

man ein, spritzt den Schaleninhalt wie vor der Bisulfattitration zweimal ab und beläßt den Rückstand wieder 45 Minuten auf dem Wasserbade. Ergibt sich beim Zurücktitrieren des Bisulfates eine Differenz zwischen zugefügter Schwefelsäure und dem Verbrauch an Lauge, so muß diese vom Ergebnis der Bisulfattitration abgezogen werden.

Über Normallösungen und Titration siehe S. 175.

Die Fehlergrenze der Methode ist  $\pm 0,2\%$ . *Substanzen, die jodhaltig sind, können nach dieser Methode nicht analysiert werden, da die Gegenwart von Jod zu niedere Schwefelwerte bedingt.* Die Ausführung der Schwefelbestimmung erfordert 3 bis 4 Stunden, für den Experimentator ergibt sich jedoch nur eine Arbeitszeit von durchschnittlich  $1\frac{1}{2}$  Stunden.

### Berechnung der Analyse.

Wurde keine Kontrolltitration ausgeführt oder ergab diese keinen Verlust an Säure, so kann der Verbrauch an  $n/50$  Lauge bei der Bisulfattitration für die Berechnung des Schwefelwertes direkt verwendet werden. Wurde jedoch bei der Kontrolltitration ein Verlust an Säure nachgewiesen, so wird dieser Betrag vom Ergebnis der Bisulfattitration in Abzug gebracht.

$\log. \% S' = \log. \text{Faktor} (= 50596) + \log. (\text{ccm } n/50 \text{ Lauge}) +$   
 $+ (1 - \log. \text{Einwaage}).$

## Die quantitative Bestimmung des Phosphors.

### Methode von H. Lieb.<sup>1)</sup>

Die Mikro-Phosphorbestimmung wurde nach dem Vorbild der Methode von Lorenz<sup>2)</sup> geschaffen.

Prinzip: Die organische Substanz wird entweder durch Schmelzen mit einem Soda-Salpetergemisch oder durch Kochen mit einem Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure-Salpetersäure zerstört; der Phosphor wird dabei gleichzeitig zu Phosphorsäure oxydiert. In den erhaltenen Lösungen wird die Phosphorsäure als Ammoniumphosphormolybdat gefällt und als solches zur Wägung gebracht.

<sup>1)</sup> H. Lieb, F. Pregl, l. c., S. 167. — H. Lieb und O. Wintersteiner, Mikrochemie II, 78 (1924).

<sup>2)</sup> Ztschr. f. analyt. Chem. 51, 161 (1912).

Nach einer maßanalytischen Methode wird der gewaschene Molybdätniederschlag mit überschüssiger  $n/10$  Lauge gekocht, dann die Lauge mit  $n/10$  Säure zurücktitriert und so der Verbrauch bestimmt.

## Gravimetrische Methode.

### Erforderliche Reagentien:

1. Sulfat-Molybdänreagens: 50 g Ammoniumsulfat werden in 500 ccm Salpetersäure ( $d = 1,36$ ) gelöst, 150 g Ammoniummolybdat werden in 400 ccm siedend heißem Wasser gelöst. Nach dem Abkühlen wird die Molybdänlösung unter Umrühren im dünnen Strahl der Ammonsulfatlösung zugefügt, schließlich das Volumen mit Wasser auf ein Liter ergänzt. Nach zweitägigem Stehen wird die Lösung in eine braune Vorratsflasche filtriert, diese gut verschlossen und an einem dunklen und kühlen Orte aufbewahrt.

2. Schwefelsäurehaltige Salpetersäure: 30 ccm konzentrierte Schwefelsäure ( $d = 1,84$ ) werden mit einem Liter Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,19 bis 1,21 vermischt.

3. 2%ige wäßrige Lösung von Ammoniumnitrat. Die Lösung soll schwach sauer reagieren, eventuell gibt man auf einen Liter Lösung einen Tropfen Salpetersäure zu.

4. Reiner 95%iger Alkohol.

5. Reinstes Äther (frei von Wasser und Alkohol) oder Acetonum purissimum des Handels (neutral, aldehydfrei).

6. Je nach der Arbeitsmethode entweder ein Gemisch von reinstem feingepulverter Soda und feinst gepulvertem Kaliumnitrat (1:1) oder konzentrierte Schwefelsäure, konzentrierte Salpetersäure und Perhydrol.

### Zerstörung der Substanz.

**Soda-Salpeterschmelze.** Zur Oxydation mit Hilfe der Soda-Salpeterschmelze wird die Substanz (2 bis 5 mg) in ein Mikro-Platinschiffchen eingewogen und mit dem Soda-Salpetergemisch im Überschuß versetzt. Man rührt mit Hilfe eines kleinen Platindrahtes um und überdeckt schließlich mit einer Schicht Soda-Salpetergemisch. Der Platindraht verbleibt im Schiffchen.

Das Schiffchen wird in ein 15 cm langes Mikro-Verbrennungsrohr gestellt, welches an einem Ende rechtwinkelig abgebogen und zu einer Spitze ausgezogen ist. Die Mündung wird durch einen Gummistopfen abgeschlossen, durch welchen ein zur Spitze ausgezogenes Glasröhrchen führt. Man leitet einen Sauer-

stoffstrom durch das Röhrchen (2 bis 4 ccm pro Minute), beginnt mit dem Bunsenbrenner vor dem Schiffchen zu heizen und verschiebt diesen allmählich in der Richtung gegen den Sauerstoffstrom. Sobald die Reaktion abgeklungen ist, glüht man das Schiffchen mit dem Kegel der Bunsenflamme einige Minuten. Nach dem Abkühlen des Rohres bringt man das Schiffchen in ein Reagenzglas, kocht es mit 4 bis 5 ccm verdünnter Salpetersäure aus und filtriert die Lösung in ein weithalsiges Reagenzglas (4 bis 5 cm Durchmesser), welches vorher mit heißer Schwefelchromsäure gereinigt und dann gründlichst gewaschen wurde. Das Verbrennungsrohr wird, wenn Teile der Schmelze verspritzt sind, ebenfalls mit wenig heißer, verdünnter Salpetersäure ausgespült, die Spülflüssigkeit durch das ausgezogene Röhrchen abfließen gelassen (Zweck des Röhrchens). Das klare Filtrat wird mit 2 ccm schwefelsäurehaltiger Salpetersäure versetzt und mit destilliertem Wasser auf 15 ccm ergänzt.

**Nasse Verbrennung.** Zur nassen Verbrennung der Substanz werden 3 bis 6 mg in ein Mikro-Kjeldahl-Kölbchen eingewogen (s. S. 76). In das Zersetzungskölbchen füllt man weiters 0,5 ccm konzentrierte Schwefelsäure, 4 bis 5 Tropfen konzentrierte Salpetersäure und erhitzt bis zum Auftreten der Schwefeltrioxydschwaden. Dann gibt man neuerlich einige Tropfen konzentrierte Salpetersäure zu und erhitzt abermals bis zum Auftreten der Schwefeltrioxyddämpfe. Schließlich wird das Zufügen und Abrauchen der Salpetersäure noch ein drittes Mal wiederholt. Dann gibt man einige Tropfen Perhydrol in das Kölbchen, erhitzt wieder bis zum Auftreten der Schwefeltrioxydschwaden und wiederholt auch diesen Prozeß ein zweites Mal. Der Kölbcheninhalt wird nun in ein weithalsiges Reagenzglas gespült, 2 ccm schwefelsäurehaltige Salpetersäure zugesetzt und das Volumen auf 15 ccm gebracht.

Die nasse Verbrennung ist bequemer durchzuführen als die Soda-Salpeterschmelze, sie ist auch direkt zur Zersetzung von Flüssigkeiten verwendbar, wird daher im allgemeinen vorzuziehen sein.

### Fällung der Phosphorsäure.

Die nach einem der beschriebenen Verbrennungsverfahren erhaltene Lösung wird zur Fällung der Phosphorsäure in einem siedenden Wasserbade erhitzt. Inzwischen bereitet man 15 ccm des klaren Sulfatmolybdänreagens vor, nimmt die heiße Lösung vom Wasserbad, schwenkt kräftig um und gießt das Reagens zur Lösung. Dann stellt man das Reagenzglas in ein Standgefäß. Nach 3 Minuten langem Stehen schwenkt man

wieder eine halbe Minute lang kräftig um und stellt das Gefäß zurück. Nun läßt man die Fällung mehrere Stunden lang absetzen, ehe man zur Filtration schreitet. Für sehr geringe Phosphormengen ist nach Untersuchungen von R. Kuhn<sup>1)</sup> die für die Abscheidung des Niederschlages erforderliche Zeit wesentlich. Niederschläge, welche weniger als 0,5 mg Phosphor enthalten, müssen 6 bis 18 Stunden, Niederschläge, welche weniger als 0,05 mg Phosphor enthalten, bis zu 36 Stunden stehen, ehe sie filtriert werden dürfen. *Es sei besonders hervorgehoben, daß es unzulässig ist, nach der Fällung die Lösung wieder in das Wasserbad zu stellen, da es sonst zu einer Ausscheidung von Molybdänsäure kommt.*

### Filtration des Ammoniumphosphormolybdätniederschlages.

Die Filtration des Niederschlages erfolgt analog der Halogensilberfiltration auf Filterröhrchen mit Hilfe der automatischen Absaugvorrichtung (s. S. 89). Wesentlich ist die Trocknung und Wägung des Filterröhrchens. Das Filterröhrchen wird zuerst mit heißer, verdünnter Salpetersäure, dann mit Wasser gewaschen. Anschließend füllt man das Filterröhrchen mit Alkohol, ist dieser abgesaugt, zweimal mit Äther oder Aceton (Verdrängung des Wassers). Nach der Behandlung mit Aceton wischt man das Filterröhrchen mit Rehleder gründlichst ab und trocknet es in einem Vakuumexsikkator.

Als Exsikkator verwendet man entweder ein dickwandiges Reagenzrohr von 2 bis 3 cm Durchmesser, welches durch einen mit Glashahn versehenen Gummistopfen abgeschlossen wird oder man nimmt einen Revolverexsikkator. Der Exsikkator muß tadellos rein sein und *darf kein Trocknungsmittel enthalten*. Zum Trocknen genügt das durch eine Wasserstrahlpumpe erreichbare Vakuum.

Das Filterröhrchen wird eine halbe Stunde im Vakuumexsikkator belassen. Den richtigen Grad der Trocknung erkennt man am Verschwinden des Äther- bzw. Acetongeruches.

Das Filterröhrchen wird unmittelbar nach der Entnahme aus dem Exsikkator zur Wägung gebracht. Die Zeit, welche von der Entnahme des Filterröhrchens aus dem Exsikkator bis zur erfolgten Wägung verstreicht, wird genau notiert.

Für das gute Gelingen der Phosphorbestimmung ist es unerlässlich, die Bedingungen der Trocknung und Wägung des Filterröhrchens vor und nach der Filtration des Niederschlages

<sup>1)</sup> Ztschr. f. physiol. Chem. 129, 66 (1923).

vollkommen gleich einzuhalten. Die Filtration erfolgt immer auf ein leeres Filtrerröhrchen. Vorhandene Molybdatniederschläge werden vor der Reinigung des Filtrerröhrchens mit Ammoniak entfernt.

Die Filtration erfolgt mit Hilfe der auf S. 90 beschriebenen Vorrichtung. Zuerst saugt man die Flüssigkeit ab, dann wäscht man den Niederschlag mit der 2%igen Ammoniumnitratlösung und bringt ihn auf den Filter. Zur Erfassung der letzten Niederschlagsreste spritzt man die Gefäßwandung abwechselnd mit 95%igem Alkohol und der 2%igen Ammoniumnitratlösung ab. Nach der Filtration wird das Heberrohr abgenommen, das Filtrerröhrchen mit Alkohol gefüllt und nach Absaugen desselben mit Äther oder Aceton zweimal gewaschen, wobei man jedesmal das Filtrerröhrchen voll füllt.

Das Filtrerröhrchen wird dann abgenommen, mit Rehlleder gereinigt, in den Vakuumexsikkator gelegt, nach einer halben Stunde auf die Waage gebracht und in der gleichen Zeit gewogen, wie vor der Filtration ohne Niederschlag.

**Berechnung.** Der für die Berechnung des Phosphors aus dem Molybdatniederschlag dienende Faktor ist für die vorliegenden Fällungsbedingungen empirisch ermittelt. Der Faktor ist 0,014525.

$$\log. \% P = \log. (\text{Faktor}) + \log. (\text{Molybdatniederschlag}) + (1 - \log. \text{Einwaage}).$$

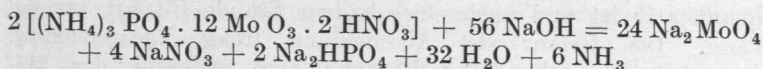
## Maßanalytische Bestimmung des Phosphors.

Diese Methode ist nach dem Vorbild der alkalimetrischen Bestimmung der Phosphorsäure in Eisen und Stahl von Blair (Analysis of Iron and Steel) geschaffen. Die Bestimmung ist in Bezug auf Oxydation der Substanz und der Molybdatfällung gleich wie die gravimetrische Methode. Die Fällung nimmt man zweckmäßigerweise nicht in einem Reagenzglas, sondern in einem 100 ccm fassenden Jenaer Becherglas vor. Die Fällung läßt man über Nacht stehen, dekantiert dann die überstehende Flüssigkeit durch ein Hartfilter (5 bis 7 cm Durchmesser), wäscht die Fällung mit wenig eiskaltem 50%igen Alkohol nach. Die auf das Filter gelangten Niederschlagsteilchen müssen wieder quantitativ in das Becherglas zurückgespült werden.

Zum Niederschlag läßt man zunächst soviel n/10 Lauge zufließen, bis er gelöst ist, dann fügt man nochmals die gleiche Menge zu und kocht 30 Minuten zur Vertreibung des Ammoniaks. Nach Ablauf dieser Zeit soll das Volumen der Lösung nur 10 ccm betragen. Die alkalische Lösung wird mit 5 Tropfen

Phenolphthalein oder Thymolphthaleinlösung versetzt, mit n/10 Säure auf saure Reaktion gebracht (einige Kubikzentimeter Überschuß), dann 10 bis 20 Sekunden lang gekocht und schließlich mit n/10 Lauge zurücktitriert.

**Berechnung.** Nach der Titrationsgleichung von P. Iversen. (Bioch. Ztschr. 104, 25, 1920)



entfallen auf 1 Atom Phosphor 28 äquivalente Lauge. Der Verbrauch an n/10 Lauge multipliziert mit dem Faktor 0,1107 ergibt die Menge Phosphor in Milligrammen.

### Erfahrungen aus der Praxis.

Die quantitative Bestimmung des Phosphors nach H. Lieb gibt ausgezeichnete Resultate. Die große Genauigkeit der Bestimmung ist darauf zurückzuführen, daß der zur Wägung gelangende Niederschlag das 68fache Gewicht des gesuchten Elementes aufweist.

Für das Gelingen der Bestimmung ist die strenge Beachtung der vorgeschriebenen Konzentrationen und die vollkommen gleichartige Behandlung des Filtrerröhrchens vor den Wägungen erforderlich.

Die maßanalytische Methode gibt ebenfalls infolge ihres günstigen Umrechnungsfaktors sehr gute Resultate, doch bietet sie wenig praktischen Vorteil. Das Auswaschen des Niederschlages und Zurückspülen der Niederschlagsteilchen vom Filter ist ziemlich langwierig. Da das Wägen der Filtrerröhrchen bzw. ihre Vorbehandlung nicht viel Mühe in Anspruch nimmt, empfiehlt es sich, auch Serienbestimmungen gravimetrisch durchzuführen. Bei Analysen von Substanzen, welche neben Phosphor Arsen enthalten, muß vor der Fällung der Phosphorsäure die Arsensäure entfernt werden. Entweder durch Fällung mit Schwefelwasserstoff als Sulfid oder durch Destillation mit Salzsäure, Hydrazinsulfat und Kaliumbromid.

### Methode von Gustav Embden.<sup>1)</sup>

Diese Methode ist besonders für die *Bestimmung des Phosphors in physiologischem Material* von Vorteil. Sie unterscheidet sich von der Methode nach H. Lieb durch die Fällung der Phos-

<sup>1)</sup> Ztschr. f. physiol. Chem. 113, 138 (1921).

phorsäure mit Strychninphosphormolybdat. Das Verhältnis von Phosphor zum Niederschlag ist hier noch günstiger als bei der Ammonmolybdatfällung, es beträgt 1 : 98. Die besondere Eignung für Phosphorsäurebestimmung im physiologischen Material ergibt sich aus dem Umstande, daß die Fällung der Phosphorsäure in der Kälte erfolgen kann, schon nach wenigen Minuten praktisch quantitativ ist und nach einer halben Stunde filtriert werden kann. Die Gefahr der Abscheidung freier Phosphorsäure aus organisch gebundener Phosphorsäure während der Bestimmung ist dadurch auf ein Mindestmaß herabgesetzt.

## Die quantitative Bestimmung von Arsen.

### Methode von H. Lieb.<sup>2)</sup>

Prinzip: Die organische Substanz wird mit Salpetersäure zerstört, das Arsen zu Arsensäure oxydiert. Die Arsensäure kann entweder gravimetrisch durch Fällung mit Magnesiummischung oder maßanalytisch durch Umsetzung mit Kaliumjodid und Titration des ausgeschiedenen Jods erfolgen.

#### Ausführung der Bestimmung.

Die Zersetzung der organischen Substanz kann entweder im Mikro-Bombenrohr oder im Kjeldahl-Kölbchen erfolgen.

**Oxydation im Bombenrohr.** Die Oxydation im Bombenrohr wird nach der auf S. 85 beschriebenen Art durchgeführt. In das Bombenrohr werden 5 bis 10 mg Substanz eingewogen und 0,5 ccm konzentrierte Salpetersäure zugefügt. Der Bombeninhalt wird nach dem Erhitzen in eine 30 bis 40 ccm fassende Glasschale mit rundem Boden überleert, dann auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft.

**Nasse Verbrennung.** Zur Verbrennung im Kjeldahl-Kölbchen setzt man zur eingewogenen Substanz 1 ccm 30%ige Schwefelsäure und 4 bis 5 Tropfen konzentrierte Salpetersäure. Man erhitzt das in eine Stativklammer gespannte Kölbchen mit dem klein gedrehten Bunsenbrenner bis zum Auftreten der Schwefeltrioxydschwaden. Der Siedering der Schwefelsäure soll eine Minute lang sichtbar sein. Dann gibt man neuerlich einige Tropfen Salpetersäure zu und erhitzt wie vorher. Nach diesem zweiten

<sup>2)</sup> H. Lieb, F. Pregl, I. c., S. 175. — H. Lieb und O. Wintersteiner, Mikrochemie II, 80 (1924).