

find wenigstens in vielen Fällen die Bewegung der um eine grüne Zelle (*Euglena*, *Navicula* z. B.) oder ein isolirtes Chlorophyllkorn (*Hydra viridis* u. a.) angesammelten und durch kurzdauernde Beschattung völlig zu Ruhe gekommenen Bakterien scheinbar gleichzeitig mit dem Einfallen hellen Lichtes in grosser Lebhaftigkeit wieder an. Und in solchen Fällen stand sie auch nach plötzlicher Beschattung nicht selten augenblicklich oder doch innerhalb kaum einer Sekunde still.

---

(Aus dem Bonner physiologischen Laboratorium.)

## Zweiter kritischer Beitrag zur Titration des Harnstoffs.

(Eine Antwort an das physiologische Laboratorium in München.)

Von

**E. Pflüger.**

---

Dr. Max Gruber hat soeben in einer aus Voit's Laboratorium hervorgegangenen Untersuchung <sup>1)</sup> die Grösse der Beobachtungsfehler verschiedener Titrationsmethoden des Harnstoffs verglichen und die Behauptung aufgestellt, dass meine Methode

---

1) Der Titel ist: „Liebig's Methode der Harnstofftitrirung und ihre Modificationen. (Zur Abwehr gegen die Angriffe von Prof. E. Pflüger in Bonn.)“— Band 17 (1881).— Das betreffende Heft ist hier in Bonn (Pfungsten) noch nicht im Buchhandel. Ich muss deshalb die Paginirung des mir von München geschickten Separatabdrucks bei der Citation benutzen.

schlechter als die anderen sei. — Wenn ich heute von der von ihm auch besprochenen Methode Neubauer's absehe, die Gruber selbst nicht als sehr genau bezeichnet, so handelt es sich bei ihm nur um die Vergleichung zweier Methoden. Diese beiden sind nun principiell zwei von Gruber erfundene, verschlechterte Modificationen **meiner** Methode. Nachdem er sich dann überzeugt zu haben glaubt, dass die eine von ihm beliebte Modification meiner Methode weniger genaue Resultate, als die andere gebe, nannte er jene die Pflüger'sche, diese — und zwar ohne jede Berechtigung — die Hoppe-Seyler'sche oder auch die Voit'sche. Das klingt zwar ungläublich, ist aber wirklich so:

I. Gruber hat bei der auf mich getauften Methode mit Mercurinitratlösung gearbeitet, die überschüssige Salpetersäure enthielt. Ich sagte ausdrücklich<sup>1)</sup>: „Nur für solche neutrale Lösungen (sc. „von Mercurinitrat) gelten meine Regeln. Dass bei Gegenwart „grösserer Mengen freier Salpetersäure neue Complicationen ein„treten, ist mir sehr wahrscheinlich.“ — Ich gab an, dass bei Titrirung von 10 ccm 2<sup>o</sup>/<sub>o</sub>iger Harnstofflösung zur Neutralisation nur **11,4** ccm Normalsodalösung nöthig seien. Gruber gebraucht aber **14,2** ccm<sup>2)</sup>.

Meine Methode kann nicht verantwortlich sein für Resultate, die nicht nach ihr, sondern nur nach einer Modification derselben erhalten sind. — Vielleicht liegen die erhaltenen Abweichungen aber auch nur an ungenauem Arbeiten.

II. Gruber preist nun eine andere Modification meiner Methode, die er Hoppe-Seyler oder auch Voit zuschreibt, als vorzüglich. — Ich aber, und nicht Hoppe-Seyler und nicht Voit, habe entdeckt, dass ein und dasselbe Quantum gelösten Harnstoffs durch **sehr verschiedene** Mengen **derselben** Quecksilberlösung und nachfolgende Neutralisation **ausgefällt**<sup>3)</sup> werden kann. Ich und kein Anderer zeigte, dass das Resultat abhängt von der Berücksichtigung gewisser zeitlicher Verhältnisse bei Ausführung

---

1) Dieses Archiv, Bd. XXI, p. 279.

2) Zeitschr. f. Biol. 1881. Sep.-Abd. Grubers, p. 14.

3) Ich habe die Filtrate von den verschiedenen Niederschlägen analysirt. Sie enthalten keine sicher bestimmbare Menge von Harnstoff mehr.

der Neutralisation. — Demnach besteht das Wesentliche meiner Methode darin, dass man

a) durch Vorversuche unter den verschiedenen möglichen Volumina gerade **dasjenige** Volum der titrirten Quecksilberlösung ermittelt, welches allen gelösten Harnstoff **unter der Bedingung** ausfällt, dass dieses Volum zuerst **fast vollständig** und in **Einem Zuge** zu der Harnstofflösung gesetzt und **erst darauf** — am besten wieder in **Einem Zuge** — neutralisirt wird; — dass

b) Sodalösung von immer derselben Concentration in Anwendung kommt.

Von dem Princip a) findet sich in Hoppe-Seyler's<sup>1)</sup> Vorschriften keine Spur: er verlangt keinen Vorversuch; durch alternirenden Zusatz von Quecksilber- und Sodalösung, nicht durch einmalige Neutralisation findet man nach ihm direct den richtigen Werth für den Harnstoff. Was er als definitive Titration des Harnstoffs beschreibt, ist nur mein Vorversuch. Wäre ihm Princip a) bekannt gewesen, so hätte er angeben müssen, dass, weil der nach seiner Vorschrift ausgeführte Versuch einen zu kleinen Werth liefere, nun ein zweiter, eventuell ein dritter gemacht werden müsse. Gruber behauptet frischweg, dass nach Hoppe-Seyler „so lange“ die Titrationen zu wiederholen sind, „bis die Endreaction durch späteres Neutralisiren nicht weiter hinausgeschoben werden kann“. Von dieser durch mich gefundenen Cautele ist, wie gesagt, bei Hoppe-Seyler keine Spur zu finden; ja es geht aus seiner Darstellung hervor, dass sie ihm unbekannt ist.

Die von Gruber als Methode Hoppe-Seyler's resp. Voit's bezeichnete ist also meine Methode mit der Modification, dass statt Normalsodalösung „concentrirte“ zur Neutralisation angewendet wird, selbstverständlich mit entsprechender Aenderung des von der Concentration der Sodalösung abhängigen Correctioncoefficients. Hoppe-Seyler selbst spricht stets nur von „Sodalösung“, legt also auf deren Procentgehalt kein Gewicht.

III. In seinem vorletzten, in Voit's Zeitschrift publicirten, aus Voit's Laboratorium stammenden, gegen mich gerichteten Aufsätze<sup>2)</sup> gab Gruber genauer die Methoden an, wie „von jeher“

1) Hoppe-Seyler, Handbuch d. physiol. u. pathol. chem. Analyse. 1875, p. 314.

2) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 198.

von Voit und seinen Schülern der Harnstoff titrirt worden sei, wobei er besonders die stets befolgte Neutralisation hervorhob. Nachdem ich in meiner Entgegnung<sup>1)</sup> nun gezeigt, mit wie grossen Fehlern die von Gruber genauer beschriebene Voit'sche Methode der Titration des Harnstoffs behaftet sei, widerruft Gruber in seiner letzten Polemik<sup>2)</sup> seine Angabe rundweg und behauptet, er sei im Irrthum gewesen. Denn Voit habe bis zum Jahre 1870, d. h. also bei der Ausführung seiner wichtigsten Untersuchungen **niemals** neutralisirt. Zur Ehre Voit's muss ich annehmen, dass er von der in seinem Interesse in seinem Laboratorium ausgeführten Arbeit Gruber's Nichts gewusst, und sie in seiner Zeitschrift publicirt hat, ohne sie gelesen zu haben.

Nach Gruber soll bei der Liebig'schen Titration überhaupt nicht neutralisirt werden. Liebig<sup>3)</sup> aber sagt:

„Um zu erkennen, ob man die richtige, zur Hervorbringung der Verbindung des Harnstoffs mit 4 Atomen Quecksilberoxyd nöthige Menge des Quecksilbersalzes zugesetzt hat, ist nach dem Zusatz desselben zur harnstoffhaltigen Flüssigkeit die Neutralisation mit kohlensaurem Natron nothwendig“.

Er wiederholt dies nochmals<sup>4)</sup> ausführlicher, und nur unter dieser Voraussetzung ist seine Angabe über den Quecksilbergehalt seiner titrirten Lösung richtig.

Gruber<sup>5)</sup> sagt trotzdem: „Andererseits kann es aber nicht dem geringsten Zweifel unterliegen, dass Liebig weder bei der Titrestellung, noch bei der Harntitrirung die Gesamttlüssigkeit neutralisirte“.

Gruber hat ein kurzes Gedächtniss; denn ganz kurze Zeit vorher schrieb er<sup>6)</sup> gegen Nowak:

„Die Bestimmungen Nowak's beweisen aber Nichts gegen „die Liebig'sche Methode, da er die **ausdrückliche Angabe Liebig's, dass man die Flüssigkeit neutralisiren müsse, vernachlässigt hat**“.

---

1) Dieses Archiv, Bd. XXIII, p. 127.

2) Zeitschr. f. Biol. 1881.

3) Ann. Ch. Pharm., Bd. 85, p. 314.

4) Annal. Chem. Pharm., Bd. 85, p. 313.

5) Zeitschr. f. Biol. 1881. Sep.-Abdr. Gruber, p. 19 (Bd. XVII).

6) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 403.

IV. Gruber ereifert sich darüber, dass ich Untersuchungen in Aussicht stellte, um den aus der correcten „Harnstofftitration“ im Harn gefundenen Stickstoff zu vergleichen mit dem durch Verbrennung des Harns ermittelten. Denn dies sei durch ihn, resp. das Voit'sche Laboratorium längst erledigt. Für mich ist es aus folgenden Gründen nicht erledigt:

a) Nachdem meine Methode der Harnstofftitration bekannt geworden war, zeigte es sich sofort, dass die Hunde in Voit's Laboratorium aus demselben Fleischquantum 6% mehr Harnstoff bereiteten, als früher, wie Gruber<sup>1)</sup> selbst berichtet. Da nun nach Voit aller Stickstoff des Fleisches beim Hunde fast genau dem aus der Liebig'schen Harnstofftitration berechneten Stickstoff entspricht, so fragte es sich, wo jetzt plötzlich der durch die Fleischnahrung — bei Zugrundelegung des bisher angenommenen Procentgehaltes des Fleisches an Stickstoff — nicht erklärbare Stickstoff herkomme.

Gruber beginnt also wieder die Elementaranalysen des trocknen Fleisches, und findet nun<sup>2)</sup> einen Stickstoffgehalt von 15,04%, während Voit früher im Mittel 14,11% gefunden. „Beide Mittel differiren also“, sagt Gruber<sup>3)</sup> selbst, „um ca. 6,2% des Gesamtstickstoffes“. Diese Differenz, welche die Stickstoffbilanz wieder stimmend macht, rührt nach Gruber daher, dass jetzt das Fleisch in München anders zur Analyse präparirt wird. — Voit hatte übrigens auch früher den Stickstoffgehalt seines Fleisches im Mittel höher gefunden, aber zur Harmonisirung der Bilanz trotzdem willkürlich niedriger in der Einnahme verrechnet<sup>4)</sup>.

b) Gruber<sup>5)</sup> hat vor Kurzem an einer Reihe von Hunden den Nachweis liefern wollen, dass aller Stickstoff der Nahrung in Harn und Fäces wiedererscheine. Obwohl er bei allen Hunden ausser Einem ein Stickstoffdeficit beobachtet<sup>6)</sup>, und obwohl bei diesem einen Hunde von ca. 17,5 kg am Ende des nur kurze Zeit dauernden Versuchs eine Abnahme des Körpergewichts um 940 grm,

1) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 408.

2) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 403.

3) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 403.

4) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 408.

5) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 367.

6) a. a. o. p. 400.

deren Ursache unbekannt ist, constatirt wird<sup>1)</sup>, behauptet Gruber bewiesen zu haben, dass aller Stickstoff der Nahrung im Harn und Faeces wiedererscheine.

Es handelt sich hier nur um die Methoden der Münchener Beweisführung: denn ich selbst habe mit Colasanti, Finkler und Oertmann keine Stickstoffexhalation bei Meerschweinchen constatiren können. Gerade diese Versuche und Gasanalysen habe ich selbst persönlich controlirt bis in die kleinsten Details. Doch gebe ich zu, dass ihre Zahl und Ausdehnung zu klein ist, um entscheidend zu sein.

c) Gruber<sup>2)</sup> sagt allgemein bei Besprechung seiner nach Dumas ausgeführten Elementaranalysen organischer stickstoffhaltiger Körper, was für alle Chemiker gewiss interessant sein wird:

„Eine einzige richtig ausgeführte Analyse lehrt „den Stickstoffgehalt auf hundertel Procent genau „kennen“.

Dieses und sehr vieles Andere, dessen Besprechung umsomehr hier zu weit führen würde, als ich schon anderweit<sup>3)</sup> theils ausführlich, theils skizzirend darüber berichtet habe, nimmt mir das Vertrauen zu den meisten Früchten des Voit'schen Laboratoriums.

---

Nachdem ich die wesentlichsten Punkte des Gruber'schen Angriffs beleuchtet habe, will ich zum Nachweise, dass auch nicht der kleinste Punkt eine Berechtigung hat, die Geduld des Lesers um so weniger länger in Anspruch nehmen, als ich auf die principiellen, die Harnstofftitration betreffenden Fragen demnächst doch eingehender zurückkommen muss.

Diese wenigen Zeilen werden genügen, den Charakter der unter Voit's Auspicien sich entwickelnden Arbeiten jedem Sachverständigen klar zu machen.

In der That sieht Jeder den eigentlichen Zweck des letzten Gruber'schen Angriffs:

---

1) a. a. O. p. 398.

2) Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, p. 370.

3) z. B. dieses Arch. Bd. XIV, p. 1, 38, 630, besonders aber dieses Archiv Bd. XVIII, p. 382, 383, 384.

**Um in Voit's Laboratorium bei genauen Bestimmungen nach meiner Methode arbeiten und mich gleichzeitig ignoriren zu können, wird zur Neutralisation statt Sodalösung der von mir angewandten eine solche von anderer Concentration gebraucht und die Methode auf den Namen von Hoppe-Seyler oder auch von Voit getauft, obwohl diese Forscher die Stärke der Sodalösung nie berücksichtigt haben.**

---