

