

Phosphorsäure nunmehr selbst veröffentlicht, *) und fühle ich mich verpflichtet, auf einige Differenzen dieses Originals mit dem bezüglichen Berichte von Brunner **) aufmerksam zu machen. Zur Bereitung des citronensauren Ammoniaks gibt A. Petermann folgende Vorschrift: »Citronensäure wird in Ammoniak bis zur neutralen Reaction aufgelöst, die Concentration der Flüssigkeit bis auf 1,09 spec. Gewicht gebracht und dann pro Liter 50 cc Ammoniak zugesetzt. Wenn man die wasserlösliche und die in citronensaurem Ammoniak lösliche Phosphorsäure in einer Operation bestimmen will, so muss man unbedingt ein ammoniakalisches Ammoniakcitrat anwenden, weil sonst die freie Phosphorsäure das citronensaure Ammoniak zersetzen und Citronensäure frei machen, diese aber unaufgeschlossenen dreibasischen phosphorsauren Kalk auflösen würde.«

Die Ausfällung der phosphorsauren Ammoniak-Magnesia soll erst nach 12—14 Stunden eine vollständige sein, man darf aber an Magnesia-Mixtur nicht sparen. Die Menge der letzteren in ihrer gebräuchlichen Zusammensetzung ist auf 60 cc normirt. Was die zur Analyse angewendete Quantität anbelangt, so nimmt Petermann von präcipitirten Phosphaten 1 g, von Phosphoritsuperphosphaten 2 g und von gemischten Düngern 5 g.

2. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

F. Hofmeister.

Die Bestimmung des Harnstoffs nach Liebig hat E. Pflüger ***) zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung gemacht, deren erste Abtheilung vorliegt. Bekanntlich empfiehlt Liebig die bei Zufügung der Quecksilberlösung frei werdende Säure von Zeit zu Zeit mit Barytwasser oder kohlensaurem Natron zu neutralisiren. Pflüger findet nun, dass der Eintritt der Endreaction wesentlich früher erfolgt, wenn nach jedem einzelnen Quecksilberzusatz neutralisirt wird, als wenn die Neutralisirung gegen den Schluss der Titrirung auf einmal vorgenommen

*) Ueber den landwirthschaftlichen Werth der sogenannten zurückgegangenen Phosphorsäure. Berlin 1880, Wiegandt, Hempel & Parey. Vom Verfasser eingesandt.

) Diese Zeitschrift **19, 141.

***) Archiv f. d. ges. Physiol. **21**, 248; vom Verfasser eingesandt.

wird, und zwar kann der bei wiederholtem Neutralisiren ermittelte Harnstoffgehalt bis zu 14 % hinter der Wirklichkeit zurückbleiben.

Pflüger bediente sich zu seinen Versuchen einer Lösung von reinem Harnstoff, in 100 cc 2 g Harnstoff enthaltend, einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, deren Titer so gestellt war, dass, wenn 20 cc derselben zu 10 cc Harnstofflösung (gleich 200 mg Harnstoff) in einem Strahl zugesetzt wurden, die Flüssigkeit nach genauem Neutralisiren beim Zusammenbringen mit Sodalösung eine eben noch erkennbare Endreaction darbot; ferner einer Normalsodalösung, von der bei Anwesenheit von Harnstoff 0,5787 cc genau 1 cc der Quecksilberlösung neutralisirten.

Setzte nun Pflüger zu 10 cc Harnstofflösung einen Cubikcentimeter Quecksilberlösung nach dem anderen zu und neutralisirte jedesmal mit der entsprechenden Menge kohlensauren Natrons, so trat die Endreaction schon bei Zusatz von 17,2—17,3 cc Quecksilberlösung ein; wurde nach Zusatz von je 2 cc neutralisirt, so war das Resultat das gleiche; bei seltenerem Neutralisiren, nach Zusatz von je 4 oder 8 cc trat die Endreaction später ein, bei 17,4 und 17,8 cc u. s. f. Erst wenn Pflüger 19,7 cc Quecksilberlösung in einem Strahl zufließen liess und darauf neutralisirte, erschien der Index bei 20,0 cc. Alternirender Zusatz von Quecksilberlösung und kohlensaurem Natron ergibt sonach zu niedrige Resultate. Dass Liebig übrigens selbst bei definitiver Titerstellung der Quecksilberflüssigkeit bloß einmal neutralisirte, lässt sich nach Pflüger nicht bloß aus dem Wortlaut seiner Angaben erschliessen, sondern geht mit grösster Wahrscheinlichkeit aus dem Umstande hervor, dass nur unter dieser Voraussetzung seine Angabe über den Gehalt der Quecksilberlösung richtig ist. Pflüger überzeugte sich davon, indem er den Gehalt dreier Lösungen, deren Titer er nach seiner Weise festgestellt hatte, durch Fällen des in 20 cc enthaltenen Quecksilbers als Schwefelmetall und Wägen genau bestimmte.

Lösung I, die auf ganz schwache Endreaction gestellt war, enthielt in 10 cc 0,7725 g Hg Θ (Mittel aus 4 Versuchen); Lösung II, ebenso gestellt, 0,7711 g Hg Θ (Mittel aus 2 Versuchen); Lösung III, auf kräftige Endreaction gestellt, 0,7742 g Hg Θ (Mittel aus 2 Versuchen). Liebig gibt den Gehalt seiner Quecksilberlösung zu 772 mg in 10 cc an; in Pflüger's Versuchen betrug er im Mittel 772,6 mg.

Den durch das wiederholte Neutralisiren bedingten Fehler vermeidet Pflüger durch nachfolgendes Vorgehen, das er im Gegensatz zu dem

»alternirenden« Verfahren als die »stetige« Methode der Harnstofftitrirung bezeichnet.

»Man legt eine Platte von farblosem Glase auf ein schwarzes Tuch und lässt die Quecksilberlösung in die Harnstofflösung einfließen, ohne jemals zu neutralisiren. Von Zeit zu Zeit nimmt man einen Tropfen, bringt ihn auf die Glasplatte und legt einen dicken Tropfen aufgeschwemmten Natriumbicarbonats daneben, so dass sie sich berühren, aber nur theilweise mischen. Anfangs bleibt die weisse Quecksilberlösung weiss; dann kommt ein Punkt, wo sie gelb wird, der noch weit von dem richtigen Punkt entfernt ist. Man wartet, bis die gelbe Farbe sich schön ausgebildet hat. Dann rührt man plötzlich mit dem Glasstab beide Tropfen gut durcheinander. Die gelbe Farbe verschwindet wieder, der Niederschlag wird abermals schneeweiss. Man lässt alle Tropfen der Vergleichung halber stehen. Besonders gut sieht man die Farbe, wenn man durch Neigung der Platte den Niederschlag, der fast wie Quecksilber rollt, auf ein Häufchen sammendrängt. Geht man nun weiter, so kommt ein Punkt, wo die gelbe Farbe bei dem Verrühren des weissen Niederschlages mit Bicarbonat nicht mehr verschwindet. So wie derselbe gelblich bleibt, ist der Augenblick gekommen zu neutralisiren. Man ist nur um wenige Zehntel vom richtigen Punkte entfernt. Hat man lange Zeit gebraucht um diesen Punkt zu finden, so gelingt oft die Neutralisation nicht mehr; die Flüssigkeit wird durch den Zusatz von Soda, obwohl sie noch stark sauer ist, wehr oder weniger gelb. Es bleibt nichts übrig, als den Versuch mit einer frischen Quantität Harnstofflösung anzustellen, in die man nun das gefundene Volum Quecksilberlösung sofort in einem Strahle einfließen lässt und sofort in einem Strahle unter fortwährender Rotation der Quecksilberlösung neutralisirt. Man weiss ja genau aus den Versuchen bei der Stellung der Quecksilberlösung, wie viel Normalsodalösung nöthig ist zur Neutralisation eines bestimmten Volums Quecksilberlösung. Hierauf wird mit dem Zusatz der Quecksilberlösung fortgefahren, bis die jetzt definitive Endreaction erscheint.«

Ein zweites Verfahren, mit Hülfe dessen der Werth der Quecksilberlösung durch zwei Titrationen bestimmt werden kann, ist folgendes: Gesetzt man habe bei Titrirung von 10 cc Harnstofflösung nach dem »alternirenden« Verfahren Endreaction bei 17,3 cc erhalten, und die zur Neutralisirung der Flüssigkeit nach einem Quecksilberzusatz von 17,0 cc nöthige Menge kohlensauren Natrons hätte 9,8 cc betragen, so

wäre nun eine zweite Titrirung vorzunehmen, bei der erst 9,8 cc Soda-lösung, dann 17,0 cc Quecksilberlösung zufließen gelassen werden, worauf man in gewöhnlicher Weise weiter geht, so dass immer erst Quecksilber-lösung, dann kohlensaures Natron zugefügt wird. Der Index erscheint jetzt nicht mehr bei 17,3 cc, sondern richtig bei 20,0 cc. Pflüger hat noch nicht untersuchen können, ob dieses Verfahren für alle Concentra-tionen der Harnstofflösung anwendbar ist.

Zur Correctur des durch die Concentration der Harnstofflösung be-dingten Fehlers empfiehlt Liebig bei verdünnterem Harn für je 5 cc, die man weniger verbraucht als 30 (d. i. das Doppelte, vorausgesetzt die zu titrende Flüssigkeit hätte 15 cc entsprechend 10 cc ursprüng-lichen Harnes betragen), von der Summe der verbrauchten Cubikcenti-meter Quecksilberlösung 0,1 cc abzuziehen. Nach Pflüger ist diese Regel unrichtig; an ihrer Statt empfiehlt er nachstehende: Nennt man das Volum der Harnstofflösung plus dem Volum der Sodalösung, welche zur Neutralisation diene, plus dem Volum irgend einer anderen Flüssig-keit, welche frei von Harnstoff hinzugefügt wurde, V_1 , und das Volum der verbrauchten Quecksilberlösung V_2 , so ist die Correctur

$$C = - (V_1 - V_2) \times 0,08.$$

Z. B. 10 cc der zweiprocentigen Harnstofflösung plus 10 cc Wasser werden mit 20,8 cc Quecksilberlösung versetzt, mit 13,95 cc Normal-sodalösung neutralisirt; Endreaction bei 21,0 cc. Die Rechnung für die Correctur gestaltet sich nun folgendermaassen.

$$\begin{array}{r} 10,0 \text{ cc Harnstofflösung} \\ 10,0 \text{ « Wasser} \\ 13,95 \text{ « Sodalösung} \\ \hline V_1 = 33,95 \\ V_2 = 21,0 \\ \hline V_1 - V_2 = 12,95 \\ - 12,95 \times 0,08 = - 1,036. \end{array}$$

Somit ist der richtige Werth $21,0 - 1,0 = 20,0$ cc. (Nach Liebig hätte die Correctur 0,4 ergeben.)

Die vom Verfasser mitgetheilten Belege zeigen, dass mit Zuhülfe-nahme dieser Formel auch beim Titriren $1 - \frac{1}{3}$ procentiger Harnstoff-lösungen befriedigende Resultate zu erhalten sind. Bei concentrirteren Lösungen, z. B. von 4 %, gibt sie leicht etwas zu hohe Werthe, und in noch höherem Maasse bei Verdünnungen unter $\frac{1}{3}$ %.

Zum Schluss gibt Pflüger praktische Regeln zur Bereitung der Titrirflüssigkeiten, aus denen wir Einiges hervorheben. Um die Schwierigkeiten zu umgehen, die sich einer annähernd richtigen Verdünnung der Quecksilberlösung vor definitiver Titerstellung entgegenzusetzen pflegen, hat Pflüger in einer Reihe von Versuchen die Dichtigkeit seiner richtig gestellten Quecksilberlösung mit dem Pyknometer bestimmt — sie ist 1,0998 bei 20,5° C. —, und ein Aräometer construiren lassen, welches nebst einem Thermometer eine Scala trägt, auf welcher die Theilstriche diejenigen Punkte bezeichnen, bis zu denen das Aräometer bei der neben dem Theilstrich bezeichneten Temperatur in einer richtig gestellten, von Säureüberschuss freien Lösung einsinkt. Mit Hilfe dieses »Mercurimeters« wird die zu bereitende Lösung annähernd verdünnt, und nach Absetzen des basischen Salzes erst definitiv gestellt. Dies geschieht wie gewöhnlich durch Titrirung auf eine reine Harnstofflösung von 2 g in 100 cc. Steht eine solche nicht zur Verfügung, so empfiehlt Pflüger 71,5 g reines Quecksilber abzuwägen, in Salpetersäure zu lösen und auf ein Liter zu verdünnen. Um das umständliche Abwägen zu ersparen, liess Pflüger Maassröhrchen mit aufgeschliffener Glasplatte herstellen, die bei mittlerer Temperatur (15° C.) genau 71,5 g Quecksilber fassen. *) Durch Controlwägungen überzeugte sich Pflüger, dass der Fehler, den man dabei, auch bei nicht besonders sorgfältigem Operiren, begeht, nicht mehr als 0,1 g beträgt, was für die tägliche Harnstoffausscheidung des Menschen einer Differenz von 0,06 g Harnstoff entspricht. Zur Herstellung einer genauen Lösung räth Pflüger das abgemessene Quecksilber genau zu wägen, in bekannter Weise aufzulösen, in einem geräumigen Becherglas auf 800 cc aufzufüllen und nach einigem Stehen erst die klare Flüssigkeit, dann das etwa entstandene basische Salz unter Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure in einen Literkolben zu bringen, der am Halse zweckmässig mit einer Eintheilung in Cubikcentimeter versehen ist, so dass es möglich ist, bei schliesslicher Auffüllung das Volum nach dem Gewicht des Quecksilbers zu modificiren.

Zur Bereitung der Normalsodalösung erhitzt Pflüger chemisch reines Bicarbonat im gewogenen Tiegel im Sandbad bis es nicht mehr an Gewicht verliert, und löst 53 g im Liter. Für die Praxis genügt es eine reine Lösung von kohlensaurem Natron so lange mit Wasser

*) Diese Maassröhrchen, sowie die erwähnten »Mercurimeter« können von Franz Müller, Nachfolger von Dr. Geissler in Bonn bezogen werden.

zu verdünnen, bis die mit dem Aräometer gemessene Dichtigkeit 1,053 beträgt.

Bei Verwendung von concentrirteren Lösungen von kohlensaurem Natron, von Natronlauge, Barytwasser oder kohlensaurem Baryt zum Neutralisiren erhielt Pflüger andere Resultate als beim Gebrauch der Normalsodalösung. Seine Resultate haben nur bei Verwendung der letztgenannten Lösung auf strenge Gältigkeit Anspruch.

Bei Ausführung der Titrirung im Harn ist darauf zu achten, dass die von Phosphorsäure, Schwefelsäure und Chlor in bekannter Weise befreite Flüssigkeit vor Beginn des Quecksilberzusates genau neutralisirt wird.

Vorkommen linksdrehender und reducirender Substanzen im Harn. Neuere Untersuchungen haben gelehrt, dass der Genuss bestimmter Stoffe die Ausscheidung eines linksdrehenden manchmal zugleich reducirenden Harnes zur Folge hat. Ueber ein solches Vorkommen nach Einfuhr von Chloralhydrat und Nitrobenzol ist bereits seiner Zeit berichtet worden. *) Betreffs der seitdem gemachten einschlägigen Beobachtungen, die im Hinblick auf die so häufige Untersuchung des Harnes mittelst der Reductionsproben oder mittelst des Polarimeters Beachtung verdienen, sei hier das Wesentliche mitgetheilt. Aus dem Harne von Hunden, die Nitrotoluol erhielten, gelang es Jaffé**) vor Kurzem eine stark linksdrehende, alkalische Kupfer-, Wismuth- und Silberlösungen reducirende Säure, die »Uronitrotoluolsäure«, zu gewinnen. Dieselbe ist nach der Formel $C_{13}H_{15}NO_9$ zusammengesetzt und wird durch Einwirkung verdünnter Säuren gespalten in Nitrobenzylalkohol und einen sauren Körper, welcher die Ebene des polarisirten Lichtes nach links dreht, alkalische Kupferlösung reducirt, jedoch nicht gährungsfähig ist. Ferner beobachteten Baumann und Preusse,***) dass nach grösseren Dosen von Phenol, ebenso nach Einführung von Brombenzol, Hunde einen linksdrehenden Harn entleerten. In jüngster Zeit sind O. Schmiedeberg und Hans Meyer †) bei Fortsetzung einer bereits von Wiedemann ††) begonnenen Untersuchung der nach Campherfütterung im Hundeharne auftretenden linksdrehenden Substanzen dahin gelangt, dieselben zu isoliren und zum Theil in reinem Zustand zu erhalten.

*) Diese Zeitschrift **15**, 365 und 497.

) Zeitschrift f. physiol. Chemie **2, 47.

***) Zeitschrift f. physiol. Chemie **3**, 159.

†) Zeitschrift f. physiol. Chemie **3**, 422.

††) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol. **6**, 230.