

Experimentelle Beiträge zur quantitativen Oxalsäurebestimmung im Harn.

Von

Dr. Otto Nickel,

Assistenzarzt im 2. Ostpr. Gren.-Regt. Nr. 3.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 26. November 1886.)

Der Erste, der — abweichend von früheren Forschern, welche sich auf mikroskopische Untersuchungen beschränkten -- quantitative Bestimmungen der Oxalsäure im Harn durch Wägung ausführte, war Buchheim¹⁾. Seine Methode war folgende: Der zu untersuchende Harn wurde mit Ammoniak neutralisirt, dann auf $\frac{1}{6}$ Volumen eingedampft, mit starker Essigsäure angesäuert und mit Chlorcalciumlösung versetzt. Der erhaltene Niederschlag wurde nach mehrtägigem Stehen auf ein kleines Filter gebracht, zwischen Papier abgepresst, in Salzsäure gelöst, von der vorhandenen Harnsäure abfiltrirt, mit Ammoniak neutralisirt und wieder mit Essigsäure angesäuert. Der ausgeschiedene oxalsaure Kalk wurde abfiltrirt, bei 120 Grad getrocknet und gewogen. Von 1 gr. dem Harn von 24 Stunden zugesetzter Oxalsäure fand Buchheim 0,93 gr. wieder. Es gingen hier also 7 cgr. Oxalsäure von der in den Harn hineingethanen verloren, ausserdem die ganze etwa im Harn bereits vorhandene Oxalsäure, deren Grösse

¹⁾ Buchheim und Piotrowski, Archiv f. physiol. Heilkunde 1857, S. 124. — In Beziehung auf die ältere Litteratur verweist Verfasser auf seine in Berlin 1886 erschienene Inaugural-Dissertation, sowie auf die Arbeiten von Benecke.

wir ja nicht kennen. Auerbach¹⁾, welcher diese Methode später nachgeprüft hat, fand in zwei Versuchen von 0,1 gr. Oxalsäure, die er dem Harn zusetzte, 0,0441 und 0,0522 wieder.

1868 beschrieb Schultzen²⁾ ein Verfahren zur quantitativen Oxalsäurebestimmung: Man macht frisch entleerten Harn mit etwas Ammoniak schwach alkalisch, fügt etwas mehr Chlorcalcium hinzu, als zur vollständigen Fällung der Phosphorsäure erforderlich ist, und verdunstet ohne zu filtriren auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen. Nach Zusatz von starkem Weingeist und 12stündigem Stehen wird filtrirt und so lange mit Weingeist gewaschen, bis das Filtrat farblos und frei von gelösten Substanzen abläuft. Durch Waschen mit Aether entfernt man eine Spur Fett und den Alkohol im Rückstand, worauf derselbe durch gelindes Erwärmen leicht als gelbliches, trockenes Pulver erhalten wird, welches fast nur aus schwefelsauren und harnsauren Alkalien, phosphorsaurem und oxalsaurem Kalk besteht. Wasser nimmt daraus die schwefelsauren Alkalien, verdünnte Essigsäure den phosphorsauren Kalk auf. Dem Rückstand entzieht man den oxalsauren Kalk durch Salzsäure und fällt denselben aus der Lösung durch Ammoniak und Essigsäure. Diesen Niederschlag kann man dann abfiltriren, waschen, trocknen, glühen und als Aetzkalk wägen.

Wesentlich einfacher lautet Neubauer's³⁾ Vorschrift: Den zu prüfenden Urin (4–600 cbm.) versetzt man mit Chlorcalciumlösung, übersättigt mit Ammon und löst den entstandenen Niederschlag in Essigsäure, wobei man einen Ueberschuss möglichst vermeidet. Nach 24 Stunden bringt man den entstandenen Niederschlag, in welchem Harnsäure selten fehlen wird, auf ein kleines Filter, wäscht mit Wasser und übergießt ihn darauf mit einigen Tropfen Salzsäure. Etwa vorhandenes Calciumoxalat löst sich auf. Die Harnsäure bleibt

1) Virchow's Archiv, Bd. 77, S. 226.

2) Archiv für Anatomie und Physiologie, 1868, S. 719.

3) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. VIII, S. 66.

auf dem Filter zurück. Das Filtrat verdünnt man in einem Probirröhrchen mit 15 cbcm. Wasser und überschichtet es mittelst einer Pipette höchst vorsichtig mit sehr verdünntem Ammon in genügender Menge. In der Ruhe mischen sich die Flüssigkeiten allmählich; nach 24 Stunden wird sich alles vorhandene Calciumoxalat am Boden angesammelt haben und unter dem Mikroskop die schönsten Quadratoktaeder zeigen. Man bringt es auf ein kleines Filter von bekanntem Aschengehalt, wäscht es aus, trocknet und führt durch starkes Glühen den oxalsauren Kalk in Aetzkalk über. Die gefundene Menge Aetzkalk giebt multiplicirt mit 1,6071 die entsprechende Menge Oxalsäure.

Hoppe-Seyler¹⁾ weicht bei der Beschreibung dieses Verfahrens in seinem Handbuche der chemischen Analyse von der ursprünglichen Vorschrift etwas ab. Nach Hoppe-Seyler soll man den ersten durch Chlorcalcium und Ammoniak im Harn entstandenen Niederschlag abfiltriren und dann den Filtrerrückstand mit Essigsäure behandeln u. s. w., was a priori unzweifelhaft eine Verbesserung ist.

1866 bestimmte Mosler²⁾ in einem Falle von lienaler Leukämie die Oxalsäureausscheidung nach einer Methode, welche 1853 Heintze für den chemischen Nachweis der Oxalsäure im Harn empfohlen hatte: Der Harn wurde mit Salzsäure versetzt, nach 24 Stunden filtrirt; das Filtrat wurde mit Chlorcalcium versetzt, mit Ammoniak neutralisirt und mit Essigsäure angesäuert. Senator³⁾ machte 1868 darauf aufmerksam, dass bei dem angegebenen Verfahren nothwendiger Weise schwefelsaurer Kalk mit ausfallen müsse. Spätere Autoren bezogen diesen Vorwurf Senator's fälschlicher Weise auf die Schultzen'sche Methode, welche dadurch in Misscredit kam, allein mit Unrecht; denn das Verfahren von Mosler entsprach nicht der Schultzen'schen Methode. Es fehlte hier das Abdampfen, der Alkoholzusatz,

1) Handbuch der physiol. u. pathologisch-chemischen Anatomie, V. Aufl., S. 381.

2) Virchow's Archiv, Bd. 37, S. 45.

3) Virchow's Archiv, Bd. 42, S. 4.

das Lösen in Salzsäure, das nochmalige Ausfällen u. s. w. Das Verfahren Mosler's kommt also eigentlich dem Neubauer'schen näher als dem Schultzen'schen.

Auf Grund der vorhin erwähnten Bemerkung Senator's schliesst Fürbringer ¹⁾ in seiner eingehenden Arbeit die Schultzen'sche Methode von vornherein bei seinen Versuchen aus, so «rationell dieselbe erscheint», und beschränkt sich mit einer gewissen Voreingenommenheit auf die Methode von Neubauer. Um die Genauigkeit dieser letzteren Methode zu prüfen, stellte Fürbringer zwei Vorversuche an. 1. Er setzte zu 1 Liter destillirten Wassers 10 mgr. Oxalsäure, dann Chlorecalcium und Essigsäure. Es wurden hieraus 8,0—9,5 mgr. Oxalsäure nach Neubauer wiedererhalten. 2. Um zu entscheiden, ob aller vorhandener oxalsaurer Kalk nach dem angegebenen Verfahren ausgefällt wurde, stellte Fürbringer einen «künstlichen Harn» dar. In 1 Liter Wasser wurde saures phosphorsaures Natron, Kochsalz, Harnstoff und Harnsäure ungefähr in den der Norm entsprechenden Mengen gelöst. Hierzu wurden 10 mgr. Calciumoxalat gesetzt. Die Flüssigkeit wurde längere Zeit bei Körpertemperatur gehalten und nach dem Erkalten wie Harn behandelt. Es trat hier ein durchschnittlicher Verlust von etwa 15 % ein. Dieser Verlust ist gewiss sehr gering. Allein ich glaube, diese Versuche haben nur eine beschränkte Beweiskraft. Dieser «künstliche Harn» ist eben kein Harn, sondern nur eine Mischung einzelner weniger der im Harn vorkommenden Substanzen. Wenn nun auch speciell diejenigen Stoffe in die Mischung aufgenommen sind, welche zu der Auflösung der Oxalsäure in Beziehung stehen, so sind unsere Kenntnisse über diesen Punkt doch noch nicht abgeschlossen. Und dann fehlen vor Allem Stoffe, die bei der Ausfällung der Oxalsäure von Bedeutung sind, so die Erdphosphate, welche, wie wir später sehen werden, bei der Oxalsäurebestimmung sehr störend wirken, ferner die schwefelsauren Salze. Auf die Resultate

¹⁾ Fürbringer, Zur Oxalsäureausscheidung durch den Harn. Leipzig, 1878.

der Arbeiten Fürbringer's wollen wir hier nicht eingehen. Seit Fürbringer ist die Neubauer'sche Methode allgemein acceptirt, so dass von der Schultzen'schen kaum noch die Rede ist. Alle neueren Untersuchungen sind nach ersterer Methode gemacht. So bestimmte A. Fränkel¹⁾ die Oxalsäureausscheidung in einem Vergiftungsfall nach diesem Verfahren, jedoch mit der Modifikation, dass er den Niederschlag der essigsäuren Lösung wiederholt in Salzsäure löste, mit Ammoniak neutralisirte und mit Essigsäure ansäuerte, «weil die mit dem Calciumoxalat niedergefallenen Phosphate sich selbst bei starker Ansäuerung mit Essigsäure nur unvollkommen wieder lösen». Hammerbacher²⁾ bediente sich ebenfalls der Methode Neubauer's; doch liess er den Niederschlag von Calciumoxalat 3 Tage stehen, ehe er filtrirte, da bei kürzeren Zeiträumen wiederholt «in dem bei Seite gestellten Filtrat eine nicht unbedeutende Menge sehr schöner grosser Oktaëder von Calciumoxalat sich ausgeschieden hatten».

Von Czapek³⁾ wurde die Methode Neubauer's soweit verbessert, dass er bei seinen Versuchen, welche im Wesentlichen den Fürbringer'schen Controllversuchen entsprechen, nur ein Deficit von 2,5 % hatte. Die Verbesserungen Czapek's laufen im Wesentlichen darauf hinaus, dass er den Säurezusatz durch vorher zugefügte Lakmustinctur genau controllirt, um jeden Ueberschuss freier Säure zu vermeiden.

Während Huppert (1881) in seiner «Anleitung zur Analyse des Harns» die Schultzen'sche Methode gar nicht mehr anführt, ist sie in den Lehrbüchern von Löbisch und von Leube und Salkowski beschrieben. Löbisch giebt sogar eine Erweiterung der Schultzen'schen Methode an, indem er bei Verunreinigungen des Oxalsäureniederschlags Titiren desselben mittelst Chamäleonlösung empfiehlt. E. Salkowski beschreibt beide in Rede stehende Verfahren, lässt die Frage aber unentschieden, ob die grösseren Werthe nach

1) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 2, Heft 3.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 33, S. 89.

3) Prager Zeitschrift für Heilkunde, Bd. 2, S. 345.

Schultzen oder die kleineren nach Neubauer die richtigen sind; «ob das Plus (bei Ersterem) auf einer Verunreinigung des oxalsauren Kalks beruht oder auf einer vollständigeren Ausfällung, ist noch zweifelhaft».

E. Salkowski veranlasste Wesley Mills ¹⁾ (aus Montreal), sich mit der Oxalsäureausscheidung näher zu beschäftigen. Derselbe stellte zunächst 4 Parallelversuche mit menschlichem Harn nach beiden genannten Methoden an. Die Resultate zeigten bedeutende Unterschiede, so besonders in einem Falle, wo nach Neubauer eine Spur, nach Schultzen 0,0209 gr. Oxalsäure gefunden wurden. Von der Methode des Letzteren wich Mills insofern ab, als er das Auswaschen des ersten Niederschlages mit Essigsäure als «unnöthig und zeitraubend» unterliess. Bei der Prüfung auf Verunreinigungen liess sich öfters, wenn auch in minimalen Spuren, Phosphorsäure nachweisen, ebenso auch bisweilen Schwefelsäure. Beim Hundeharn waren die Verunreinigungen nach einmaliger Lösung in Salzsäure so bedeutend, dass er hierbei das Waschen mit Essigsäure und zwar mit grossen Quantitäten wieder aufnahm und ferner wiederholt in Salzsäure löste, wie dies früher schon A. Fränkel beim menschlichen Harn gethan hatte.

Auf Veranlassung des Herrn Professor E. Salkowski nahm Verfasser dieser Arbeit die von Mills begonnenen, aber abgebrochenen Untersuchungen wieder auf. Nach den Resultaten von Mills schien die Schultzen'sche Methode durchaus geeignet zu weiteren Versuchen. Es war daher geplant, zunächst nach dieser Methode mehrere Oxalsäurebestimmungen physiologischer Harne anzustellen, dann durch Stoffwechselversuche den Einfluss der Nahrung, den Mills schon theilweise eruiert hatte, sowie den verschiedener Medikamente festzustellen, worüber noch viele Controversen bestehen. Schliesslich sollte die pathologische Oxalurie, die Vermehrung resp. Verminderung der Oxalsäureausscheidung bei den verschiedenen Krankheitsprocessen näher untersucht werden. Leider liessen sich durch den weiteren Verlauf der Arbeiten diese Absichten nicht realisiren.

¹⁾ Virchow's Archiv, Bd. 99, S. 305.

Um sich nicht dem Vorwurfe der Einseitigkeit und Voreingenommenheit auszusetzen, stellte Verfasser meist doppelte Versuchsreihen nach beiden in Betracht kommenden Methoden an.

Nach einigen Vorversuchen zur Uebung der Methoden machte Verfasser sich an die Lösung der ersten der gestellten Aufgaben. Um einen Maassstab für die Oxalsäureausscheidung im gesunden Zustande zu haben, untersuchte er den eigenen Harn. Verfasser war zur Zeit der Untersuchungen gesund. Die Diät war eine gemischte. Die 24stündige Harnmenge wurde genau gesammelt und je 500 cbcm. nach Schultzen und Neubauer verarbeitet:

A. 500 cbcm. Harn wurden mit Ammoniak und Chlorcalcium versetzt, bis keine weitere Fällung eintrat, auf dem Wasserbade bis auf ein geringes Volumen eingedampft, mit 250 cbcm. Alkohol (von 95 %) versetzt, nach 2 Tagen filtrirt, der Rückstand wurde mit Alkohol, Aether, Wasser — in einem Theile der Versuche auch mit Essigsäure s. u. — gewaschen, in erwärmter Salzsäure durch wiederholtes Aufgiessen gelöst und mit wenig Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht, der entstandene Niederschlag in Eisessig (um ein möglichst geringes Flüssigkeitsvolumen zu haben) gelöst. Nach 2 Tagen wurde der entstandene Niederschlag auf einem kleinen Filter gesammelt, bis zum Verschwinden der Chlorreaktion mit Wasser gewaschen, getrocknet, stark geglüht und gewogen.

B. 500 cbcm. Harn wurden mit einer reichlichen Menge Chlorecalcium versetzt, mit Ammoniak alkalisch gemacht. Zu dem entstandenen Niederschlage wurde so viel Essigsäure zugesetzt, dass er sich gerade löste und die Flüssigkeit schwach sauer war. Der Harn wurde meist mehrere Tage¹⁾ stehen

¹⁾ Es war dies durch die beschränkte Arbeitszeit des Verfassers bedingt, der nur einen Theil seiner Zeit diesen Untersuchungen widmen konnte. Eine Zersetzung des Harns trat im Durchschnitt nicht ein, wohl in Folge der Kälte der Winterzeit, in welcher diese Versuche angestellt wurden. Es wurde daher von dem anfangs dazu verwendeten Zusatz alkoholischer Thymollösung bald als unnöthig Abstand genommen.

gelassen, der entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, in erwärmter Salzsäure gelöst und genau wie oben angegeben weiter behandelt.

In Bezug auf die Technik der Ausführung hebe ich noch hervor, dass die veraschten Filter aus feinstem schwedischem Filterpapier bestanden und vorher noch mit Salzsäure extrahirt und dann mit Wasser nachgewaschen wurden.

Die Resultate meiner Versuche ergibt nachstehende Tabelle. Die Zahlenwerthe bedeuten mgr.

Nr.	Tägliche Harnmenge in ccm.	A. S c h u l t z e n .			B. N e u b a u e r .		
		In 500 ccm. Harn Aetzkalk.	Oxalsäure.	Oxalsäure pro die.	In 500 ccm. Harn Aetzkalk.	Oxalsäure.	Oxalsäure pro die.
1.	1415	4,5 mgr.	7,2 mgr.	20,4 mgr.	Spur.	—	—
2.	1365	1,0 »	1,6 »	4,4 »	?	?	?
3.	1220	4,0 »	6,4 »	15,6 »	Verschüttet	—	—
4.	1100	2,5 »	4,0 »	8,8 »	3,5 mgr.	5,6 mgr.	12,3 mgr.
5.	1355	2,0 »	3,2 »	8,7 »	3,0 »	4,8 »	13,0 »
6.	1240	5,0 »	9,5 »	19,0 »	2,0 »	3,2 »	7,9 »

Wenn auch die Zahl der vorstehenden Versuche nicht gross ist, so ergeben sich doch einige praktische Gesichtspunkte daraus. Vor Allem fällt die grosse Ungleichheit der erhaltenen Werthe auf, die durch die allerdings gemischte, aber im Ganzen doch ziemlich gleichmässige Diät wohl kaum zu erklären sein dürfte. Als Erklärung hierfür ergeben die Versuchsprotokolle geringe Modifikationen des Verfahrens. Betrachten wir zunächst die Resultate der Schultzen'schen Methode (Column A), so fällt hier der geringe Zahlenwerth des 2. Versuchstages auf = 1,0 mgr. Aetzkalk. Da der aus der essigsauren Lösung ausgeschiedene Niederschlag in diesem Falle reichlich Calciumphosphat enthielt (in Folge zu geringen Essigsäurezusatzes), so wurde er nochmals in Salzsäure gelöst, mit Ammoniak ausgefällt u. s. w. Würde durch dies Verfahren der oxalsaure Kalk quantitativ ausgefällt, so könnte bei Wiederholung desselben nicht ein so grosser Verlust ent-

stehen. — Bei den letzten drei Versuchen nach Schultzen (Nr. 4 - 6) wurde der erste Niederschlag der Alkoholfällung mit Essigsäure gewaschen, was in den ersten drei Fällen nicht geschah. Die Werthe nach dem Waschen mit Essigsäure sind im Allgemeinen kleiner als die ohne diese Manipulation gewonnenen.

Bei den Versuchen nach dem Verfahren Neubauer's (B) wurde in Nr. 1 nach 24 Stunden der erste Niederschlag abfiltrirt, in den anderen Fällen Nr. 4—6 nach etwa 8 Tagen. Der Unterschied der Werthe ist eklatant.

Beim Vergleich der Versuchsreihen A und B sieht man, dass in zwei Fällen (Nr. 4 und 5) die nach Neubauer gewonnenen Werthe grösser sind, als die nach Schultzen.

In jedem Falle wurde der gewogene Aetzkalk in Salzsäure gelöst und mit molybdänsaurem Ammonium auf Phosphorsäure und mit Chlorbaryum auf Schwefelsäure geprüft. Phosphorsäure konnte nie nachgewiesen werden, Schwefelsäure nur in dem Versuch A 3 in Form einer minimalen Trübung.

Die gewonnenen Resultate und die sich daran anknüpfenden Betrachtungen waren nicht geeignet, einer der beiden angewandten Methoden ein blindes Vertrauen entgegenzubringen, sie forderten vielmehr unwillkürlich zu einer Neuprüfung über den Werth beider Methoden auf, der sich der Verfasser dann auch unterzog, so ungern er sich auch von dem vorgestreckten Ziele entfernte. Verfasser hielt es für richtiger, sich erst über den Werth der quantitativen Bestimmungsmethoden klar zu werden, als in der Verfolgung von Stoffwechselversuchen ein vielleicht werthloses Material anzuhäufen.

Um dem Einfluss der einzelnen Manipulationen, aus welchen sich die Methoden von Schultzen und Neubauer zusammensetzen, zu erkennen, wurden eine Reihe von Vergleichsversuchen angestellt.

Da nach Neubauer und Moddermann das Calciumoxalat seine Auflösung im Harn hauptsächlich dem sauren

phosphorsauren Natron verdankt, so schien es rationell, zur Ausfällung des Calciumoxalats das saure phosphorsaure Natron in das tertiäre Salz überzuführen, und zur Verringerung des Lösungsvolumen einzudampfen. Es wurden 500 ccm. Harn mit Natriumcarbonat alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade eingedampft, mit Alkohol gefällt und filtrirt. Der Filtrerrückstand wurde mit Wasser gewaschen, in Salzsäure gelöst und dann nach der Methode von Schultzen weiter behandelt. In keinem Falle war auf diese Weise auch nur eine Spur von oxalsaurem Kalk nachweisbar, während die gleichzeitig mit demselben Harn angestellten Versuche nach Schultzen ziemlich bedeutende Mengen oxalsauren Kalk ergaben. Eine Angabe Schultzen's ist vielleicht geeignet, diesen Befund zu erklären. Dieser fand nämlich, dass Calciumoxalat und Natriumphosphat sich unter Umständen (beim Erwärmen) umsetzen können in Natriumoxalat und Calciumphosphat.

Um nach diesem fehlgeschlagenen Versuche zu einer genaueren Erkenntniss der Methoden von Schultzen und Neubauer zu kommen, wurden an drei Tagen Versuchsreihen mit je 7 Parallelversuchen angestellt, indem die beiden vorhandenen Methoden in mannigfacher Weise modificirt wurden. So wurde z. B., um über den Werth des Chlorcalciumzusatzes in's Klare zu kommen, derselbe in mehreren Versuchen fortgelassen.

Die Anordnung der Versuche war folgende: Eine grössere Quantität Harn wurde gemischt und dann zu je 500 ccm. verarbeitet:

A. Versuche mit Eindampfen (analog dem Schultzen'schen Verfahren).

a) Der abgemessene Harn wurde mit Natronlauge alkalisch gemacht, auf ein geringes Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, mit 250 ccm. Alkohol gefällt, nach 2 Tagen filtrirt, mit Alkohol, Wasser und Essigsäure gewaschen. Der Filtrerrückstand wurde in warmer Salzsäure gelöst, mit Ammoniak alkalisch gemacht, mit Essigsäure angesäuert; nach 2 Tagen wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser ge-

waschen und durch Glühen als Aetzkalk bestimmt. In diesem wie in allen folgenden Versuchen wurde alle gebrauchte Essigsäure (= 30 % Eisessig) aus graduirten Büretten entnommen und auf diesem Wege sowohl die zum Waschen, als auch die zum Lösen des Ammonniederschlages verbrauchte Essigsäure genau bestimmt.

b) An Stelle der Natronlauge wurde Ammoniak genommen. Im Uebrigen entsprach dieser Versuch dem sub a) beschriebenen Verfahren.

c) Versuch nach dem Schultzen'schen Verfahren, wie es oben beschrieben wurde.

d) Um bei etwaigen Verunreinigungen genauere Werthe zu erzielen, wurde der zunächst gewogene Glührückstand in 10 ccm. einer auf Aetzkalk eingestellten Salzsäure durch Erwärmen gelöst. Durch Titriren mit Natronlauge bis zu neutraler Reaktion wurde ermittelt, wieviel der Salzsäure an Aetzkalk gebunden war, woraus sich dann der Aetzkalk selbst ergab.

B. Versuche ohne Abdampfen (analog dem Verfahren Neubauer's).

a) 500 ccm. Harn wurden mit Natronlauge alkalisch gemacht, mehrere Tage (5—6) stehen gelassen; der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser, dann mit Essigsäure gewaschen, in Salzsäure gelöst, mit Ammoniak gefällt, mit Essigsäure angesäuert. Nach 2 Tagen wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und als Aetzkalk bestimmt.

β) Der gleiche Versuch wie sub a) mit Ammoniak statt Natronlauge.

γ) Versuche nach Neubauer in der oben beschriebenen Weise mit mehrtägigem Stehen.

δ) Versuche nach der von Hoppe-Seyler angegebenen Modifikation des Neubauer'schen Verfahrens.

Der erhaltene Glührückstand wurde stets nach dem oben angegebenen Verfahren auf Phosphorsäure und Schwefelsäure geprüft (siehe umstehende Tabelle).

	I. Versuchsreihe.				II. Versuchsreihe.				III. Versuchsreihe.			
	Essig- säure chem.	Verun- reinigungen.	Aetz- kalk mgr.	Oxal- säure mgr.	Essig- säure chem.	Verun- reinigungen.	Aetz- kalk mgr.	Oxal- säure mgr.	Essig- säure chem.	Verun- reini- gungen	Aetz- kalk mgr.	Oxal- säure mgr.
a) Natronlauge	16,0	Keine	2,5	4,0	12,0	Phosphorsäure	13,5	21,6	12,0	Keine	4,0	6,4
b) Ammoniak	19,5	Keine	4,0	6,4	17,0	Keine	3,0	4,8	17,0	Keine	4,0	6,4
c) Schultzen	48,0	Phosphorsäure	14,5	23,2	35,0	Phosphorsäure / Schwefelsäure	8,0	12,8	60,0	Keine	2,5	4,0
d) Titrirung	—	—	5,5	8,8	—	—	4,2	6,7	—	—	3,1	4,9
α) Natronlauge	21,0	—	0,0	0,0	16,0	—	0,0	0,0	14,0	—	0,5	0,8
β) Ammoniak	19,0	—	0,0	0,0	19,0	—	0,0	0,0	—	—	?	?
γ) Neubauer	38,0	—	0,0	0,0	31,0	—	0,0	0,0	29,0	—	0,0	0,0
δ) Hoppe-Seyler	?	Phosphorsäure / Eisen	4,0	6,4	?	Phosphorsäure	2,5	4,0	—	—	?	?

Als Resultate ergaben sich uns, dass bei allen Methoden ohne Eindampfen, also auch bei dem Neubauer'schen Verfahren, nur äusserst geringe Mengen, ja unter Umständen nicht einmal Spuren von oxalsaurem Kalk sich aus dem Harn darstellen lassen. Es stehen die hier erhaltenen Resultate im Widerspruche mit den früher von uns gewonnenen. Der Grund liegt vielleicht in der etwas schnelleren Verarbeitung. Bessere Resultate lieferte die von Hoppe-Seyler vorgeschlagene Modifikation des Neubauer'schen Verfahrens, jedoch war der Glührückstand verunreinigt.

Bei den mit Eindampfen angestellten Versuchen zeigt sich, dass der Zusatz von Chlorcalcium vielleicht nicht absolut nothwendig ist. Das Schultzen'sche Methode lieferte allerdings höhere Werthe, wie die Modifikationen, jedoch war der Glührückstand verunreinigt und in dem einen Falle, in dem Verunreinigungen — in Folge grösserer Mengen angewendeter Essigsäure — nicht nachweisbar waren, lieferte sie sogar weniger. Dieser Umstand veranlasste den Verfasser, seinen ursprünglichen Absichten entgegen, Versuche über die Löslichkeit des oxalsauren Kalks besonders in Essigsäure anzustellen.

Das Verfahren bei diesen Versuchen war folgendes: Es wurden $\frac{1}{100}$ Normallösungen von oxalsaurem Ammonium und von Chlorcalcium hergestellt, erstere durch Abwägung, letztere durch Chlortitrirung mittelst einer Titerlösung von salpetersaurem Silber und entsprechende Verdünnung. Zu diesen Versuchen wurde Essigsäure von 1,040 spec. Gew. verwendet. Nach Mohr (Gmelin, Band IV) entspricht diese Säure 30 % Eisessig.

20 cbem. dieser Essigsäure wurden mit einer gleichen Anzahl von cbem. der beiden $\frac{1}{100}$ Normallösungen versetzt, und durch Wasserzusatz wurde das Ganze auf 50 cbem. gebracht. Concentration und Volumen war also immer gleich. Durch steigende Mengen von beiden $\frac{1}{100}$ Normallösungen liess sich mit einiger Schärfe die Grenze bestimmen, bei welcher nach mehrtägigem Stehen am Boden eine krystallinische Ausscheidung bemerkbar wurde. Zur grösseren Genauigkeit wurden diese Niederschläge auf kleinen, wie oben angegebenen, prä-

parirten Filtern gesammelt, getrocknet, gegläht und als Aetzkalk gewogen. Die hierfür gefundenen Werthe, mit 2,28 multiplicirt, ergaben die Menge des ausgefallenen oxalsauren Kalkes. Subtrahirt man letztere von dem zugefügten Calciumoxalat, so erhält man den gelöst gebliebenen oxalsauren Kalk. Näheres ergibt die Tabelle:

Essig- säure chem.	Was- ser chem.	1/100 Normal- lö- sungen chem.	Bere- nete Quan- tität Calcium- oxalat mgr.	Ausscheidung nach 24 Stunden:	Ausscheidung nach mehreren Tagen:	Ge- wogener Aetz- kalk mgr.	Gelöst geblie- benes Cal- cium- oxalat mgr.
20	10	je 10	6,4	Keine Ausscheidung	Geringe Ausscheidung	1,0	4,1
20	8	» 11	7,0	Zweifelhafte Ausscheidung	Ausscheidung	1,5	3,6
20	6	» 12	7,6	Ausscheidung	Deutliche Ausscheidung	2,0	3,1
20	4	» 13	8,3	Deutliche Ausscheidung	do.	2,5	2,7
20	2	» 14	8,9	do.	do.	3,0	2,1
20	0	» 15	9,6	Reichliche Ausscheidung	Sehr reichl. Ausscheidung	3,0	2,7

Wir erschen aus der vorstehenden Tabelle, dass der oxalsaure Kalk durchaus nicht absolut unlöslich ist in Essigsäure und zwar ist der gelöst bleibende Antheil nicht constant, sondern er wird um so kleiner, je grösser die Quantität des in seinen Constituenten zugesetzten oxalsauren Kalks ist — eine Erscheinung, die mit unseren Anschauungen über Oberflächenattraction durchaus in Einklang steht. Im Mittel lösten 20 chem. Essigsäure von 30 % oder 50 chem. von 12 % etwa 3 mgr. Calciumoxalat. Diese geringe Löslichkeit ist nicht zu unterschätzen bei den kleinen Mengen von Oxalsäure, welche im Harn ausgeschieden werden, und bei den grossen Quantitäten von Essigsäure, welche nöthig sind, um allen phosphorsauren Kalk wieder zur Lösung zu bringen. Nach unseren Versuchsprotokollen haben wir bei den vergleichenden Versuchen zwischen 20—60 chem. Essigsäure verbraucht. Diese sind nach den gewonnenen Resultaten im Stande, 3—9 mgr. oxalsauren Kalk zu lösen. Inwieweit die Gegenwart von phos-

phorsaurem Kalk die Löslichkeit des oxalsauren Kalks in Essigsäure beeinflusst, lässt sich a priori nicht entscheiden. So viel steht jedenfalls fest, dass ein Zuviel von 10—20 cbem. Essigsäure 1,5—3 mgr. oxalsauren Kalk lösen kann, also einen Verlust in dieser Grösse bedingen kann, in gleicher Weise wie ein Zuwenig ein unreines Präparat liefert. Wir haben also in der Essigsäure ein sehr zweischneidiges Trennungsmittel. — Die von Czapek vorgeschlagene Prüfung des Waschwassers mit molybdänsaurem Ammoniak auf Phosphorsäure hat dem Verfasser übrigens keine befriedigenden Resultate geliefert.

Auch die Löslichkeit des oxalsauren Kalks in Alkohol und destillirtem Wasser wurde nach dem oben beschriebenen Verfahren geprüft. Allein die Versuche ergaben kein genaueres Resultat, als dass die Löslichkeit für je 50 cbem. Wasser und Alkohol weit unter 1 mgr. Calciumoxalat in beiden Fällen lag. Von genaueren Untersuchungen wurde bei der geringeren Bedeutung des Gegenstandes Abstand genommen.

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich als Hauptschwierigkeit für eine genaue Bestimmung des oxalsauren Kalks im Harn der Mangel einer guten Trennungsmethode für oxalsauren und phosphorsauren Kalk.

Leider war Verfasser genöthigt, an dieser Stelle aus Mangel an Zeit die Untersuchungen abzubrechen, ohne zu einer Methode gelangt zu sein, bei der die angegebenen Schwierigkeiten gelöst oder umgangen wurden. Vielleicht ist das von E. Salkowski¹⁾ kürzlich zum Nachweis der Oxalsäure angegebene Verfahren direct oder mit Modifikationen auch zur quantitativen Bestimmung geeignet.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor E. Salkowski für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die freundliche Unterstützung bei derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

1) Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 120.