

PHOSPHORMIKROBESTIMMUNG IN ORGANISCHEN CALCIUM- ODER BARIUMHALTIGEN SUBSTANZEN

J. HORÁČEK

*Institut für organische Chemie und Biochemie,
Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Prag 6*

Eingegangen am 18. Juli 1972

Es wurde eine einfache Phosphormikrobestimmung in organischen Substanzen bei Gegenwart von Calcium und Barium vorgeschlagen, welche auf der alkalimetrischen Titration der bei der Reaktion von Hydrogenmonophosphat mit überschüssigem Lanthansalz beim pH-Wert 5,4 freigewordenen Wasserstoffionen nach vorausgegangenem Aufschluß mit Perchlorsäure beruht. Bei diesem pH-Wert werden unter Versuchsbedingungen Calcium- und Bariumphosphate noch nicht niedergeschlagen, so daß die angeführten Kationen die Phosphormikrobestimmung nicht stören.

Vor einiger Zeit wurde von uns eine Mikromethode zur Bestimmung von Phosphor in organischen barium- oder calciumhaltigen Substanzen veröffentlicht¹, die auf dem Aufschluß der Substanz durch Perchlorsäure und auf der Titration der entstandenen Phosphorsäure mit einer Lanthannitratmaßlösung im mit Urotropin gepufferten Medium in Gegenwart von Chromazurol S als Indikator beruht. Der Störeinfluß des Bariums wurde durch Zusatz eines geringen Schwefelsäureüberschusses beseitigt, während in Gegenwart von Calcium der Phosphor indirekt titriert wurde.

Das gleiche Prinzip der Phosphatfällung mit einer Lanthannitratmaßlösung wurde später von Griepink und Mitarbeitern²⁻⁷ verwendet, wobei jedoch das Titrationsende im Sinn der Reaktion⁸



aus der Änderung des pH-Wertes festgestellt wurde. Der Störeinfluß von Kationen, die wenig lösliche Phosphate bilden, wie Ba, Hg, Ca und Ag, wird von Griepink aus der zu titrierenden Lösung durch Fällen mit Hilfe von Sulfat- und Jodidlösungen beseitigt, wobei das Calcium mittels Ionenaustauschers entfernt wird.

Die Unterschiede in der Löslichkeit von Lanthan-, Calcium- und Bariumphosphat und ihre Änderungen in Abhängigkeit vom pH-Wert der Lösung führten uns zur Annahme, daß für die analytische Verwendung der Reaktion im Sinn der Gleichung (A) ein solcher pH-Bereich gefunden werden kann, bei dem einerseits das LaPO_4 quantitativ gefällt würde, andererseits Fällung des $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, bzw. $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ noch nicht erfolgte. Diese Möglichkeit wird in der Arbeit von Rancke-Madsen und Kjaergård⁹ angedeutet. Da sich das Erfordernis der Phosphorbestimmung in organischen Substanzen bei Gegenwart von Calcium oder Barium in unserer Praxis des

öfteren ergibt, würde die Phosphorbestimmung im Sinn der Gleichung (1) ohne Entfernung des Calciums oder Bariums eine wesentliche Vereinfachung und Beschleunigung der Arbeit bedeuten.

EXPERIMENTELLER TEIL UND ERGEBNISSE

Vorerst war die Kenntnis erforderlich, eine wie große Lanthan-, Calcium-, bzw. Bariumphosphatmenge in der zu titrierenden Lösung gelöst werden kann. Dies kann allerdings lediglich für konkrete Arbeitsbedingungen, nämlich für ein bestimmtes Lösungsvolumen, seine Ionenstärke und seinen pH-Wert, berechnet werden. Bei der Wahl dieser Bedingungen wurde von der Arbeit¹ ausgegangen. Die organische Substanz wird mit 0,6 ml konz. Perchlorsäure aufgeschlossen, die im weiteren Verfahren mit NaOH neutralisiert wird. Sämtliches NaClO₄ verbleibt in der zu titrierenden Lösung bei einem Volumen von 20 ml, deren Ionenstärke demnach 0,35 beträgt. Für diese Versuchsbedingungen wurde von uns die Menge des gelösten Ca₃(PO₄)₂, Ba₃(PO₄)₂ und LaPO₄ in Abhängigkeit vom pH-Wert berechnet. In der Grundgleichung

$$(K_S)_{\text{bedingt}} = K_S \alpha_{\text{PO}_4(\text{H})} \quad (1)$$

bedeutet $(K_S)_{\text{bedingt}}$ das bedingte Löslichkeitsprodukt, also den gesuchten Wert, K_S die Konzentrationslöslichkeitsprodukte¹⁰ für Ca₃(PO₄)₂ 10^{-28,7}, für Ba₃(PO₄)₂ 10^{-29,34} und für LaPO₄ 10^{-22,43} und $\alpha_{\text{PO}_4(\text{H})}$ bezeichnet den Koeffizienten der Nebenreaktion des Phosphations mit den Wasserstoffionen, den sog. Protonisierungskoeffizienten. Nebenreaktionen der Calcium-, Barium- und Lanthankationen in dem weiter unten angeführten pH-Bereich treten nicht ein und daher $\alpha = 1$. Der Koeffizient $\alpha_{\text{PO}_4(\text{H})}$ wird aus der Beziehung¹¹ $\alpha_{\text{PO}_4(\text{H})} = 1 + K_3^{-1}(\text{H}) + K_3^{-1}K_2^{-1}(\text{H})^2 + K_3^{-1}K_2^{-1}K_1^{-1}(\text{H})^3$ berechnet. Für die Dissoziationskonstanten der Phosphorsäure wurden die Werte nach Ringbom¹² pK₁ 2,0, pK₂ 6,9, pK₃ 11,7 herangezogen. Anstelle des Konzentrationslöslichkeitsproduktes des Calcium- und Bariumphosphats wird in die Gleichung (1) sein thermodynamischer Wert $(K_S)_a$, dividiert durch den mittleren Aktivitätskoeffizienten γ_{\pm}^5 , eingesetzt. Zur Berechnung dieses mittleren Aktivitätskoeffizienten wurde die Daviessche Gleichung¹³

$$-\log \gamma_{\pm} = 0,5z_1z_2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0,3I \right)$$

herangezogen, wo z_1, z_2 die Ladungen des Phosphat- und Calciumions und I die Ionenstärke der Lösung bedeuten.

In Tabelle I werden die berechneten Ca₃(PO₄)₂-, Ba₃(PO₄)₂- und LaPO₄-Mengen angeführt, die sich in 20 ml der zu titrierenden Lösung beim pH-Wert von 3,5 bis 7,5 lösen.

Wie aus Tabelle I ersichtlich ist, ist die Phosphormikrobestimmung in organischen gleichzeitig Calcium und Barium enthaltenden Substanzen im Sinn der Reaktion (A) im pH-Bereich von ca. 5–6,5 durchführbar. Insoweit es sich um die Löslichkeit von CaHPO₄ oder BaHPO₄ handelt, zeigt die analoge Berechnung, daß ihre Löslichkeit unter den angeführten Bedingungen bei beiden Verbindungen ungefähr die gleiche, jedoch mehr als größenordnungsmäßig höher ist als die des Ca₃(PO₄)₂.

Da eine möglichst einfache Bestimmung entwickelt werden sollte, wurde von uns der Entschluß gefaßt, den erforderlichen Verbrauch an Natriumhydroxidmaßlösung für die Neutralisierung der Wasserstoffionen, die nach Zugabe des Lanthansalzüberschusses zur Hydrogenphosphatlösung in Freiheit gesetzt wurden, unter Verwendung eines azidobasischen Indikators visuell

zu ermitteln. Hierbei muß es zur Bedingung gemacht werden, daß der Farbumschlag des Indikators genügend markant vor sich geht und in engen pH-Grenzen zwischen den angeführten Werten von 5–6,5 liegt. Diesen Bedingungen entspricht sehr gut der Methylrot-Methylenblausch-indikator, dessen Übergang von Rotviolett in Grün im pH-Bereich von 5,2 bis 5,5 liegt. Weil auch der Mittelpunkt des Farbübergangs dieses Indikators, d.i. eine graugrüne, dem pH-Wert 5,4 entsprechende Färbung visuell leicht erfaßt werden kann, wird der pH-Bereich noch weiter eingengt und somit die Präzision der Bestimmung erhöht. Deshalb wird die eigentliche Phosphorbestimmung im Sinn der Reaktion (A) bei dieser graugrünen Indikatorfärbung beim pH-Wert 5,4 begonnen und beendet.

Reagentien. Es gelangten folgende Reagentien zur Anwendung: konz. HClO_4 , HNO_3 , 1M- HClO_4 , 10%ige NaOH, ca. 0,02M- $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, 0,01M-NaOH, standardisiert mit Hilfe von KH_2PO_4 , und ein Mischindikator, bestehend aus gleichen Teilen äthanolischer Lösungen von Methylrot (0,2%) und Methylenblau (0,1%). Sämtliche verwendeten Reagentien waren analysenreine Präparate.

Arbeitsgang. Die eingewogene Substanz mit einem Phosphorgehalt von ungefähr 1 mg wird in einem kleinen Kjeldahlkolben mit 0,6 ml konz. HClO_4 zum Sieden erhitzt, worauf nach 5–10 Minuten 0,2 ml konz. HNO_3 direkt in die siedende Perchlorsäure eingebracht wurden. Im ganzen wird 40 Minuten erhitzt und während dieser Zeit wird der beliebig in der organischen Substanz gebundene Phosphor sicher in Phosphorsäure, ggf. in kleine Mengen von Polysäuren übergeführt. Nach dem Erkalten wird das Aufschlußprodukt in Titrierkolben mit ungefähr 25 ml destilliertem Wasser ausgespült und mit 10%igem NaOH unter Verwendung von Phenolphthalein neutralisiert und mit 1M- HClO_4 von neuem angesäuert. Nun wird die Lösung zum Sieden erhitzt, wodurch das fallweise anwesende Polyphosphat sukzessive hydrolysiert wird, CO_2 wird aus dem zugegebenen 10%igen NaOH ausgekocht und das Lösungsendvolumen wird auf 20 ml eingestellt. Nach mehrminütigem Kochen vergewissert man sich durch Zugabe eines Tropfens Mischindikators, ob der pH-Wert geringer ist als 5,4. Ist die Lösung nicht rotviolett gefärbt, muß noch weiter angesäuert werden. Die Lösung wird im ganzen ungefähr 15 Minuten erhitzt^{3,14}. Schließlich wird der Kolben verkorkt und unter fließendem Wasser auf Raum-

TABELLE I

Löslichkeit von $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ und LaPO_4 in 20 ml zu titrierender Lösung in Abhängigkeit vom pH-Wert

pH	mg $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	mg $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$	$\mu\text{g LaPO}_4$
3,5	1 240	1 686	18,7
4,0	490	710	6,1
4,5	198	276	1,9
5,0	80,6	112	0,6
5,5	31	48	0,2
6,0	12,4	18	0,06
6,5	5,6	8,2	0,02
7,0	2,7	3,8	0,01
7,5	1,4	2	0,004

temperatur abgekühlt, worauf zur eigentlichen Phosphatbestimmung geschritten wird. Unter Schutz gegen Luftkohlendioxid wird die Lösung vorsichtig in den graugrünen Ton des Indikators — in unserem Fall mit Hilfe einer peristaltischen Pumpe — mit 0,01M Standardnatriumhydroxid neutralisiert. Danach werden mittels einer Pipette 2 ml 0,02M Lanthannitrat zugegeben, das durch Kochen von CO₂ befreit und in die gleiche graugrüne Färbung des Mischindikators neutralisiert wurde. Lanthanphosphat wird unter Freiwerden der äquivalenten Menge Wasserstoffionen (Sinken des pH bis auf 3,5–3) gefällt, die unter intensivem Mischen mit Hilfe eines Magnetrührers mit demselben 0,01M-NaOH in die ursprüngliche graugrüne Indikatorfärbung titriert werden. Nach dem ersten Erreichen dieser Färbung kehrt jedoch die Indikatorfarbe in die rötliche Färbung zurück und es muß daher einige Male nachtitriert werden. Die Titration ist beendet, wenn sich die Endfärbung des Indikators mindestens zwei Minuten nicht ändert. Einige Ergebnisse sind in Tabelle II angeführt.

DISKUSSION

Zur Überprüfung der berechneten Ca₃(PO₄)₂-Löslichkeit beim pH-Wert 5,4, d.i. 36,6 mg in 20 ml der zu titrierenden Lösung, wurde die Lösung mit den entsprechenden Mengen von NaClO₄ und KH₂PO₄ hergestellt und durch Kochen von CO₂ befreit, worauf zum Lösungsgemisch die entsprechende Calciumsalzmenge mit demselben pH-Wert zugegeben wurde. Wiewohl auf Grund der Berechnung keine Fällung erfolgen sollte, wurden ungefähr 0,6 mg Calciumphosphat ausgefällt. In der

TABELLE II

Ergebnisse der Phosphormikrobestimmung in organischen Substanzen, die gleichzeitig Calcium oder Barium enthalten

Substanz	Mol. gew.	% P		Maximal- abweichungen	
		ber.	gef. ^a		
Calciumsalz der Glycerinphosphorsäure C ₃ H ₇ CaO ₆ P	210,1	14,73	14,75	-0,16	+0,17
Bariumsalz des Dibenzylphosphats C ₂₈ H ₂₈ BaO ₈ P ₂	691,8	8,95	8,93	-0,26	+0,15
Triphenylphosphin +10 mg Ca C ₁₈ H ₁₅ P	262,3	11,81	11,78	-0,26	+0,17
Calciumsalz des N ² , O ^{5'} -diacetyl-O ^{2'} -tetra- hydropyranilguanodin-3'-phosphats ^b C ₁₉ H ₂₄ CaN ₅ O ₁₁ P	569,5	4,62	4,44	-0,23	-0,09

^a Mittelwert aus 10 Bestimmungen, ^b Laboratoriumspräparat, Gehalt spektrophotometrisch 85%.

Lösung verblieben also 36 mg $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ gelöst, eine Menge, die dem berechneten Wert von 36,6 mg unter Berücksichtigung einer gewissen Approximation bei der Berechnung in sehr guter Übereinstimmung steht. Es wurde nämlich mit für die Ionenstärke von nur 0,1 geltenden Phosphorsäuredissoziationskonstanten gerechnet. Es sind dies jedoch die unseren Bedingungen am nächsten liegenden, von uns gefundenen Werte. Die auf dieselbe Weise beim pH-Wert von 5,4 überprüfte $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ -Löslichkeit stimmt schließlich mit dem berechneten Wert von 54 mg in 20 ml zu titrierender Lösung vollkommen überein. Wie aus Tabelle I demnach hervorgeht, ist die $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - und $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ -Löslichkeit unter den Bedingungen der vorgeschlagenen Mikrobestimmung insoweit groß genug, als selbst bei großem Calcium- oder Bariumüberschuß kein Ausfällen der entsprechenden Phosphate erfolgt.

Das vorgeschlagene einfache Verfahren zur Phosphormikrobestimmung in organischen Substanzen könnte auch in Gegenwart weiterer Metalle durchgeführt werden. Als Beispiel wird für die oben angeführten Arbeitsbedingungen die berechnete Löslichkeit folgender Metallphosphate angeführt: Zn = 10 mg, Cd = 10,5 mg, Ni = 21,6 mg, Mg = 63 mg, Sr = 82 mg. Die Löslichkeit der Phosphate von Co = 2,7 mg, von Cu = 1 mg und von Pb = 0,02 mg ist bereits zu niedrig und noch niedriger ist sie bei den Phosphaten von Al, Cr und Fe, so daß in deren Gegenwart die vorgeschlagene Phosphatbestimmung nicht durchgeführt werden kann.

Die Phosphorbestimmung wird von fallweise in der organischen Substanz enthaltenen Halogenen, Schwefel und Stickstoff nicht gestört. Es stört lediglich Arsen, aus dem beim Aufschluß vorwiegend Arsenat entsteht, daß durch Lanthansalzlösungen ähnlich wie Phosphat gefällt wird. Bei der Titration der in Freiheit gesetzten Wasserstoffionen stört, wie übrigens auch bei jeder Titration mit verdünntem NaOH, Luftkohlendioxid, vor dem daher alle Lösungen geschützt werden müssen. Es genügt beispielsweise vollständig, die zu titrierende Lösung während der Titration mit einem Stopfen zu verschließen, durch den eine Polyäthylenkapillare zum Einleiten der Natriumhydroxidtitrierlösung führt.

Zum Aufschluß der Mikroeinwaagen organischer Verbindungen genügen vollkommen die angeführten 0,6 ml konz. HClO_4 und 0,2 ml konz. HNO_3 . Größere Mengen dieser Säuren^{1,2,15} haben keinen Einfluß auf die Geschwindigkeit des Aufschlusses und erhöhen nur die endgültige Salzmenge in der zu titrierenden Lösung. Spätere Zugabe von konz. Salpetersäure direkt in die siedende Perchlorsäure bringt keine Explosionsgefahr mit sich und ist auch mit Rücksicht auf den höheren Siedepunkt des HClO_4 als solchen vorteilhafter als der Aufschluß mit dem Gemisch beider Säuren. Nach Salpetersäurezugabe bildet sich sofort eine größere Stickoxidmenge, die sehr schnell sämtliche Kohlenstoffreste aus der Substanz verbrennt. Bei Verbindungen, bei denen Phosphor bereits als Phosphat gebunden ist, ist der Aufschluß schon nach 10 Minuten beendet, während Substanzen, die Phosphor in niedrigerer Oxidationsstufe enthalten, länger erhitzt werden müssen. Die angeführte Zeitdauer von 40 Minuten genügt jedoch mit Sicherheit zur Überführung von

Phosphor, der in beliebiger Form in organischen Substanzen gebunden sein kann, zu Phosphorsäure.

Die überschüssige HClO_4 kann nach dem Aufschluß der zu analysierenden Probe nicht direkt gegen den Mischindikator neutralisiert werden, da nach Beginn des nachfolgenden Kochens sein Bestandteil, das Methylrot, aus nicht näher festgestellten Gründen teilweise zerstört wird, wodurch die exakte Funktion des Indikators unmöglich gemacht wird. Nach einigen Minuten des Siedens zeigt sich diese Erscheinung nicht mehr.

Für die Tagesserie der Bestimmungen ist es vorteilhaft, vorher die entsprechende Menge der Lanthannitratvorratslösung mit dem pH-Wert 5,4 herzustellen. Wird mehr als 1 mg Phosphor bestimmt, muß auch mehr Lanthansalzlösung zugegeben werden.

Das Einstellen der 0,01M Natriumhydroxidmaßlösung, d.i. die Feststellung, wieviel μg Phosphor einem Milliliter entsprechen, muß mit Hilfe eines geeigneten Phosphats, am besten mit KH_2PO_4 beim pH-Wert 5,4, durchgeführt werden, und zwar analog wie bei der eigentlichen Bestimmung, jedoch unter Zugabe von ungefähr 1 g NaClO_4 , wodurch das Erhitzen mit HClO_4 und HNO_3 unnötig ist. Das Einhalten des pH-Wertes von 5,4 ist unausweichlich, da zufolge anderer gegenseitiger Verhältnisse des H_2PO_4^- und HPO_4^{2-} bei anderem pH-Wert selbstverständlich auch unterschiedliche Mengen von Wasserstoffionen in Freiheit gesetzt werden.

Die Rückkehr der Indikatorfärbung vor dem Titrationsende wird dadurch verursacht, daß der erhöhten Azidität der Lösung nach Zugabe des Lanthansalzes im Überschuß (pH 3,5–3) eine höhere LaPO_4 -Löslichkeit entspricht (Tab. I). Erst durch Titrieren der freigewordenen Wasserstoffionen, also durch Aziditätsverminderung scheiden sich sukzessive weitere LaPO_4 -Anteile und die ihnen wiederum proportionellen Mengen von Wasserstoffionen aus, welche die Rückkehr der Indikatorfärbung verursachen. Für die Dosierung der Natriumhydroxidmaßlösung bewährte sich die peristaltische Pumpe¹⁶, mittels welcher die Natriumhydroxidlösung in unserem Fall mit einer Geschwindigkeit von 0,6 ml/min zugegeben wird und die das Ablesen des Verbrauchs mit einer Genauigkeit von $\pm 5 \mu\text{l}$ gestattet, so daß man damit eine Bestimmungsgenauigkeit bis $\pm 1 \mu\text{g}$ Phosphor erreicht. Bei den praktischen Analysen überstiegen die Abweichungen von den theoretischen Werten niemals die konventionelle Fehlergrenze von $\pm 0,3\%$.

LITERATUR

1. Horáček J.: diese Zeitschrift 27, 1811 (1962).
2. Griepink B.: *Mikrochim. Acta* 1964, 1151.
3. Griepink B., Slanina J.: *Mikrochim. Acta* 1967, 27.
4. Griepink B., Slanina J.: *Mikrochim. Acta* 1967, 241.
5. Griepink B., Römer F. G.: *Mikrochim. Acta* 1968, 1192.
6. Slanina J., Frintrop P. C. M., Mansveld J. F., Griepink B.: *Mikrochim. Acta* 1970, 52.
7. Römer F. G., Griepink B.: *Mikrochim. Acta* 1970, 867.

8. Cullum D. C., Thomas D. B.: *Anal. Chim. Acta* 24, 205 (1961).
9. Rancke-Madsen E., Kjaergård T.: *Acta Chem. Scand.* 7, 735 (1953).
10. Sillén L. G., Martell A. E.: *Stability Constants of Metal-Ion Complexes*. The Chemical Society, London 1964.
11. Šůcha L., Kotrlý S.: *Teoretické základy analytické chemie*. Herausgegeben von SNTL, Prag 1971.
12. Ringbom A.: *Complexation in Analytical Chemistry*. Wiley, New York 1963.
13. Davies C. W.: *Ion Association*. Butterworths, London 1962.
14. Steyermark A.: *Quantitative Organic Microanalysis*. 2. Aufl. Academic Press, New York 1961.
15. Galanos D. S., Kapoulas V. M.: *Anal. Chim. Acta* 34, 360 (1966).
16. Šlanina J., Frintrop P. C. M., Griepink B.: *Z. Anal. Chem.* 246, 28 (1969).

Übersetzt von K. Grundfest.