

Aus dem Physiologischen Institut der Universität in Neapel.
(Direktor: Prof. Bottazzi.)

Verwendung der Indikatorenmethode beim Studium der Harnreaktion und Vorschlag einer praktischen Methode zur klinischen Benutzung.

Von G. Quagliariello und E. d'Agostino, Assistenten.

Die von Friedenthal (1) und von Salm (2) ersonnene Indikatorenmethode zum Studium der Reaktion von Flüssigkeiten hat erst in jüngster Zeit, dank den von Sørensen (3) vorgeschlagenen sinnreichen Verbesserungen, eine ausgedehnte Anwendung in der Biologie gefunden.

Wie bekannt, beruht diese Methode auf der Eigenschaft einiger Stoffe (Indikatoren), eine verschiedene Färbung, je nach der Konzentration der Wasserstoffionen der Flüssigkeit, in der sie gelöst sind, anzunehmen. Sehr viele Farbstoffe besitzen diese Eigenschaft; es wird genügen, auf die Mehrzahl der Anilinfarben hinzuweisen. Nur in einer bestimmten, für jeden Indikator verschiedenen Zone der Reaktion kann man eine merkliche Farbenveränderung beobachten; diese Zone nennen wir Wendezone oder Empfindlichkeitszone des Indikators. Das Phenolphthalein z. B. ist unempfindlich bei Konzentrationsschwankungen der Wasserstoffionen, die von der größten bekannten Konzentration bis zu 1×10^{-8} gehen; an diesem Punkte wird es empfindlich und färbt sich zuerst rosa, dann rot, allmählich immer intensiver, je mehr die Konzentration der H^+ bis zum Werte 1×10^{-10} abnimmt. Von diesem Augenblick an bleibt seine Farbe unverändert, auch wenn eine weitere Abnahme der H^+ eintritt.

Das Methylviolett behält seine violette Farbe von der minimalsten Wasserstoffionenkonzentration bis zu der von etwa 1×10^{-3} bei; von diesem Augenblick an nähert sich seine Farbe allmählich immer mehr dem Grün, ist vollkommen grün bei der Konzentration 1×10^{-1} und bleibt so trotz weiterer Zunahmen der Konzentration.

Da sehr viele derartige Indikatoren mit verschiedener Empfindlichkeitszone bekannt sind, ist es nicht schwer, eine Reihe so aufzustellen, daß bei einem jeden von ihnen die Empfindlichkeitszone dort beginnt, wo die des vorhergehenden endet, und daß alle miteinander eine Zone umfassen, die von der bekannten höchsten bis zur bekannten niedrigsten Wasserstoffionen-Konzentration geht. Schon mittels einfacher Verwendung derartiger Indikatoren kann man annähernd die Reaktion einer Flüssigkeit feststellen. Nehmen wir z. B. an, wir sollten eine Flüssigkeit untersuchen, die das Phenolphthalein rot färbt, sie hat deshalb eine H^+ -Konzentration, die gewiß niedriger als $0,5 \times 10^{-8}$ ist. Der auf das Phenolphthalein folgende Indikator, das Thymolphthalein, bleibt z. B. farblos, da er von der H^+ -Konzentration $0,5 \times 10^{-9}$ ab eine blaue Färbung annimmt, ist es klar, daß die Konzentration der H^+ der zu untersuchenden Flüssigkeit einem Wert zwischen $0,5 \times 10^{-8}$ und $0,5 \times 10^{-9}$ entspricht. Wie man sieht, handelt es sich um eine schon ziemlich eingeengte Zone. Indessen genügen die Indikatoren für sich allein nicht mehr, wenn man die Reaktion weiter individualisieren will; man muß die Farbnuance, die der Indikator in der zu untersuchenden Flüssigkeit angenommen hat, mit der vergleichen, die er in einer Reihe von Standardflüssigkeiten annimmt, deren bestimmte, wohlbekannte Reaktion eben in den Empfindlichkeitsgrenzen des Indikators variiert. Je zahlreicher und genauer die Reihe von Standardflüssigkeiten ist, desto genauer wird der Vergleich ausfallen. Doch findet eine solche Reihe, die theoretisch unendlich sein könnte, eine natürliche Grenze in der Empfindlichkeit des Indikators selbst.

Nun ist es aber möglich, bei Verwendung von sehr emp-

findlichen Indikatoren und von Standardlösungen von genauer und konstanter Reaktion, wie die schönen Untersuchungen Sörensens nachgewiesen haben, mit dieser Methode sehr gute Resultate zu erhalten, die den mit den Gasketten erhaltenen praktisch gleich sind. Bedenkt man, daß die Methode der Gasketten ziemlich kompliziert ist und die Benützung feiner und kostspieliger Apparate erfordert, so versteht man sofort, von welchem Vorteil für biologische und insbesondere für pathologische Untersuchungen die Einführung dieser Methode sein kann, die nicht nur genau, sondern auch leicht anzuwenden und jedermann zugänglich ist: Außerdem ist zu bemerken, daß in einigen Fällen wegen der raschen Untersuchung, die sie gestattet, und bei an Elektrolyten sehr armen Flüssigkeiten die Indikatorenmethode selbst der klassischen Methode der Gasketten überlegen ist.

Verwendung der Indikatorenmethode beim Harn. Indessen stellen sich der Verwendung dieser Methode bei mehreren Flüssigkeiten, darunter auch verschiedenen Körperflüssigkeiten, nicht immer leicht zu überwindende Hindernisse praktischer Art in den Weg, wie z. B. die eigene Farbe der Flüssigkeiten, die auf die Abschätzung der Farbtönung des Indikators störend einwirkt. Dieses Hindernis stellt sich auch der Verwendung der Methode beim Harn entgegen. In diesem Falle wird die Schwierigkeit noch durch den Umstand erhöht, daß der für den Harn am besten passende Indikator das Paranitrophenol ist, das, in sauren Lösungen farblos, allmählich, je mehr man sich der neutralen Reaktion nähert, gelb, ja bei alkalischer Reaktion intensiv gelb wird; auf diese Weise wird die Abschätzung der verschiedenen Farbtönen durch die dem Harn eigene Farbe außerordentlich erschwert. Außer dem Paranitrophenol ist kein anderer Indikator beim Harn verwendbar, weil für alle anderen die Wendezone außerhalb der Grenzen liegt, innerhalb welcher die Reaktion des Harns gewöhnlich schwankt.

Nur Henderson (4) hat beim Harn die Indikatorenmethode verwendet, indem er, um den Einfluß der Farbe des Harns auszuschalten, den letzteren stark (1 : 25) mit Wasser verdünnte. Eine derartige Verdünnung beseitigt aber nicht vollständig die aus der Farbe des Harns sich ergebenden Uebelstände und bleibt andererseits gewiß nicht ohne Einfluß auf die Konzentration der Wasserstoffionen; Henderson gibt auch selbst zu, daß diese um ungefähr ein Viertel vermindert wird. Wenn auch nicht zu leugnen ist, daß in Wirklichkeit die Verdünnung keine sehr beträchtlichen Wirkungen auf die Reaktion des Harns ausüben kann wegen der vorhandenen Salze, die als Puffer wirken, so läßt sich doch nicht annehmen, daß sie bei allen Harnen identisch sind. Die Abnahme der Konzentration der Wasserstoffionen, wie sie Henderson annimmt, kann deshalb nur als ein Mittelwert betrachtet werden. Mithin ist die Methode Hendersons nicht zuverlässig und kann nicht ohne weiteres bei pathologischen Harnen verwendet werden.

Die von Walpole (5) durchgeführte Verwendung der Indikatorenmethode beim Studium der Reaktion von gefärbten Flüssigkeiten, die auf dem Prinzip der Uebereinanderlagerung der Farben beruht, hat uns, auf Anraten von Prof. Bottazzi, veranlaßt, sie beim Harn zu versuchen. Zu diesem Zwecke bedienten wir uns als Standardflüssigkeit des Gemisches von Phosphaten (nach Sörensen) und des in der beistehenden Figur dargestellten Apparates. Letzterer besteht aus einem Holzblock A, der 85 cm lang, 8 cm breit und 7 cm hoch ist. Seine obere Fläche zeigt eine Reihe von Löchern, die in zwei Reihen angeordnet sind, 11 Löcher in der vorderen, 10 in der hinteren Reihe; sie sind so angeordnet, daß jedes Loch der hinteren Reihe sich zwischen zwei Löchern der vorderen befindet. Diese einen Durchmesser von 3,8 cm aufweisenden Löcher durchziehen den Holzblock in seiner ganzen Höhe; aber 2 cm von der unteren Fläche entfernt verengern sie sich plötzlich bis auf einen Durchmesser von 3 cm, sodaß sich ein Vorsprung im Innern des Loches selbst bildet. (Vgl. Schnitt a. b.) Ein anderer Holzblock B, der dem vorigen in allem ganz gleich ist, außer in der Länge, die nur 14 cm beträgt, hat nur drei Löcher, zwei in der vorderen und das dritte, mittlere, in der hinteren Reihe. Der Durchmesser dieser Löcher wird auf nur 0,8 cm vom unteren Rand her verengert. (Vgl. Schnitt a. b.) Der Block A ruht mittels 9 cm hoher Metallfüße auf einer mattweißen Fläche, die an einer gut beleuchteten Stelle angebracht ist. (Es ist eigentlich nicht nötig, daß der Block A elf Löcher hat, er kann deren auch mehr oder weniger haben, aber nie weniger als drei. Bequem ist es jedoch, wenn er deren mindestens neun oder zehn enthält. Warum wir gerade die Zahl 11 gewählt haben, wird man später sehen, wenn wir die von uns zur klinischen Verwendung empfohlene Methode beschreiben werden.)

In die elf Löcher der vorderen Reihe wird eine gewisse Zahl von

Gläsern gebracht, von denen ein jedes 10 ccm eines Gemisches von Phosphaten von verschiedener Reaktion enthält, alle mit demselben Quantum des Indikators; sie werden je nach ihrer Reaktion angeordnet, von der am stärksten alkalischen zu der am stärksten sauren fortschreitend, oder umgekehrt. Diese Gläser aus farblosem Kristall, mit flachem Boden, die einen Durchmesser von 3,5 cm haben und 5 cm hoch sind, dringen vollständig in die Löcher des Blockes ein und stehen auf dem Vorsprung, der sich darin infolge der Verengung ihres Durchmessers bildet. In die Löcher der hinteren Reihe werden zehn den vorigen ganz gleiche Gläser gebracht, von denen jedes 10 ccm Wasser enthält. In den Block B stellt man drei Gläser, von denen ein jedes 10 ccm Harn enthält, und nur das mittlere den Indikator in derselben Menge wie bei den Gemischen von Phosphaten.

Indem man den Block B auf den Block A derart legt, daß die Löcher der beiden Blöcke zusammenfallen und das Licht hindurchtritt, bestimmt man ohne weiteres die durch die Figur dargestellte Lage. Blickt man nämlich durch das hintere mittlere Loch, so geht das Licht durch die Böden der zwei Gläser, durch 10 ccm Wasser und 10 ccm Harn mit dem Indikator; blickt man durch die vorderen seitlichen Löcher, so geht das Licht durch die Böden der zwei Gläser, durch 10 ccm Gemisch von Phosphaten (das an und für sich farblos wie das Wasser ist) mit dem Indikator und 10 ccm Harn. Auf diese Weise wird in jedem Falle das Licht gezwungen, außer durch die Böden von zwei Gläsern (die deshalb einen sehr klaren Boden haben und womöglich alle von derselben Dichte sein müssen), durch 20 ccm Flüssigkeit zu gehen, die stets dieselbe Menge Farbstoff enthält (Indikator + eigentlicher Farbstoff des Harnes): die Unterschiede in der Färbung sind also nur durch die vom Indikator angenommene verschiedene Färbung bedingt. Wenn nun die Reihe von Standardlösungen so bereitet wird, daß in den Grenzen der Reaktion der beiden äußersten Standardlösungen sicher die Reaktion des Harnes enthalten sein muß, so ist es klar, daß, wenn man den Block B über den Block A gleiten läßt, sich eine Lage finden muß, in der die in der Mitte sich befindenden Flüssigkeiten mehr als die Flüssigkeiten auf der linken Seite und weniger als die auf der rechten Seite gefärbt oder auch mit der einen der beiden gleich gefärbt erscheinen. In diesem letzten Falle kann die Reaktion des Harns ohne weiteres mit der des Gemisches von Phosphaten identifiziert werden, mit dessen Farbe er zusammenfällt. Im ersten Falle dagegen muß man zwischen die zwei Gläser, innerhalb welcher der Harn sich hinsichtlich seiner Farbe einordnet, andere mit mittlerer Reaktion einführen, bis sich herausstellt, daß die Farbe eines von ihnen genau der des Harns entspricht, oder wenigstens, daß der Harn sich zwischen zwei Lösungen von Phosphaten mit so benachbarter Reaktion befindet, daß die annähernd gleiche Farbe für hinlänglich erwiesen gehalten wird. Bei unseren Untersuchungen z. B. unterschieden sich die als Standardflüssigkeiten verwendeten Gemische von Phosphaten untereinander derart, daß der Logarithmus der Wasserstoffionen-Konzentration von einem zum andern um 0,1 variierte. Annäherungsweise wurde dann die zweite Dezimalstelle abgeschätzt. Nach dieser Methode haben wir mehrere Harnen untersucht, wobei wir absichtlich einige sehr gefärbte und einige leicht getrübbte aussuchten. In der folgenden Tabelle 1 bringen wir die Resultate, die wir mit der Indikatorenmethode erhielten, neben den mit der Methode der Gasketten erhaltenen, die wir zur Kontrolle anwandten.

Tabelle 1.

Bestimmung der (H⁺) im Harn mit der Methode der Gasketten und mit der Indikatorenmethode.

Nr.	Logarithmus (H ⁺)		(H ⁺) × 10 ⁻⁷		Differenzen zwischen dem durch die Gasketten und dem durch die Indikatoren bestimmten Logarithmus (H ⁺)
	Indikatoren	Gasketten	Indikatoren	Gasketten	
I	6,80	6,71	64	52	- 0,09
II	6,90	6,92	79	82	+ 0,02
III	7,40	7,42	2,5	2,6	+ 0,02
IV	6,60	6,56	39	36	- 0,04
V	6,63	6,47	42	30	- 0,16
VI	6,42	6,26	26	18	- 0,16
VII	6,75	6,71	56	52	+ 0,04
VIII	6,79	6,83	62	68	+ 0,04
IX	8,64	8,65	0,43	0,44	+ 0,01
X	6,04	6,19	1,1	1,5	+ 0,15

Die Kontrolle mittels Messung der elektromotorischen Kraft beweist also, daß die Indikatorenmethode mit dem Kunstgriff der Uebereinanderlagerung der Farben beim Harn mit zufriedenstellendem Resultate verwendet werden kann.

Erläuterungen der praktischen Methode. Nachdem wir uns auf die angegebene Weise davon überzeugt hatten, daß die Indikatorenmethode zur Untersuchung der Harnreaktion verwendet werden könnte, nahmen wir uns vor, die Methode so zu vereinfachen, daß sie in der klinischen und Spitalpraxis leicht durchzuführen ist. In der Praxis sind die

heutzutage noch vorherrschenden Methoden zur Untersuchung der Harnreaktion die der Prüfung mit Lackmuspapier und die der Titrierung. Die erstere gibt nur darüber Aufschluß, ob der Harn sauer oder alkalisch ist, gibt aber keinen Aufschluß über den Grad der Azidität oder Alkaleszenz — sagt also zu wenig. Die zweite, die komplizierter und langwierig ist, gibt gar keine genaue Auskunft bezüglich der Reaktion.

Da nun die Reaktion eines der wichtigsten chemischen Merkmale einer Lösung, insbesondere aber des Harns ist, weil sie z. B. die Beziehung zwischen saurem und basischem Phosphat angibt, so erwarten wir zuversichtlich, daß die hier von uns dargelegte Methode für die klinische Untersuchung von erheblichem Nutzen sein wird, besonders wenn eine reiche Erfahrung ihre Bedeutung nachgewiesen haben wird.

1. Herstellung der Standardflüssigkeiten.

Zur Herstellung der Standardflüssigkeiten muß man eine $\frac{1}{10}$ molekulare Lösung von saurem Kaliphosphat (KH_2PO_4) und eine $\frac{1}{10}$ molekulare Lösung von Aetzkali (KOH) zur Verfügung haben.

Die erste (Lösung A) wird hergestellt, indem man in destilliertem Wasser 13,61 g ganz reines und recht trockenes KH_2PO_4 (es genügt, wenn man es eine Zeitlang im Exsikkator aufbewahrt) bis zum Volumen von 1 Liter auflöst; die zweite (Lösung B) bereitet man auf die gewöhnliche Weise, indem man mittels Titrierung mit starker Säure kontrolliert.

Durch Vermischung der beiden Lösungen A und B mit Wasser in verschiedenen Verhältnissen wurden 11 Standardlösungen mit verschiedener Reaktion bereitet, wie sich aus der folgenden Tabelle (Tabelle 2) ergibt:

Tabelle 2.

Zusammensetzung der Standardlösungen und ihre Konzentration in H⁺.

Standardlös.	100 ccm Lös. A +	0,5 ccm Lös. B +	99,5 ccm H ₂ O	(H ⁺) × 10 ⁷ =
I	id.	1,3 id.	+ 98,7 id.	0,16
II	id.	3,0 id.	+ 97,0 id.	0,32
III	id.	6,3 id.	+ 93,7 id.	0,63
IV	id.	12,1 id.	+ 87,9 id.	1,26
V	id.	20,6 id.	+ 79,4 id.	2,52
VI	id.	32,2 id.	+ 67,8 id.	5,00
VII	id.	50,2 id.	+ 49,8 id.	10,0
VIII	id.	69,4 id.	+ 30,6 id.	20,0
IX	id.	83,5 id.	+ 16,5 id.	40,0
X	id.	92,3 id.	+ 7,7 id.	80,0
XI				160,0

Die so hergestellten elf Lösungen werden in wohl verschlossenen Flaschen aufbewahrt, um im Moment der Untersuchung verwendet zu werden.

2. Herstellung der Indikatorenlösungen und Art ihrer Verwendung.

Bei unseren Untersuchungen verwendeten wir ausschließlich das Paranitrophenol, auch bei alkalischen Harnen; es ist indessen unbestreitbar, daß sich für die letzteren das Neutralrot besser eignet. Deshalb ist es ratsam, beide Indikatoren zur Verfügung zu haben und bei Harnen, die sich bei Verwendung von Lackmuspapier alkalisch oder neutral zeigen, ohne weiteres das Neutralrot zu verwenden.

Die Lösungen der beiden Indikatoren werden auf folgende Weise bereit:

Paranitrophenol 1 g in 60 ccm Alkohol + 940 ccm H₂O

Neutralrot 0,2 g in 500 ccm Alkohol + 500 ccm H₂O.

Bezüglich der dem Harn und den Standardflüssigkeiten zuzusetzenden Menge des Indikators ist es nicht möglich, bestimmte Regeln anzugeben, weil sie von drei Faktoren abhängt: 1. Farbensensibilität des Beobachters, 2. Farbe des Harns, 3. Reaktion des Harns.

Bei unseren Experimenten mit dem Paranitrophenol variierte diese Menge von 3 bis zu 30 Tropfen. Das einzige Kriterium, das bei Bestimmung der Zahl der Tropfen maßgebend sein muß, besteht darin, das Minimum zuzusetzen, das nötig ist, damit die Farbe des Harns sich merklich ändert.

Von Nutzen ist es jedoch, auf folgende Weise zu verfahren: Nachdem man die den Harn enthaltenden Gläser in den Block B gebracht hat, setzt man dem mittleren den Indikator tropfenweise hinzu, bis der Harn eine Farbennuance annimmt, die ihn deutlich von den Harnen zu beiden Seiten unterscheiden läßt. Dieselbe Tropfenzahl setzt man dann den Standardflüssigkeiten hinzu.

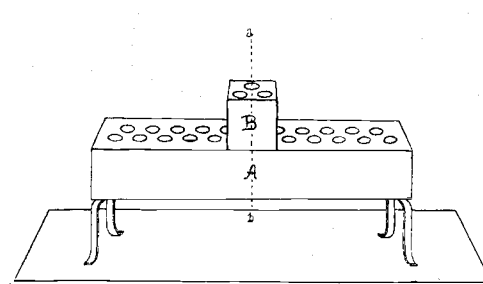
Wenn man mehrere Harnen untersuchen soll und bei allen dieselben Standardflüssigkeiten benützen will, muß man mittels einer vorher, am besten mit Lackmuspapier, vorgenommenen Probe die Harnen von dem sauersten bis zu dem am wenigsten sauern klassifizieren und die Untersuchung bei dem letzteren beginnen, der gewiß die geringste Tropfenzahl des Indikators verlangt.

3. Allgemeine Ausführung der Untersuchung und Berechnung der Konzentration der Wasserstoffionen.

Die Art, wie man bei der Untersuchung verfährt, ist außerordentlich einfach. Nachdem man in die 11 vorderen Löcher des Blockes A

11 Gläser gestellt hat, die ein jedes 10 ccm der 11 Standardlösungen enthalten, in die 10 hinteren Löcher 10 Gläser, ein jedes mit 10 ccm H₂O, und in die 3 Löcher des Blockes B 3 Gläser, ein jedes mit 10 ccm Harn, bestimmt man die Menge des Indikators, die dem Harn und den Standardlösungen zuzusetzen ist, nach den im Vorhergehenden angegebenen Kriterien.

Nachdem dies geschehen ist, legt man den Block B derart auf den Block A, daß der Harn mit dem Indikator über dem Wasser sich befindet und daß der an den beiden seitlichen Löchern enthaltene Harn ohne Indikator über die Standardlösungen mit dem Indikator zu liegen kommt (s. Figur). Indem man den Block B über dem Blocke A verschiebt,



Apparat zur Reaktionsmessung gefärbter und trüber Flüssigkeiten, vermittels der Indikatorenmethode.

bestimmt man, mit welcher Standardlösung der Harn seiner Farbe nach zu identifizieren ist, oder, wenn es nicht möglich ist, ihn mit einer zu identifizieren, bestimmt man die beiden Lösungen, zwischen denen er einzuordnen ist.

In diesem Falle gelingt es ziemlich leicht — da der Abstand in

der Farbennuance zwischen einer Lösung und der folgenden ziemlich ausgeprägt ist — namentlich mit ein wenig Übung, nicht nur abzuschätzen, welcher der beiden Lösungen der Harn sich am meisten nähert,



Schnitt durch a b



Untersuchungsflüssigkeit c ohne Indikator, d mit Indikator, e ohne Indikator.



f Standardlösung mit Indikator, g reines Wasser, h Standardlös. m. Indikator.

sondern, nachdem man die Entfernung zwischen den beiden Lösungen in Gedanken in zehn Teile geteilt hat, den zehnten Teil abzuschätzen. Fassen wir das Gesagte zusammen: die von uns vorgeschlagene Skala der Reaktionen ist in 11 Grade eingeteilt; möglich ist aber die Abschätzung eines Zehntelgrades.

Nachdem dies vorausgegangen ist, wird nach Feststellung der Stufe, die dem Harn gemäß seiner Farbe auf unserer Skala zukommt, die Konzentration der Wasserstoffionen folgendermaßen bestimmt.

Den einzelnen Graden entspricht, wie sich aus Tabelle 2 ergibt, die in der folgenden Tabelle (Tabelle 3) angegebene Konzentration.

Tabelle 3.

Grad der Skala	Dezillionstel g Wasserstoffion pro Liter Harn (d. h. [H ⁺] · 10 ⁻⁷)	Grad der Skala	Dezillionstel g Wasserstoffion pro Liter Harn (d. h. [H ⁺] · 10 ⁻⁷)
I	0,16	VII	10
II	0,32	VIII	20
III	0,63	IX	40
IV	1,26	X	80
V	2,52	XI	160
VI	5		

Für die Berechnung der Zehntelgrade genügt es, die Konzentration der Wasserstoffionen, die dem ganzen Grade entspricht, mit den in Tabelle 4 bezeichneten Faktoren zu multiplizieren.

Tabelle 4.

Ist die abgeschätzte Dezimalstelle 1, so multipliziere man mit	
2, "	1,07
3, "	1,15
4, "	1,23
5, "	1,32
6, "	1,41
7, "	1,51
8, "	1,62
9, "	1,74
10, "	1,86

Folgendes ist ein praktisches Beispiel: Nehmen wir an, der Harn befinde sich seiner Farbe nach zwischen Standardflüssigkeit 4 und 5 und sei nach unserer Abschätzung fast gleichmäßig blässer als 4 und gelber als 5, aber dieser letzteren etwas näher kommend. Als dann werden wir sagen, die Reaktion des Harns entspreche dem Grad 4,6 der Skala. Die Konzentration der Wasserstoffionen in dem zu untersuchenden Harn ist also gleich $1,26 \times 1,51 = 1,90$ Dezillionstel Gramm Wasserstoffion pro 1 Liter Harn.

Es ist endlich von Nutzen zu bemerken, daß für eine Reaktionsbestimmung nach der beschriebenen Methode im allgemeinen 30 ccm Harn (10 für jedes Glas des Blockes B) erforderlich sind; im Notfalle kann aber auch ein geringeres Volumen genügen, vorausgesetzt, daß in diesem Falle auch das Volumen der Standardflüssigkeiten und des

Wassers reduziert wird, da in allen Gläsern das gleiche Volumen Flüssigkeit enthalten sein muß.

4. Gründe für die Annahme dieses Verfahrens.

Wir wollen in Kürze die Gründe anführen, die uns veranlaßt haben, die Methode so festzustellen, wie wir sie im obigen dargelegt haben.

Was die Wahl des Kaliummonophosphats und des Aetzkalis zur Herstellung der Standardlösungen anbelangt, so wurden wir dazu bestimmt durch den Umstand, daß diese Salze sich im Handel im reinen Zustand vorfinden. Will man nämlich die von Sørensen empfohlenen Gemische von Phosphaten (primäres und sekundäres) verwenden, so muß man sich selbst das sekundäre Natriumphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) mittels einer Reihe von Manipulationen herstellen, die nicht immer leicht und ohne Hindernisse auszuführen sind. Die Tabelle 2 ist aus Daten zusammengestellt, die sich aus Messungen ergaben, die wir selbst zu diesem Zwecke gemacht haben.

Ferner haben wir die Zahl der Standardlösungen auf 11 reduziert, weil es uns schien, daß die größte Schwierigkeit, die sich in der Praxis bei Verwendung der Methode ergeben würde, gerade in der allzu großen Zahl von Standardlösungen bestehen würde, über die man verfügen oder die man im Moment der Untersuchung herstellen müßte, indem man die Säure und die Base in verschiedenem Verhältnis miteinander vermischt. Allerdings könnte man in diesem letzteren Falle durch vorausgehende Untersuchungen annähernd die Reaktion feststellen und dann in einer zweiten Sitzung nur die dieser Reaktion zunächst liegenden Standardlösungen bereiten. Aber abgesehen davon, daß dies die Sache stets umständlicher macht, muß man bedenken, daß man häufig verschiedene Harne gleichzeitig untersuchen muß und es nötig sein kann, daß man die ganze Reihe der Standardflüssigkeiten zur Verfügung hat.

Endlich noch einige Worte, um zu erklären, nach welchen Kriterien die Skala der Reaktionen zusammengestellt wurde, und um mithin den einfachen Mechanismus der Berechnung zu erklären. Die Skala ist derart angelegt, daß die Reihe der Logarithmen der Wasserstoffionenkonzentration eine arithmetische Progression zwischen 8,2 und 5,2 darstellt, deren Glied $+0,3$ ist. Die Reihe der absoluten Konzentrationen der Wasserstoffionen stellt deshalb eine geometrische Reihe dar, deren Glied 1,995 ist. Wenn der Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Graden der Skala in 10 Teile geteilt wird, so wird die Reihe der Logarithmen eine arithmetische Reihe bilden, deren Glied $+0,03$ ist, und die Reihe der absoluten Konzentrationen wird eine geometrische Reihe bilden, deren Glied 1,07 ist.

Deshalb repräsentieren die in Tabelle 4 angegebenen Faktoren, mit denen die dem Grad der Skala entsprechende absolute Konzentration multipliziert werden muß, je nach den abgeschätzten Zehntelgraden, die Potenzen (von der ersten bis zur neunten) dieser Glieder.

Ueber einige Messungen, die mit der erwähnten Methode erhalten wurden. Wir bringen endlich in der folgenden Tabelle 5 als Anhang einige Messungen der Harnazidität, die mit der vorhin beschriebenen praktischen Methode ausgeführt wurden und sich auf Harne beziehen, die an verschiedenen Tagen von fünf jungen gesunden Individuen ausgeschieden worden waren.

Tabelle 5.

(H-) in dem mit der Indikatorenmethode untersuchten Harn von verschiedenen gesunden Individuen.

A	B	C	D	E
89	63	16	5	15
5	10	30	57	7,5
60	50	30	55	55
50	6	17	64	22
71	11	40	26	2,5
79	28		62	
79	8,9			
39				
56				
Mittel 58	13	26	45	20

Diese Tabelle ist nun sehr interessant. Wenn man sie in ihrer Gesamtheit betrachtet, sieht man sogleich, daß die Wasserstoffionenkonzentration im Harn sehr beträchtliche Schwankungen zeigt, die in unserem Falle von 2,5 bis zu 89 Dezimillionstel Gramm pro Liter gehen. In dieser Hinsicht ist es vielleicht von Nutzen, an die äußersten Konzentrationen zu erinnern, die von den Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, mit der Methode der Gasketten bestimmt worden sind. Bei den Untersuchungen von v. Rhorer (6) waren die äußersten Werte 4 und 76×10^{-7} , bei denen von Höber (7) 4 und 100×10^{-7} , bei denen von Quagliariello (8) 2 und 82×10^{-7} .

Noch interessanter ist aber, daß diese Schwankungen sich im Harn desselben Individuums zeigen. Beim Individuum A geht ohne irgendeine nennenswerte Ursache, da dieselbe Lebensweise und dieselbe gemischte Kost beibehalten wurden, die Wasserstoffionenkonzentration im Harn von einem Tag zum andern von 89 auf 5, fast von einem Extrem der be-

kannten Werte zum andern über. Durch diese Messung wird also die sehr große Veränderlichkeit der Harnreaktion bei ganz normalen Individuen noch mehr bestätigt; die Schwankungen der Reaktion müssen also für physiologisch und vollkommen mit dem exkretorischen Charakter des Harns vereinbar gehalten werden.

Die Prüfung der Tabelle gestattet aber auch, noch eine andere Ueberlegung anzustellen. Vergleicht man die Werte der Harnazidität der verschiedenen Individuen, so ergibt sich, daß bei einem die sehr hohen Werte, bei anderen die Mittelwerte, bei einem andern endlich die niederen Werte vorherrschen. Wir wollen diesen Punkt nicht sehr betonen, weil wir überzeugt sind, daß wir, um zu konkreten Schlußfolgerungen darüber zu gelangen, unsere Untersuchungen auf eine größere Zahl von Fällen ausdehnen und längere Zeit fortsetzen müssen, um so eher, weil die aus einer derartigen Erscheinung gezogene Schlußfolgerung von außerordentlicher Bedeutung sein würde; wir haben es aber nicht für überflüssig gehalten, die Aufmerksamkeit der Forscher darauf hinzulenken.

Schlußfolgerungen. Durch unsere Untersuchungen beweisen wir die Anwendbarkeit der Indikatorenmethode beim Studium der chemischen Reaktion der gefärbten Flüssigkeiten im allgemeinen und des Harns im besonderen. Wir haben ferner eine praktische Methode für den klinischen Gebrauch beschrieben, die mit großem Nutzen an die Stelle der gewöhnlich in der Praxis verwendeten Methoden der Reagenzpapiere und der Titrierung treten könnte. Die Reihe von Daten über den normalen Harn, die mit dieser Methode zusammengestellt wurden, bestätigt vollkommen die von anderen Autoren mit der Methode der Gasketten gefundenen Angaben, soweit sie sich auf die Grenzen bezieht, innerhalb welcher die Reaktion des Harns schwankt. Diese Bestätigung repräsentiert einen weiteren indirekten Beweis für die Tauglichkeit der Methode; der erste, der direkteste und wichtigste Beweis wird durch Kontrollmessungen geliefert, die mit der elektrometrischen Methode ausgeführt wurden.

Literatur: 1. Zeitschrift für Elektrochemie 1906, Bd. 57, S. 471. — 2. Zeitschrift für Elektrochemie 1904, Bd. 8, S. 113. — 3. Biochemische Zeitschrift 1909, Bd. 21, S. 131. — 4. Biochemische Zeitschrift 1910, Bd. 24, S. 40. — 5. Biochemical Journal 1910, Bd. 5, S. 207. — 6. Pflügers Archiv 1901, Bd. 86, S. 586. — 7. Hofmeisters Beiträge, 1903, Bd. 3, S. 525. — 8. Sulla reazione chimica dell'urina — Nota VIII — Rendiconti della R. A. dei Lincei 1911.