

**14. Cesco TOFFOLI ed Olga MARELLI — Determinazione delle forme di combinazione del fosforo nelle miscele di inositesafosfati, fosfati glicerofosfati e citrati.**

Vi sono in commercio preparati farmaceutici di fitina solubile costituiti da fitina più acido citrico o citrati; in essi, ed in quelli contenenti oltre a questi prodotti anche glicerofosfati, interessa riconoscere le diverse forme di combinazione del fosforo e dosarle separatamente.

Uno studio recente ed abbastanza completo di Stainier, Penau e Pierret <sup>(1)</sup> sui saggi degli inositofosfati farmaceutici accenna all'argomento senza risolverlo.

Il metodo che proponiamo si basa sui seguenti fatti, alcuni dei quali sono stati da noi accertati.

1) La fitina in soluzione acida per acido cloridrico precipita col cloruro ferrico in modo completo.

2) La precipitazione è completa anche in presenza di acido citrico e di molti altri acidi inorganici ed organici.

3) Il cloruro ferrico in soluzione acida non solo non precipita l'acido fosforico, ma questo in opportune condizioni sperimentali neppure viene adsorbito in quantità apprezzabile dal precipitato di fitinato ferrico.

4) La fitina precipita col reattivo molibdico; il precipitato che si forma, però, è notevolmente solubile in acqua, per cui passa in soluzione diluendo sufficientemente.

5) Il cloruro di calcio in soluzione neutra precipita completamente fitina e fosfati, non invece l'acido citrico ed i glicerofosfati;

6) e d'altra parte l'acido citrico ed i glicerofosfati in quelle condizioni non impediscono la precipitazione completa della fitina e dei fosfati.

---

<sup>(1)</sup> C. STAINIER, H. PENAU e H. PIERRET *J. de Pharm. et de Chimie*, VIII, 23, 641 (1936).

## METODO DI SEPARAZIONE

La soluzione in esame, o quella ottenuta dal preparato in esame, viene neutralizzata con idrato sodico diluito fino a raggiungere reazione neutra al tornasole ed un color roseo molto leggero con la fenolftaleina. Si aggiunge un eccesso di soluzione neutra di cloruro di calcio: precipitano i fosfati e la fitina mentre restano in soluzione l'acido citrico ed i glicerofosfati.

Si filtra o si centrifuga; il residuo A, separato dal liquido filtrato o decantato B, lo si stempera con acqua aggiunta di poca soluzione neutra di cloruro di calcio e si ripete la filtrazione o la centrifugazione. Il liquido ottenuto si unisce al primo (B), mentre sul precipitato A, così lavato, si opera come vien detto ora.

A) Il precipitato viene sciolto in un volume piuttosto forte di acido cloridrico all'1-1,5 % ( $\text{cm}^3$   $3 \div 4$  di HCl concentrato in  $100 \text{ cm}^3$  di acqua), in un volume tale cioè che, una volta avvenuta la soluzione, l'acidità cloridrica del liquido non scenda al disotto del 0,5 %. Se non si ottiene soluzione completa ciò può essere dovuto ad impurezze od a sostnze estranee a quelle citate.

Solo nel caso che la soluzione originaria desse reazione positiva per l'ione ferrico o per l'ione alluminio, si deve tener conto dell'insolubile: si porta perciò a volume e su una frazione aliquota del filtrato ( $A_1$ ) si continua l'analisi mentre invece sul precipitato (talvolta le filtrazioni sono lente) separato, lavato e mineralizzato nel modo che sarà detto più avanti si farà una determinazione di fosforo ( $P_1$ ).

Il filtrato contiene tutto il fosforo fitinico, salvo quello che fosse rimasto insolubile per il motivo ora detto, e tutto il fosforo inorganico in forma fosforica. Su una piccola porzione aliquota  $A_2$ , si determina, per via volumetrica, la quantità di reattivo ferrico necessario per ottenere la precipitazione completa del fosforo fitinico; mentre invece sulla restante soluzione (o su un'altra porzione aliquota)  $A_3$  si esegue la precipitazione della fitina con la giusta quantità di reattivo (o con un eccesso molto leggero) calcolata da quella consumata nella prova in piccolo, operando nelle identiche condizioni di acidità come in questa.

Si filtra con aspirazione, si lava il precipitato con poca acqua. Si ottengono così: un precipitato  $A_4$  sul quale dopo essiccazione e

mineralizzazione si fa una determinazione di fosforo ( $P_2$ ) ed un filtrato  $A_5$  sul quale, dopo concentrazione, essiccazione e mineralizzazione (per distruggere le sostanze organiche eventualmente presenti) si fa un'altra determinazione di fosforo ( $P_3$ ).

*B)* Il filtrato ottenuto dopo il trattamento con cloruro di calcio contiene tutto l'acido citrico, tutti i glicerofosfati ed eventuali altre forme del fosforo i cui sali di calcio siano solubili in ambiente neutro. Su di una porzione aliquota si fa la determinazione del fosforo totale ( $P_4$ ) dopo concentrazione e mineralizzazione mentre sul rimanente si possono eseguire le altre ricerche che il quesito particolare comporta, segnatamente quelle per definire se  $P_4$  deve venire attribuito tutto o no ai glicerofosfati.

Si portano i risultati a 100 di prodotto in esame:  $P_2$ , più l'eventuale  $P_1$ , costituisce allora il fosforo fitinico,  $P_3$  il fosforo inorganico (fosfati) e  $P_4$  quello dei glicerofosfati.

*Nota 1.* — La mineralizzazione dei precipitati seccati o dei residui ottenuti per evaporazione e successiva essiccazione, viene eseguita per mescolanza e fusione con due grammi o più (con un sicuro eccesso in ogni caso) di miscela costituita da:

|                                |      |
|--------------------------------|------|
| carbonato potassico . . . .    | g 46 |
| nitrato potassico . . . .      | » 25 |
| carbonato sodico secco . . . . | » 35 |

*Nota 2.* — Qualora il lavaggio dei precipitati separati dal liquido non fosse agevole, completata la filtrazione senza lavare, si pesa filtro e precipitato prima e dopo l'essiccazione in stufa: la differenza è costituita evidentemente dalla quantità di liquido che impregnava carta e precipitato. Questo dato, unito a quello del volume del liquido filtrato ed ai risultati di fosforo ottenuti su di esso nel corso dell'analisi, permette di conoscere l'errore in più ottenuto nell'analisi di fosforo del precipitato e l'errore in meno nelle determinazioni di fosforo eseguite sul filtrato a causa del mancato lavaggio.

*Nota 3.* — Per la determinazione di fosforo nei liquidi ottenuti dalla mineralizzazione si preferisca seguire il metodo volumetrico

di Neumann da noi trovato molto pratico e sufficientemente preciso. Se ne veda la descrizione in una nostra recente Nota <sup>(2)</sup>.

*Nota 4.* — La determinazione del fosforo fitinico per via volumetrica con il metodo originale di Heubner e Stadler è ancora la più pratica: se ne troverà la descrizione in una nostra recente Nota <sup>(3)</sup>. L'esattezza del risultato ottenuto, però, dipende troppo da fattori che non è facile fissare ma è sufficiente quando di esso ci si serve solo per conoscere la quantità di reattivo che occorre aggiungere nel saggio definitivo per avere la completa precipitazione dell'ione fitinico ed evitare quell'eccesso che potrebbe causare un sensibile adsorbimento di fosforo inorganico da parte del precipitato di fitinato di ferro.

Ripetiamo che la precipitazione definitiva deve essere fatta nelle stesse identiche condizioni di acidità e di diluizione come nella prova volumetrica.

Roma - Istituto Superiore di Sanità Pubblica - Laboratorio di chimica

#### RIASSUNTO

Vien descritto un metodo per dosare separatamente le differenti forme di combinazione del fosforo in preparati contenenti fosfati e glicerofosfati oltre a fitina solubilizzata con citrati.

Con cloruro di calcio in ambiente neutro si precipitano fitina e fosfati mentre passano nel filtrato glicerofosfati e citrati; successivamente per azione del cloruro ferrico sulla soluzione acida del precipitato calcico si separa la fitina dai fosfati.

Si determina il fosforo nelle tre frazioni così separate.

#### RESUMÉ

On décrit une méthode pour doser séparément les différentes formes de combinaison du phosphore dans les préparations contenant des phosphates et glycérophosphates ainsi que de la phytine solubilisée avec des citrates.

---

<sup>(2)</sup> C. TOFFOLI ed O. MARELLI, Ann. chim. applicata, 31, 391 (1941); questi Rendiconti, 9 (1946).

<sup>(3)</sup> C. TOFFOLI ed O. MARELLI, Ann. chim. applicata, 31, 369 (1941); questi Rendiconti, 9 (1946).

Avec du chlorure de calcium en milieux neutre, on précipite phytine et phosphates tandis que les glycérophosphates et les citrates passent dans le filtrat. Successivement par l'action du chlorure ferrique sur la solution acide du précipité calcique on sépare la phytine des phosphates.

La détermination du phosphore est faite dans les trois fractions séparées de cette façon.

### SUMMARY

A method is described to dose separately the different compounds of phosphorus in preparations containing phosphates and glycerophosphates, besides phytine rendered soluble by means of citrates.

In a neutral solution phytine and phosphates are precipitated by calcium chloride, while glycerophosphates and citrates pass in the filtrate; successively, through the action of ferric chloride on the acid solution of the calcic precipitate, the phytine is separated from the phosphates.

Phosphorus is determined in the three fractions thus separated.

### ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser beschreiben ein Verfahren zur getrennten quantitativen Bestimmung der verschiedenen Formen von Phosphorverbindungen in Präparaten, die Phosphate und Glyzerophosphate sowie auch durch Zitate löslich gemachtes Phytin enthalten.

Mit Chlorcalcium in neutraler Lösung werden Phytin und Phosphate niedergeschlagen, während Glyzerophosphate und Zitate im Filtrat verbleiben; darauf wird durch Einwirkung von Eisenchlorid auf die saure Lösung der gefällten Calciumverbindungen das Phytin von den Phosphaten separiert.

Schliesslich wird der Phosphorgehalt der drei auf diese Weise getrennten Bestandteile bestimmt.