

## Ueber die Aciditätsbestimmung im Harn.

Von

Dr. Robert Arnstein, gew. Assistenten des Instituts.

(Aus dem med.-chemischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. September 1901.)

### A. Das Verfahren von Freund-Lieblein.

In seinen Untersuchungen über Aciditätsbestimmung im Harn hat Lieblein<sup>1)</sup> gefunden, dass nach Zusatz freier Säure oder eines sauren Salzes zu einer Mischung von einfach und zweifach saurem Phosphat die Menge des letzteren, nach dem Freund'schen<sup>2)</sup> Principe ermittelt, eine Vermehrung aufweist, welche quantitativ dem Zusatze saurer Substanz entspricht. Versuche an Harnen führten zu demselben Ergebniss, sofern von dem Theil der zugesetzten Säure, der von dem Carbonat des Harns gebunden wird, abgesehen wurde. Lieblein empfahl daher, die Menge der im zweifach sauren Phosphate enthaltenen Phosphorsäure als Maass für die Acidität des Harns anzusehen.

Es musste nun auffallen, dass Harn und Phosphatmischungen, welche von der gesammten Phosphorsäure den gleichen Procentsatz in Form von zweifach saurem Phosphat enthalten, in ihrer Reaction gegen Lackmus von einander abweichen. Gemenge von einfach und zweifach saurem Phosphat, in welchen die Phosphorsäure des letzteren 30—50% der Gesamtposphorsäure beträgt, reagiren gegen empfind-

1) V. Lieblein, Diese Zeitschr., Bd. XX, S. 73, 1894.

2) E. Freund, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892, S. 689.

liches Lackmuspapier amphoter<sup>1)</sup>; Lieblein<sup>2)</sup> hingegen fand nur bei einem Harn, welcher von der Gesamtphosphorsäure 34.91% in Form von zweifach saurem Phosphat enthielt, amphotere, bei allen übrigen Harnen mit grösserem Gehalt an zweifach saurem Phosphat nur saure Reaction gegen Lackmus. Dieser Umstand liess Lieblein's Untersuchungen einer Fortsetzung bedürftig erscheinen und gab Veranlassung zu vorliegender Arbeit, für deren Zuweisung ich Herrn Professor Huppert auch an dieser Stelle bestens danke.

Es sei gleich Eingangs erwähnt, dass zu den im Folgenden angeführten Versuchen Lösungen von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  benutzt wurden.

Die Reinheit beider Salze wurde durch den negativen Ausfall der Chlorreaction, beim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  überdies dadurch, dass es den berechneten Glührückstand hinterliess, sichergestellt. Es lieferte 86,80% statt 86,76%  $\text{KPO}_3$ .

Die angewandten Lösungen waren  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$  oder  $\frac{1}{16}$  normal<sup>3)</sup> und wurden mit Wasser meist auf ein solches Volumen gebracht, dass der  $\text{P}_2\text{O}_5$ -Gehalt dem eines gleichen Harnvolumens gleichkam (3,5 g  $\text{P}_2\text{O}_5$  in 1500 ccm. Harn). Die Volumsverhältnisse wurden mit wenigen Ausnahmen so eingehalten, wie sie Lieblein für die Aciditätsbestimmung im Harn empfohlen hat. Es wurden 75 ccm. Untersuchungsflüssigkeit mit 15 ccm. (in Ausnahmefällen 10 ccm.) 10%iger  $\text{BaCl}_2$ -Lösung versetzt, filtrirt, und vom Filtrat wurden 60 ccm. (= 50 ccm. der ursprünglichen Flüssigkeit) mit Urannitrat titirt. Ausnahmsweise wurde ein Gesamtvolumen von 100 statt 90 ccm. hergestellt.

### **I. Ueber die Umsetzung von Phosphaten mit $\text{BaCl}_2$ und den Einfluss von Kochsalz auf diese Umsetzung.**

Versuche, die in der eben angeführten Weise an Lösungen von einfach saurem Phosphat angestellt wurden, lieferten folgendes Ergebniss:

1) Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, 10. Auflage, S. 29.

2) Lieblein, a. a. O., S. 79.

3) Die zur Herstellung solcher Lösungen erforderliche Salzmenge wurde, wie gewöhnlich, aus der Menge des Glührückstandes berechnet.

Tabelle I.

	Angewandt		Im Filtrat gefunden	
	$\frac{1}{5}$ n $\text{Na}_2\text{HPO}_4$		$\text{P}_2\text{O}_5$	
	ccm.		mg	% d. angew.
1	9	}	4.5	5.6
2	9		2.25	2.8
3	18	}	4.5	2.8
4	18		8.0	3.05
5	30	}	6.0	2.30
6	30		6.35	4.4
7	16.2	}	2.25	1.56

Bei der Fällung von einfach saurem Phosphat mit  $\text{BaCl}_2$  fand also auch ich, ebenso wie Freund und Lieblein,  $\text{P}_2\text{O}_5$  im Filtrate des Ba-Niederschlags.

Nach der von Lieblein gegebenen Erklärung kommt diese Erscheinung in der Weise zu Stande, dass ein Theil des Baryumphosphats als normales ausfällt, und ein entsprechender Theil als zweifach saures in Lösung bleibt. Daher rührt auch die saure Reaction des Filtrats. Nach Lieblein<sup>1)</sup> findet man so im Filtrate 3%, nach Freund<sup>2)</sup> 3.5% der angewandten Phosphorsäure. In meinen Versuchen schwankte dieser Werth zwischen 1.56 und 5.6% und betrug im Mittel 3.2%.

Versuche mit einfach saurem Phosphat, dem etwas Steinsalz zugesetzt wurde, ergaben, wenn der NaCl-Gehalt dem eines gleichen Harnvolumens (etwa 12 g NaCl in 1500 ccm. Harn oder 0.8% NaCl) gleichkam, dasselbe Resultat. Wurde die Steinsalzmenge etwa auf das Doppelte erhöht, so wies das sofort nach der Fällung hergestellte Filtrat einen viel höheren Gehalt an  $\text{P}_2\text{O}_5$  auf und reagirte alkalisch. Wenn es einige Stunden stehen gelassen wurde, so trat in ihm ein Niederschlag auf, und die alkalische Reaction machte einer sauern Platz, wobei auch der

1) Lieblein, a. a. O., S. 66.

2) Freund, Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIX, S. 100.

Gehalt an gelöstem  $P_2O_5$  erheblich abnahm. Als Beleg hierfür mögen folgende Angaben dienen:

Es wurden 30 ccm.  $\frac{1}{8}$  normaler  $Na_2HPO_4$ -Lösung mit 1,57 g NaCl versetzt, mit Wasser verdünnt, nach Zusatz von 10 ccm. 10%iger  $BaCl_2$ -Lösung mit Wasser auf 100 ccm. aufgefüllt (der NaCl-Gehalt betrug somit 1,74%) und sofort filtrirt. Ein Theil des Filtrats wurde mit Uranlösung titrirt (a), ein anderer Theil 16, bezw. 21 Stunden stehen gelassen, nochmals filtrirt und ein Theil dieses Filtrats titrirt (b). Der Versuch wurde zweimal ausgeführt und ergab, auf das Gesamtvolumen umgerechnet,

1. bei a 38 mg  $P_2O_5 = 14,3\%$ , bei b (nach 16<sup>h</sup>)  
17 mg = 6,39% des angewandten  $P_2O_5$ ,
2. bei a 46,5 mg  $P_2O_5 = 17,5\%$ , bei b (nach 21<sup>h</sup>)  
12,5 mg = 4,7% des angewandten  $P_2O_5$ .

Man wird nicht fehlgehen, wenn man annimmt, dass durch das Steinsalz  $BaHPO_4$  in Lösung gehalten wurde. Dass die Löslichkeit von einfach saurem Erdalkaliphosphat ( $CaHPO_4$ ) in gewissen Salzlösungen, zu denen auch NaCl gehört, nicht zu vernachlässigen sei, gibt Ott<sup>1)</sup> an, und auch de Jager<sup>2)</sup> hat beobachtet, dass nach der Fällung mit  $BaCl_2$  bei Gegenwart von NaCl in Lösungen von  $Na_2HPO_4$  mehr Phosphorsäure im Filtrat gefunden wurde als ohne diesen Zusatz. Allmählich aber fällt das einfach saure Baryumphosphat doch aus, und zwar wahrscheinlich durch allmählichen Uebergang einer gallertigen schwer löslichen in die krystallinische unlösliche Modification, und mit ihm verliert die Lösung die alkalische Reaction.

Wenn der Lösung von einfach saurem Phosphat ein noch höherer NaCl-Gehalt ertheilt wurde, so sank der Werth für das im Filtrat gefundene  $P_2O_5$ . Bei Einhaltung der eben angeführten Versuchsbedingungen und Steigerung des NaCl-Zusatzes auf 4,7% enthielt Filtrat a 15,5 mg  $P_2O_5 = 5,8\%$ , Filtrat b (nach 16<sup>h</sup>) 7,8 mg  $P_2O_5 = 2,9\%$  des angewandten  $P_2O_5$ .

1) A. Ott, Diese Zeitschr., Bd. X, S. 8.

2) L. de Jager, Diese Zeitschr., Bd. XXIV, S. 308.

Mischungen beider Alkaliphosphate zeigten (in Abwesenheit von NaCl), mit BaCl<sub>2</sub> behandelt, dagegen ein ganz unerwartetes Verhalten. Es wurde nämlich unter gewissen Bedingungen im Filtrat weniger P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gefunden, als dem zugesetzten zweifach sauren Phosphat entsprach, während nach den am einfach sauren Phosphat gemachten Erfahrungen stets ein Plus, also ein positiver Titrationsfehler, zu erwarten war. Die diesbezüglichen Resultate enthält

Tabelle II.

Gesamtmenge d. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg	Verhältniss d. 2-fach s. Ph. z. Gesamtphosphat in %	Uranlösung zu 2/3 des Filtrats		Bestimmungsfehler		
		gebraucht ccm.	berechnet ccm.	Minus in % d. 2-f. s. Ph.	Plus in % d. 1-f. s. Ph.	
1	161.2	75	15.75	16.10	2.2	—
2		66.6	14.25	14.35	0.7	—
3		50	10.45	10.75	2.7	—
4			10.50		2.3	—
5		33.3	6.85	7.20	4.86	—
6		10	2.05	2.10	—	—
7	168	5.25	1.30	1.20	—	0.5
8	273	25	9.15	9.05	—	0.37
9		2.25	2.00	0.90	—	3.1

Man ersieht aus diesen Zahlen, dass der Fehler, den man bei der Bestimmung des zweifach sauren Phosphats neben einfach saurem Phosphat begeht, bei höherem Procentgehalte der Mischung an zweifach saurem negativ ist, dagegen bei bedeutendem Ueberwiegen des einfach sauren zunächst gleich Null oder sogar positiv werden kann. Die Gesamtmenge der vorhandenen Phosphorsäure scheint hierbei insofern einen Einfluss auszuüben, als in phosphatreicherer Flüssigkeit (Tab. II, Nr. 8) noch bei relativ hohem Gehalt an einfach saurem Phosphat der Fehler bereits positiv wird.

Die Gegenwart von Steinsalz äusserte in Mischungen beider Phosphate ihren Einfluss in der aus Tabelle III ersichtlichen Weise.

Tabelle III.

	Gesamtmenge d. $P_2O_5$ mg	Davon als zweifach s. Ph. %	Uranlösung zu $\frac{2}{3}$ des Filtrats		Bestimmungsfehler		NaCl-Zusatz g	
			gebraucht ccm.	berechnet ccm.	Minus in % d. 2-f. s. Ph.	Plus in % d. 1-f. s. Ph.		
1	161,2	83,3	17,80	17,95	0,9	—	0,63	
2		75	16,00	16,10	0,6	—		
3		66,6	14,00	14,20	14,35	2,4		—
4								
5		60	12,60	12,95	2,6	—		
6		50	10,60	10,65	10,75	0,93		—
7								
8								
9								
10		43,3	9,10	9,35	2,6	—		
11	33,3	7,00	7,20	2,7	—	—		
12								
13								
14	26,6	5,50	5,75	4,3	—			
15	162	16,6	3,35	3,60	7,0	—		
16	168	10	2,20	2,10	—	—		
17		5,25	1,35	1,20	—	0,75		
18	161,2	75	15,95	16,10	1,54	0,72		
19		66,6	14,30	14,35	—	—		
20		50	10,75	10,75	—	—		
21	33,3	7,20	7,20	—	—			
22	273	25	10,00	9,05	—	—		
23	161,2	75	16,00	16,10	1,25	—		

Ein Gehalt von 0,84% NaCl (0,63 g NaCl in 75 ccm.) der Phosphatmischung beeinflusste das Resultat nicht erheblich. In den Fällen 1 bis 5 der Tabelle II, in denen  $\frac{3}{4}$ ,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{3}$  der Gesamtmenge des Phosphats in Form von zweifach saurem vorhanden war, betrug der Fehler im Mittel — 2,4%, in den entsprechenden Versuchen der Tabelle III (2 bis 4, 6 bis 9, 11 bis 13) — 1,95%, dagegen wurde bei einem höheren Kochsalzgehalte, nämlich 1,57 g in 75 ccm. = 2% NaCl, in den meisten Fällen das bei Abwesenheit von NaCl zu beobachtende Minus vermisst, oder ein in diesem Falle zu be-

obachtendes Plus vergrössert gefunden. Dies lehrt ein Vergleich der Fälle Tab. II, 1—5 mit den Fällen Tab. III, 18—21, ferner Tab. II, 8 mit Tab. III, 22.

Der durch das Kochsalz ausgeübte Einfluss äusserte sich somit in den Versuchen an Mischungen beider Alkaliphosphate in ganz analoger Weise wie in den Versuchen an Lösungen von nur einfach saurem Phosphat, es wurde nämlich bei Gegenwart von 2% NaCl mehr  $P_2O_5$  im Filtrate des Ba-Niederschlags gefunden als ohne NaCl-Zusatz. Für diesen Einfluss des Kochsalzes wird daher dieselbe Erklärung gelten wie für die Versuche mit nur einfach saurem Phosphat, nämlich eine lösende Wirkung von NaCl auf  $BaHPO_4$ .

Dagegen bedarf die Thatsache einer Erklärung, dass in den Versuchen an Mischungen beider Alkaliphosphate das Plus an löslichem Phosphat, welches der Einwirkung von  $BaCl_2$  auf  $Na_2HPO_4$  seine Entstehung verdankt (s. Tab. I), nur selten zum Vorschein kommt. Es ist anzunehmen, dass entweder wegen der Anwesenheit eines grossen Ueberschusses an zweifach saurem Phosphat aus dem einfach sauren kein normales (neben zweifach saurem) Baryumphosphat entsteht, oder, was dasselbe ist, dass das normale durch die Massenwirkung des zweifach sauren sofort in einfach saures rückverwandelt wird. Für die Richtigkeit dieser Anschauung spricht der Umstand, dass nur in den Fällen mit wenig zweifach saurem Phosphat der Fehler gleich Null oder das erwartete Plus an Acidität constatirt wurde. In diesen Fällen reichte eben das zugesetzte zweifach saure Phosphat nicht mehr aus, die Entstehung von zweifach saurem Baryumphosphat aus einfach saurem zu verhindern.

Die eben angeführten Beobachtungen stimmen auch mit den Angaben von Joly<sup>1)</sup> und Boedeker<sup>2)</sup> überein. Diese Autoren fanden, dass auf Zusatz von Erdalkalisalzen zu verdünnten Lösungen von  $Na_2HPO_4$  stets etwas normales Erdalkaliphosphat gebildet werde, welches sich nur bei saurer Reaction

<sup>1)</sup> A. Joly, Comptes rendus 103, 1129. 1886; A. Joly u. E. Sorel, C. r. 118, 739. 1894.

<sup>2)</sup> Boedeker, Ann. d. Chem. u. Pharm., 69, 206. 1849.

der Flüssigkeit, das ist bei Zusatz einer Säure oder von zweifach saurem Phosphat, vollständig in das einfach saure verwandelt.

In meinen Versuchen wurde jedoch häufig auch von dem angewandten zweifach sauren Phosphat nach der Fällung mit  $\text{BaCl}_2$  nicht alles gefunden, wenn nicht welches durch die Reaction zwischen einfach saurem Phosphat und  $\text{BaCl}_2$  zuwuchs. Dies deutet darauf hin, dass das  $\text{BaCl}_2$  auch einen Theil des zweifach sauren Alkaliphosphats fällt, und zwar wahrscheinlich in Form von  $\text{BaHPO}_4$ . Joly<sup>1)</sup> beobachtete nämlich, dass verdünnte Lösungen von  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  beim Reiben der Glaswand mit einem Glasstab einen Niederschlag von  $\text{BaHPO}_4$  absetzten, dessen Menge mit der Concentration der Lösung zunahm. In meinen Versuchen mag durch Schütteln der Flüssigkeit im Messcylinder derselbe Vorgang eingeleitet worden sein. Das Auftreten einer leichten Trübung in einer mit  $\text{BaCl}_2$  versetzten Lösung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  habe ich thatsächlich öfters beobachtet. Im Filtrat fand ich dann weniger Phosphorsäure, als angewandt worden war. Das Minus betrug höchstens 2,5% der zugesetzten Phosphorsäure, also ebensoviel oder etwas weniger als in den meisten Fällen der Tabellen II und III. Worauf aber der Umstand zurückzuführen ist, dass in einigen wenigen Fällen dieser Tabellen der Verlust an zweifach saurem Phosphat grösser ist als 2,5%, ist fraglich. In diesen Fällen wog das einfach saure Phosphat stark vor, und es ist möglich, dass der beträchtliche Niederschlag einen Theil des zweifach sauren Phosphats mechanisch eingeschlossen hat.

Kurz zusammengefasst stellen sich somit die Ergebnisse der an Phosphatlösungen durch Zusatz von  $\text{BaCl}_2$  bei Gegenwart von  $\text{NaCl}$  angestellten Versuche folgendermassen dar: Beim Fällen von einfach saurem Phosphat mit Chlorbaryum geht ein Theil desselben als zweifach saures, bei höherem Kochsalzgehalte (2%) der Flüssigkeit auch als einfach saures in Lösung. In Gemischen von einfach und zweifach saurem Phosphat schlägt das Resultat in das Gegentheil um: es geht zweifach saures Phosphat mit in den Niederschlag über, und nur beim

1) A. Joly, Comptes rendus, **97**, 1180, 1883.

Ueberwiegen des einfach sauren Phosphats oder bei einer erheblich grössern Concentration der NaCl-Lösung (2%), als sie der Harn besitzt, findet sich mehr  $P_2O_5$  in Lösung, als mit dem zweifach sauren Phosphat angewandt wurde.

In denjenigen Fällen, in denen das Mengenverhältniss beider Phosphate und der Gehalt an NaCl dem des normalen Harns entsprechen, findet also stets ein Verlust an zweifach saurem Phosphat statt, wenn dieses nach dem Freund'schen Verfahren bestimmt wird.

## II. Einfluss der Sulfate.

Die im Harn enthaltenen Sulfate werden beim Verfahren nach Freund-Lieblein mit dem einfach sauren Phosphat als  $BaSO_4$  niedergeschlagen. Da es bekannt ist, dass der  $BaSO_4$ -Niederschlag hartnäckig lösliche Barytsalze einschliesst, so war an die Möglichkeit zu denken, dass auf solche Weise ein Verlust an zweifach saurem Phosphat eintreten könne. Mischungen von Alkaliphosphat mit NaCl und  $K_2SO_4$  wurden nach dem Freund'schen Princip auf ihre Acidität geprüft. War nur zweifach saures Phosphat mit Chlorid und Sulfat angewandt worden, so betrug das Minus 23% der angewandten Phosphorsäure (zur Titrirung von  $\frac{2}{3}$  des Filtrats wurden 8,20 statt 10,65 ccm. Uranlösung gebraucht), bei Benutzung von Mischungen beider Phosphate mit den genannten Salzen 6,5% (Mittel aus 6,10. — 6,10. — 7,42) der Phosphorsäure des zweifach sauren Phosphats, wenn letzteres 50—60% des Gesamtphosphats betrug. Für die Aciditätsbestimmung im Harn ist somit wegen seines Sulfatgehaltes zu erwarten, dass der für das zweifach saure Phosphat gefundene Werth noch weiter unter dem richtigen liegt, als dies bei Phosphatlösungen der Fall ist. An Lösungen von zweifach saurem Calciumphosphat machte übrigens de Jager<sup>1)</sup> eine gleichsinnige Beobachtung über den aciditätsvermindernden Einfluss eines Zusatzes von  $MgSO_4$  vor der Fällung mit  $BaCl_2$ .

Bezüglich der zu obigen Versuchen gebrauchten Quantitäten der

<sup>1)</sup> de Jager, l. c., S. 316, Versuch X.

Salze ist zu bemerken, dass die Phosphate und das Steinsalz in den sonst üblichen Mengen, das  $K_2SO_4$  (vollständig rein) in wechselnden Quantitäten von 160—320 mg auf je 75 ccm. der Untersuchungsflüssigkeit angewandt wurden, letzteres entsprechend dem Sulfatgehalt eines normalen Harns von 1.5—3 g  $SO_3$  in 1500 ccm.

### III. Einfluss von Kalksalzen.

Salze anderer Mineralsäuren als der bisher genannten kommen im Harn in so geringer Menge vor, dass es unnötig schien, die Untersuchungen auch auf sie auszudehnen, und zwar umsoweniger, als auch sonst von ihnen eine Beeinflussung der nach dem Freund-Lieblein'schen Verfahren gewonnenen Resultate nicht zu erwarten war. Dagegen schien es nicht überflüssig, Phosphattitrationen bei Gegenwart von Erdalkalisalzen vorzunehmen, da es bekannt ist, dass die Erdalkaliphosphate gewisse Besonderheiten ihrer Löslichkeitsverhältnisse aufweisen und die Umsetzungen zwischen löslichen Erdalkalisalzen und Phosphaten nicht den allgemeinen Regeln der gegenseitigen Reaction von Salzen folgen. So gibt z. B. einfach saures Alkaliphosphat mit einem löslichen Kalksalz einen Niederschlag von normalem Calciumphosphat, während die Flüssigkeit von gelöstem  $Ca(H_2PO_4)_2$  sauer reagiert. Ferner weiss man, dass auch zweifach saures Alkaliphosphat mit  $CaCl_2$  einen Niederschlag von basenreicherem Phosphat liefert, selbst bei solchen Verdünnungen der Phosphatlösung, bei welchen diese durch Chlorbaryum noch nicht im Geringsten getrübt wird.

Kalkhaltige Phosphatlösungen stellte ich mir auf zweierlei Art her, entweder durch Zusatz von reinem  $CaCl_2$  zu Alkaliphosphatlösungen, oder indem ich in einer Alkaliphosphatlösung durch allmähliches Hinzufügen äquivalenter Mengen von  $H_3PO_4$  und  $Ca(OH)_2$  einfach saures Kalkphosphat erzeugte. Um das Lösungsvermögen der Flüssigkeiten für Calciumphosphate zu erhöhen, wurde in beiden Fällen Kochsalz zugesetzt. Im ersteren Falle gelang bei Anwendung der von mir gewählten Salzmengen die Herstellung klarer Lösungen nur dann, wenn ein Ueberschuss an zweifach saurem Phosphat zugegen war, im andern Falle auch in äquimolekularen Mischungen beider Phosphate. Von den Salzen wurden die einem normalen Harn entsprechenden

Mengen angewendet, und zwar 161 mg Gesamt-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 0,63 g (= 0,84%) NaCl und 12,75 mg CaO<sup>1)</sup>, letzteres entweder als Ca(OH)<sub>2</sub> oder als CaCl<sub>2</sub>, zu 75 cem. Flüssigkeit.

In solchen Mischungen fand ich statt 50% zweifach sauren Phosphats: bei Abwesenheit von Ca 48,1%, bei Zusatz von CaHPO<sub>4</sub> 48,4%; statt 60% zweifach sauren Phosphats: 58,7% und 59,1%; statt 66,6%: bei Abwesenheit von Ca 65,66%, bei Zusatz von CaCl<sub>2</sub> 66,1%. Somit ist von dem Kalkgehalt eines normalen Harns kein merklicher Einfluss auf das Resultat der Aciditätsbestimmung nach Freund-Lieblein zu erwarten. Grössere Kalkmengen hingegen beeinflussen das Resultat sehr erheblich: so fand ich unter den angeführten Versuchsbedingungen bei Gegenwart von 25 mg CaO, also etwa der doppelten Menge als oben, 74,3% statt 66,6%, bei Gegenwart von 29 mg CaO 77,3% statt 66,6% des Gesamtphosphats als zweifach saures. In concentrirten Harnen wäre daher der Kalkgehalt als Fehlerquelle des Freund-Lieblein'schen Verfahrens anzusehen, und nur für solche, aber nicht für normale Harnen könnte man de Jager's<sup>2)</sup> Behauptung gelten lassen, dass zur Bestimmung der Reaction des Harns, der immer Erdphosphate enthält, deshalb diese Methode ebenso unbrauchbar sei, wie die Mal'-Hofmann'sche Methode.

de Jager gelangte zu dieser Schlussfolgerung durch Versuche, die er an Mischungen von Alkali- und Calciumphosphaten anstellte, und bei welchen er stets genau die Hälfte des einfach sauren Phosphats nach Freund-Lieblein als zweifach saures fand. Er erklärt diese Erscheinung durch die Annahme, dass wahrscheinlich immer, wenn CaHPO<sub>4</sub> gebildet wird, die Reaction  $4 \text{CaHPO}_4 = \text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  stattfindet. Das normale Phosphat könne durch NaCl am Ausfallen gehindert werden, so dass in der Flüssigkeit nicht CaHPO<sub>4</sub> gelöst sei, sondern nebeneinander Mono- und Tricalciumphos-

<sup>1)</sup> Der Maximalgehalt des normalen Harns beträgt nach Neubauer 0,25 g CaO in der Tagesmenge, also, letztere mit 1500 cem. angenommen, 12,5 mg in 75 cem.

<sup>2)</sup> de Jager, l. c. S. 309.

phat. Dass sich auf Zusatz von Erdalkalisalz zu einfach saurem Alkaliphosphat stets etwas zweifach saures Phosphat bildet, ist allgemein bekannt (vgl. S. 605), doch entsteht in solchen Fällen ein Niederschlag von normalem Erdalkaliphosphat. Letzteres kann bei Gegenwart von Neutralsalz zum Theil in Lösung bleiben. Dass aber, wie de Jager annimmt, grössere äquivalente Mengen von zweifach saurem und normalem Calciumphosphat nebeneinander oder gar neben einem Ueberschusse an zweifach saurem normales Calciumphosphat<sup>1)</sup> in Lösung sein könnte oder schliesslich im Harn nur Tricalcium- resp. Magnesiumphosphat neben Monophosphaten existiren können<sup>2)</sup> ist gewiss ganz unwahrscheinlich: man müsste sich vielmehr zur Erklärung der de Jager'schen Resultate vorstellen, dass erst durch Einführung der Bedingung für eine Fällung, d. i. durch Zusatz von  $\text{BaCl}_2$  zu dem durch Neutralsalz in Lösung gehaltenen  $\text{CaHPO}_4$ , analog wie beim Alkaliphosphat, nur in höherem Maasse, die Spaltung des einfach sauren Calciumphosphats in normales und zweifach saures herbeigeführt wird. Dieselbe Erklärung ist auch bei meinen an kalkhaltigen Phosphatlösungen angestellten Versuchen am Platze, sofern in denselben durch die Anwesenheit von Calcium eine Vermehrung des nach Freund gefundenen zweifach sauren Phosphats beobachtet wurde (vgl. S. 613).

Um selbst das von de Jager beschriebene Verhalten einer  $\text{CaHPO}_4$ -Lösung gegen  $\text{BaCl}_2$  kennen zu lernen, versuchte ich nach der Vorschrift des genannten Autors aus berechneten Mengen von  $\text{H}_3\text{PO}_4$  und  $\text{Ca(OH)}_2$  bei Gegenwart von  $\text{NaCl}$  eine solche Lösung herzustellen. Auch bei starker Verdünnung der Phosphorsäurelösung erzeugten jedoch die zuletzt zugesetzten Tropfen der ebenfalls verdünnten Aetzkalklösung eine Trübung, so dass in einem Falle nur 80% , in einem anderen nur 57% der angewandten Phosphorsäure gelöst blieben. Davon fiel auf Zusatz von  $\text{BaCl}_2$  noch etwa ein Drittel aus, und es wurden 55% bzw. 38% der ursprünglich vorhanden gewesenen

1) Dies müsste nämlich in de Jager's Versuch IV,  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{CaH}_2\text{PO}_4$  der Fall sein.

2) de Jager, a. a. O., S. 309.

Phosphorsäure als zweifach saures Phosphat bestimmt. Aus diesen Zahlen kann auf den quantitativen Verlauf der Umsetzung von  $\text{CaHPO}_4$  und  $\text{BaCl}_2$  kein Schluss gezogen werden, da bereits vor dem Zusatz von  $\text{BaCl}_2$  sicher etwas zweifach saures Ca-Phosphat zugegen war. Eine weitere Verfolgung dieser Frage schien mir zu zeitraubend und in Anbetracht meiner obigen Resultate, welche über die bezüglichen Verhältnisse des Harns, wie ich glaube, genügende Auskunft geben, überflüssig.

#### IV. Einfluss der harnsauren Salze.

Nachdem bisher nur die durch einige anorganische Harnsalze bedingten Fehler der Freund-Lieblein'schen Methode erwiesen worden sind, möge der folgende Abschnitt dazu dienen, den Einfluss von Uraten auf die mit dem genannten Verfahren gewonnenen Resultate zu zeigen. Wie ich vorwegnehmen will, bildet die Anwesenheit von Urat im Harn eine sehr grosse, vielleicht die grösste Fehlerquelle der oben erwähnten Methode, und dies ist auch schon von de Jager in der mehrfach angeführten Arbeit dargethan worden. Wie mir scheint, wurde dieser Abhandlung bisher nur wenig Beachtung geschenkt, und ich hielt es schon deshalb, ausserdem aber auch aus dem Grunde nicht für überflüssig, solche Versuche zu wiederholen, weil einzelne Angaben de Jager's schwer verständlich sind, andere, wie ich noch zeigen werde, einer Richtigstellung bedürfen.

Die im Folgenden angeführten Versuche wurden mit Natriurat angestellt, das Salz nach der Vorschrift von Bensch<sup>1)</sup> erzeugt.

Hierzu möchte ich bemerken, dass man sich vor zu langen Einleiten von  $\text{CO}_2$  in die Harnsäurelösung zu hüten hat. Man muss vielmehr, auch bei ziemlich stark alkalischer Reaction der Lösung, den  $\text{CO}_2$ -Strom unterbrechen, sobald sich der entstandene Niederschlag in der nahezu klaren Flüssigkeit gut abgesetzt hat. Weitere  $\text{CO}_2$ -Zufuhr erzeugt nämlich keinen Niederschlag mehr, kann aber, wie ich gesehen habe, bei zu langer Dauer das bereits ausgefällte Urat in Harnsäure ver-

<sup>1)</sup> Bensch, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 54, S. 189.

wandeln, und zwar zu einer Zeit, wo noch schwach alkalische Reaction der Flüssigkeit vorhanden ist.

Das so dargestellte Salz enthielt nicht, wie Bensch für das durch  $\text{CO}_2$  ausgefällte Biurat angibt,  $\frac{1}{2}$  Molekül, sondern 1 Molekül Wasser, das bei  $170^\circ$  fortging, wie sich aus folgenden Analysenresultaten ergibt:

In dem bei  $100^\circ$  getrockneten Salze wurden (durch Abdampfen mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  als  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  bestimmt) 11,12% Na gefunden, und es verlor bei  $170^\circ$  (unter ganz leichter Gelbfärbung) 8,56% seines Gewichtes. Da die Rechnung für ein Salz mit  $\frac{1}{2}$  Molekül  $\text{H}_2\text{O}$  11,55% Na und 4,52%  $\text{H}_2\text{O}$ , für ein solches mit 1 Molekül  $\text{H}_2\text{O}$  11,06% Na und 8,65%  $\text{H}_2\text{O}$  ergibt, wies mein Salz denselben Wassergehalt auf wie nach Baumgarten's 1 Untersuchungen das durch Salze ausgefällte Biurat, nämlich 1 Molekül Krystallwasser.

Vom Biurat wurde nun stets eine abgewogene Menge in heissem Wasser gelöst, die Lösung abgekühlt und mit Phosphatlösungen gemischt. Die Aciditätsbestimmung nach Freund-Lieblein lieferte in solchen Mischungen regelmässig zu kleine Werthe.

Wurde nur einfach saures Phosphat, mit Biurat gemischt, nach Freund titirt, so fehlte das sonst (Tabelle I) beobachtete Plus, indem bereits 1—2 Tropfen Uraulösung in dem mit Cochenille gefärbten Filtrate des Ba-Niederschlages einen Farbumschlag erzeugten.

Eine Lösung von zweifach saurem Phosphat, die mit Biurat versetzt und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt wurde, wies ausnahmslos im Filtrat ein Minus an  $\text{P}_2\text{O}_5$  auf, gleichviel ob  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  oder  $\text{BaH}_2\text{PO}_4$  <sup>2)</sup> angewendet wurde, ob bei Anwendung des letzteren noch ein Zusatz von  $\text{BaCl}_2$  erfolgte oder nicht.

In Gemengen von einfach und zweifach saurem Phosphat wurde durch die Anwesenheit des Biurats das Resultat der Aciditätsbestimmung nach Freund-Lieblein ebenfalls im Sinne eines Minus beeinflusst.

Zahlenbelege hierfür liefern die später zu besprechenden Tabellen IV, V und VI.

Die Ursache der Aciditätsverminderung konnte nur darin gesucht werden, dass das Biurat an das zweifach saure Phos-

1 Baumgarten, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 116, S. 106.

2 Dieses Salz stellte ich aus  $\text{H}_3\text{PO}_4$  und  $\text{Ba(OH)}_2$  dar.

phat Basis abgebe, was auch de Jager behauptet. Eine Bestätigung dieser Annahme lieferte die mikroskopische Untersuchung der bei solchen Versuchen erhaltenen Niederschläge.

Eine Biuratlösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  versetzt. Nach wenigen Minuten entstand ein voluminöser Niederschlag, der mikroskopisch aus feinsten Körnchen bestand und seine Beschaffenheit auch bei längerem Stehen nicht änderte.

War in der Flüssigkeit noch zweifach saures Phosphat vorhanden, so begann ebenfalls nach ganz kurzer Zeit die Bildung eines Niederschlags, doch war schon seine makroskopische Beschaffenheit verschieden von der des ersteren. Bei gleicher Menge der angewandten Reagentien war er spärlicher und setzte sich rasch zu Boden. Mikroskopisch bestand er vorwiegend aus unregelmässig sechseckigen, mit einer Schraffirung versehenen Tafeln, die als  $\text{BaHPO}_4$  anzusehen waren, denn sie lösten sich sehr leicht in verdünnter  $\text{HCl}$  und hatten dasselbe Aussehen wie der aus  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{BaCl}_2$  entstehende Niederschlag, ferner aus grossen quadratischen oder rechteckigen Tafeln von Harnsäure. Diese Tafeln wurden nämlich bei stundenlanger Einwirkung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  auf Biurat ebenfalls erhalten und konnten in diesem Falle als Harnsäure identifiziert werden. Sie lösten sich langsam in Lauge, nicht in verdünnter  $\text{HCl}$ , verbrannten auf dem Platinblech ohne Rückstand und gaben die Murexidreaction.

Ausser den genannten Formen enthielt der Niederschlag spärliche gelbliche Körner, in manchen Fällen auch drusenförmige Drusen, beide in  $\text{HCl}$  unlöslich, schliesslich gelbe, granulirt aussehende Scheiben, deren Zahl bei längerem Stehenlassen eines solchen Niederschlages gewöhnlich zunahm. Diese Scheiben gingen auf  $\text{HCl}$ -Zusatz langsam in Lösung, und an ihrer Stelle traten die oben beschriebenen Harnsäurekrystalle nebst Drusen kleinster Prismen (Harnsäure?) auf. Auch ohne Zusatz von  $\text{HCl}$  gingen die Scheiben, allerdings sehr langsam, in kleine, wetzsteinförmige Krystalle über. Es ist also anzunehmen, dass es sich um Baryumquadriurat gehandelt hat. Eine genaue Untersuchung war wegen der Unmöglichkeit der Isolirung dieser Formen nicht durchführbar.

Lösungen von  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  reagierten mit Biurat in derselben Weise wie Alkaliphosphat und  $\text{BaCl}_2$  nebeneinander, nur begann die Bildung eines Niederschlags etwas später, als wenn gleichzeitig ein Ueberschuss von  $\text{BaCl}_2$  vorhanden war. Doch schien nach einigen Stunden die Menge des Niederschlags in beiden Fällen, nämlich bei  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + \text{Urat}$  und  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + \text{Urat} + \text{BaCl}_2$ , gleich gross zu sein. Ein Ueberschuss an  $\text{BaCl}_2$  beschleunigt also, wie es scheint, die Reaction zwischen Urat und  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , dieselbe geht aber, wie ich im Gegensatze zu de Jagers (Versuch XI<sup>1)</sup>) bemerken muss, auch ohne  $\text{BaCl}_2$  vor sich.

Auch nach Abfiltriren des Niederschlags, der durch  $\text{BaCl}_2$  in Mischungen von einfach und zweifach saurem Alkaliphosphat mit Biurat erzeugt wurde, traten im Filtrate bei längerem Stehenlassen desselben die oben beschriebenen Krystallformen auf.

Es besteht also kein Zweifel, dass zwischen dem zweifach sauren Phosphat und dem Biurat ein Austausch von Metall stattfindet. Dieser erfolgt aber nicht nur bei Anwesenheit von Ba, wie de Jager in dem oben erwähnten Versuch XI angibt, sondern auch zwischen den Alkaliverbindungen, in diesem Falle allerdings sehr langsam, und man beobachtet erst nach mehreren Stunden das Auftreten von Harnsäurekrystallen in einer so verdünnten Mischung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und Natriumbiurat, wie ich sie anwandte. Dass die Umsetzung durch die Gegenwart von Ba beschleunigt wird, kann man am ehesten so erklären, wie es für die Bildung von unlöslichen oder schwer löslichen Niederschlägen üblich ist. Bei der Einwirkung von Alkaliphosphat auf Alkaliurat stellt sich allmählich ein Gleichgewichtszustand in der Vertheilung von Säuren und Basen her, die Flüssigkeit enthält einfach- und zweifach saures Phosphat neben Biurat, Tetraurat und Harnsäure. Letztere fällt langsam aus und die dadurch bedingte Gleichgewichtsstörung wird allmäh-

<sup>1)</sup> de Jager, l. c. S. 318. Dass de Jager in diesem Versuche nicht mit neutralem, sondern mit saurem Urat arbeitete, wird später bewiesen.

lich ausgeglichen. Ist nun Ba in der Flüssigkeit, so fällt das gebildete einfach saure Phosphat sofort als  $BaHPO_4$  aus und muss immer wieder ersetzt werden. Dadurch wird also dem Urat schneller Basis entzogen, und Harnsäure fällt aus. Geht die Reaction später etwas langsamer vor sich, so kommt es auch zur Bildung von Tetraurat, welches sich als Baryumverbindung ausscheidet (in Form der oben erwähnten Scheiben?) und dann noch zum Theil in Harnsäure übergeht, vielleicht nur in Folge der Einwirkung von Wasser, was Sir Roberts<sup>1)</sup> an dem aus Harn gewonnenen Uratsediment beobachtet hat.

Den quantitativen Verlauf der Reaction zwischen Phosphat und Urat veranschaulichen die in den folgenden Tabellen angeführten Versuchsergebnisse.

Tabelle IV.

Vorhandenes Phosphat	Zugesetzt wurde		Uranlösung zu 2 g des Filtrats		Minus, umgerechnet auf 1 mg-Molekül Urat: mg $P_2O_5$	Zeitpunkt der Titrirung
	Biurat mg	10%ige $BaCl_2$ -Lösung ccm.	gebraucht ccm.	berechnet ccm.		
1	50	15	9,25	10,55	37,8	sofort
2			10,15			nach 1/2 h
3			10,55			sofort
4	30	15	10,60	10,85	—	nach 15 h
5			9,35			sofort
6	30	15	9,05	10,60	77,5	nach 15 h
7			8,80			21 h
8			10,65			40 h
9	30	15	9,20	10,60	70	40 h
10			9,20			16 h
11			9,35			15 h

Die Resultate 8 und 10 wurden bei Gegenwart von NaCl erhalten.

<sup>1)</sup> Sir Roberts, s. Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, 10. Aufl., S. 622.

Tabelle V.

In folgenden Versuchen ist das zweifach saure Phosphat als K-Salz vorhanden, die Gesamtmenge von  $P_2O_5$  beträgt durchwegs 160 mg, das Gesamtvolumen 90 ccm.

Verhältniss d. 2-f. s. Ph. zum Ge- sammtph. %	Zugesetzt wurde		Uranlösung zu $\frac{2}{3}$ des Filtrats		Minus, um- gerechnet auf 1 mg- Molekül Urat: mg $P_2O_5$	Zeitpunkt der Titrirung	
	Biurat mg	100 oige $BaCl_2$ - Lösung ccm.	gebraucht ccm.	berechnet ccm.			
1	90	29	2,5	18,40	19,05	33,6	
2		28	4	18,15		48,2	
3		32	15	17,20		86,7	
4	80	33	2	16,60	16,90	13,6	
5		—	35	10,30		10,65	
6	50	29	4	10,00	10,55	28,4	
7			4	10,35		10,3	
8		16	9,15	72,4			
9			37	15		8,75	72,9
10			21	15		9,30	89,3
11		35	15	8,80		75	nach $\frac{1}{2}$ h
12				9,05			sofort
13	8,70			nach 5 h			
14	15	15	8,90	79,2	nach $5\frac{1}{2}$ h		
15			10		22	15	1,55
						47	sofort

Tabelle VI.

In folgenden Versuchen ist das zweifach saure Phosphat als Ba-Salz vorhanden,  $P_2O_5$ -Menge und Gesamtvolumen wie in Tab. V. titriert wurde stets sofort nach dem Fällen.

Verhältniss d. 2-f. s. Ph. zum Gesamtph. %	Zugesetzt wurde		Uranlösung zu $\frac{2}{3}$ des Filtrats		Minus, umgerechnet auf 1 mg-Molekül Urat: mg $P_2O_5$	
	Biurat mg	100 oige $BaCl_2$ - Lösung ccm.	gebraucht ccm.	berechnet ccm.		
1	90	—	—	19,25	19,15	—
2		—	15	18,65		—
3		29	—	17,80	19,25	75
4		29	—	17,60		85,3
5		32	—	19,20		—
6		29	15	17,20	18,65	75
7		80	33	—	16,40	17,10

Selbstverständlich konnten nur Lösungen angewendet werden, in denen das zweifach saure Phosphat erheblich überwog, weil sonst das einfach saure Baryumsalz nicht in Lösung geblieben wäre.

Zu den Tabellen ist Folgendes zu bemerken: Die berechnete Menge Uranlösung, welche zur Bestimmung des Fehlers herangezogen wurde, ist entweder durch Titirung gleicher Phosphatmengen in uratfreier Lösung ermittelt, oder aus einer solchen für ein anderes Mengenverhältniss der Phosphate direkt ermittelten Zahl auf das betreffende Mengenverhältniss umgerechnet worden. Diese «berechneten» Zahlen sind also nicht ganz zuverlässig, jedoch zur Vergleichung der Resultate brauchbar. Zu letzterem Zwecke habe ich das Minus, welches sich bei der Titration in urathaltiger Lösung gegenüber dem in uratfreier Flüssigkeit erhaltenen Werthe herausstellte, stets auf ein Milligrammmolekül Biurat umgerechnet, wobei ich das Molekulargewicht für  $C_5H_3NaN_4O_3 + H_2O$  208 auf 200 abrundete. Das so berechnete Minus an  $P_2O_5$  könnte im günstigsten Falle, d. h. wenn das Biurat seine ganze Basis an das zweifach saure Phosphat abgäbe, theoretisch nur 71 mg  $P_2O_5$  betragen. Dass es thatsächlich in einigen Versuchen grösser ausfiel, ist darauf zurückzuführen, dass die «berechneten» Werthe nicht ganz zuverlässig sind, und dass ferner bei Anwendung kleiner Uratmengen schon ein kleiner Titrationsfehler das auf ein Milligrammmolekül umgerechnete Minus erheblich beeinflusst, indem z. B. bei 30 mg Urat, wovon nur  $\frac{2}{3}$  für die Titration in Betracht kommen, 1 Tropfen Uranlösung das Minus um 2,5 verändert.

Die aus den qualitativen Versuchen geschöpften Erfahrungen liessen erwarten, dass die quantitativen Resultate je nach der Dauer der Einwirkung von Phosphat und Urat und je nach dem Gehalte an  $BaCl_2$  oder Ba überhaupt verschieden sein würden. Es schienen zwar noch andere nicht ermittelte Zufälligkeiten ebenfalls die Titrationsresultate zu beeinflussen, indem letztere auch bei Abwesenheit von Urat, unter gleichen Verhältnissen gewonnen (Tab. II), nicht genau übereinstimmten; doch musste eine weitere Verfolgung dieser Frage, die übrigens unnöthig schien, aus äusseren Gründen unterbleiben. Ich leite

daher nur die mir gesichert erscheinenden Schlussfolgerungen aus den Tabellen IV, V und VI ab.

Mit der Menge des zugesetzten  $\text{BaCl}_2$  nahm das Minus an gelöst bleibender Phosphorsäure zu, wie ein Vergleich der Fälle Tab. V 1, 2, 3 untereinander, ferner ein Vergleich der Versuche Tab. V 6, 7 mit Tab. V 8, 9 lehrt. Dass sich der Einfluss des  $\text{BaCl}_2$ -Zusatzes in der gleichen Weise auch in Lösungen von  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  äussert, die also schon selbst Ba enthalten, zeigen die Resultate Tab. IV 6 und 11. Es scheint übrigens für die Reaction zwischen zweifach saurem Phosphat und Biurat nicht gleichgültig zu sein, welches Ba-Salz zur Anwendung gelangt, denn die Umsetzung erfolgte rascher bei Anwendung von  $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  (Tab. VI 3, 7), als wenn äquivalente Mengen von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und  $\text{BaCl}_2$  benützt wurden (Tab. V 1, 4); sie wurde ferner durch die Gegenwart von einfach saurem Phosphat befördert (vgl. Tab. IV 1, 2 mit Tab. V 9, 10) und schliesslich auch durch eine Vermehrung des letztgenannten Salzes (vgl. Tab. V 15, 9, 3). Während jedoch die qualitativen Versuche (S. 618) ergaben, dass sich Biurat mit zweifach saurem Phosphat nicht momentan vollständig umsetzt, so war aus den quantitativen Versuchen der Tab. IV und V ein allmähliches Fortschreiten der Reaction nicht zu sehen. Nur die Reihe Tab. IV 5, 6, 7 zeigt einen geringen Einfluss der Reaktionsdauer auf den Grad der Umsetzung, hingegen fehlt derselbe vollständig in den Reihen Tab. V 10 bis 14 und Tab. IV 9, 10, 11. Die letzten drei Fälle lassen auch den sonst beobachteten Einfluss der  $\text{BaCl}_2$ -Menge vermissen.

Es scheint also, dass in den Versuchen, die gemäss der in ihnen erfolgten Anwendung von einfach und zweifach saurem Phosphat den Verhältnissen eines normalen Harns entsprechen, und in welchen eine erhebliche Menge von  $\text{BaCl}_2$  zugesetzt wird, wie dies bei der Freund-Lieblein'schen Aciditätsbestimmung gebräuchlich ist, das Biurat in **kürzester Zeit alle Basis** an das zweifach saure Phosphat abgibt. Es ist allerdings fraglich, inwieweit die Umsetzung (zwischen Urat und Phosphat im Harn nicht schon vor Zusatz von  $\text{BaCl}_2$

abgelaufen ist: denn dass sie in Phosphatlösungen auch ohne Ba vor sich geht, habe ich oben gezeigt. Allein für die Brauchbarkeit der Freund-Lieblein'schen Methode im Harn ist die Beantwortung dieser Frage ganz überflüssig. Die Thatsache steht fest, dass Biurat an zweifach saures Phosphat Basis abgibt. Dann befindet sich aber ein in chemischem Sinne saurer, wenn auch nicht auf Lackmus sauer reagirender Körper (Tetraurat) neben einfach saurem Phosphat in Lösung, ohne dieses quantitativ in zweifach saures überzuführen. Es ist daher unrichtig, die Menge des zweifach sauren Phosphats als Maass für die Acidität, d. i. die Gesammtheit der sauren Körper des Harns anzusehen. Für die nach dem Freund'schen Princip ermittelte Menge des zweifach sauren Phosphats gilt dies aber umsomehr, als die für sie gefundenen Zahlen wegen der Gegenwart gewisser Salze, insbesondere der Urate, Sulfate, Kalksalze, im Harn vollkommen unzuverlässig sind. So komme ich, obwohl meine Resultate mit denen de Jager's in vielen Einzelheiten nicht übereinstimmen, doch zu demselben Resultate, wie der genannte Autor, dass nämlich die Methode von Freund-Lieblein zur Aciditätsbestimmung im Harn unbrauchbar ist.

#### B. Das Verfahren von de Jager.<sup>1)</sup>

Nun gibt de Jager eine neue Methode an, die, wie er meint, für die Aciditätsbestimmung im Harn geeignet ist. Das Verfahren besteht darin, dass festgestellt wird: 1. wieviel Säure erforderlich ist, um alles Phosphat in saures, 2. wieviel Alkali nöthig ist, um alles in normales Phosphat überzuführen.

Die Ausführung ist folgende: Zu 10 ccm. Harn werden 5—10 ccm. n/10 HCl oder Essigsäure hinzugesetzt, darauf BaCl<sub>2</sub> im Ueberschuss zugefügt, nach dem Absetzen des Niederschlages filtrirt und zum klaren Filtrat solange n/10 NaOH zufließen gelassen, bis eine leichte Trübung sichtbar wird. Mit einiger Übung ist der Niederschlag von BaHPO<sub>4</sub> leicht von etwaigen Staubtheilchen zu unterscheiden. Ist man darüber im Zweifel,

<sup>1)</sup> de Jager a. a. O., S. 311.

so kann man abermals filtriren: wird jetzt durch  $10$  ccm. der Lauge eine Trübung hervorgerufen, so ist die Grenze erreicht oder überschritten.

Bei der Lösung der zweiten Frage wird nach Zusatz von Phenolphthalein zu dem wegen seiner Eigenfarbe verdünnten Harn ( $10$  ccm. Harn +  $25$  ccm. Wasser) mit Natronlauge titirt, bis die entstandene Rothfärbung durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  nicht mehr beeinträchtigt wird. Es ist dann alles Phosphat in die Form von normalem Calciumphosphat übergeführt. Ausserdem sind die anderen sauren Körper, die im Harn vorkommen, neutralisirt.

Wie aus der Beschreibung des Verfahrens hervorgeht, behandelt de Jager die erste Frage in einer Weise, die von vornherein keine grosse Genauigkeit verspricht. Ist es für die Erzielung genauer Resultate schon ungünstig, nur  $10$  ccm. Harn zu verwenden, so kommt noch ein Fehler hinzu, dass nämlich der Volumsverlust keine Berücksichtigung findet, welcher durch das Filtriren der Flüssigkeit (behufs Entfernung des Ba-Niederschlags) entsteht. Auch wäre, um Täuschungen durch  $\text{BaSO}_4$  oder  $\text{BaCO}_3$  auszuschliessen, die Nothwendigkeit hervorzuheben, dass man nur mit reiner Natronlauge (e natrio titiren müsse. Unter Ausschluss der erwähnten Fehlerquellen habe ich nach dieser Methode die Alkaleszenz von Phosphatlösungen bekannter Zusammensetzung geprüft.

In der Regel wurde zum Zurücktitriren des Säureüberschusses mehr Lauge gebraucht, als die Rechnung erforderte, in wenigen Fällen die berechnete Menge. Das rührt hauptsächlich daher, dass das Erkennen des ersten  $\text{BaHPO}_4$ -Niederschlags auch bei einiger Uebung nicht leicht ist, und dass der Niederschlag nicht immer mit der für eine Endreaction erforderlichen Schärfe auftritt. In einigen Fällen beobachtete ich, da ich im Zweifel war, ob eine vorhandene minimale Trübung von  $\text{BaHPO}_4$  herrühre, die betreffende Flüssigkeit etwas länger, als dies sonst der Fall war, und bemerkte nach ganz kurzer Zeit eine spontane erhebliche Zunahme der Trübung, obwohl noch nicht die berechnete  $\text{NaOH}$ -Menge zugesetzt worden war. Viel öfter jedoch geschah es, dass ich den Niederschlag

zu spät wahrnahm, da trotz vorsichtiger Titrirung in der ganz klaren Flüssigkeit plötzlich eine so starke Trübung entstand, wie es in anderen Fällen erst bei absichtlichem Ueberschreiten der Endreaction zu beobachten war. Die von de Jager für zweifelhafte Fälle empfohlene Probe (Abfiltriren der Trübung und weiteren Zusatz von NaOH) habe ich öfter gemacht, aber selbst wenn schon die berechnete NaOH-Menge verbraucht war, noch 0,3–0,5 cem.  $n_{10}$  NaOH zufügen müssen, um im Filtrat eine Trübung zu erzeugen, in extremen Fällen noch mehr, so dass in einem Falle 4,1 cem. statt 2,50 cem., ein anderes Mal 12,45 cem. statt 11,25 cem.  $n_{10}$  NaOH gebraucht wurden, wenn solange titirt wurde, bis in der vom Niederschlag abfiltrirten Flüssigkeit durch 2 Tropfen  $n_{10}$  NaOH wieder eine Trübung erzeugt wurde. In Versuchen mit nur zweifach saurem Phosphat und  $\text{BaCl}_2$  trat einmal erst nach Zusatz von 0,65 cem., ein anderes Mal nach Zusatz von 0,40 cem.  $n_{10}$  NaOH eine deutliche Trübung auf.  $\text{BaHPO}_4$  ist eben in Chloriden nicht ganz unlöslich und fällt erst dann aus, wenn das Lösungsvermögen der betreffenden Flüssigkeit erschöpft ist. Die Beobachtung, dass manchmal auch nach Entfernung der zweiten in derselben Probe erzeugten Trübung bei weiterer Titration wieder einige Zehntel Cubiccentimeter NaOH verbraucht wurden, macht es wahrscheinlich, dass die Trübung nicht nur aus  $\text{BaHPO}_4$ , sondern vielleicht auch aus einem stärker basischen Phosphat besteht, dass nämlich aus dem  $\text{BaHPO}_4$   $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$  neben  $\text{BaH}_2\text{PO}_4$  entsteht, ersteres ausfällt, letzteres in Lösung geht und nach dem Abfiltriren der ersten Trübung einen Mehrverbrauch von Lauge bedingt. Von der Unzuverlässigkeit der Endreaction überzeuge ich mich auch bei Versuchen mit Harn. Hierbei erhielt ich bei wiederholter Titrirung desselben Harns ganz verschiedene Resultate. Im Gegensatz zu de Jager, der nach seiner Methode im Harn niemals einfach saures Phosphat fand, habe ich solches nach seiner Methode bisweilen in erheblicher Menge gefunden, aber bisweilen auch vermisst. Selbstverständlich kann ich diesen Resultaten auf Grund meiner Erfahrungen über die Endreaction gar keine Bedeutung beimessen.

Bezüglich der Aciditätsbestimmung nach de Jager, also der

Titration mit NaOH nach Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  und Phenolphthalein, möchte ich bemerken, dass die Erkennung der Rothfärbung nicht nur durch die Eigenfarbe des, wenn auch verdünnten, Harns, sondern auch durch die Gegenwart des Phosphatniederschlags sehr erschwert wird. Man wird schon deshalb, ausserdem aber auch wegen des  $\text{NH}_3$ -Gehalts des Harns, da bei Zusatz von NaOH Ammoniak entweicht, stets zu viel Lauge brauchen.

De Jager findet nach diesem Verfahren die Acidität des Harns grösser, als dieselbe sein könnte, wenn alles Phosphat in Form von zweifach saurem vorhanden und dieses die einzige saure Substanz des Harns wäre. Ich untersuchte diesbezüglich nur 4 Harns und kann de Jager's Erfahrung bestätigen. Da aber dieses Plus, wie oben erwähnt, zum Theil auf Fehler beim Titriren zurückzuführen ist, ist es schwer, anzugeben, inwiefern andere saure Körper des Harns daran betheilig sind. Dass z. B. Tetraurat eine Vermehrung der Phosphat-acidität bedingen könnte, ist gewiss zuzugeben, doch ist das Plus sowohl in de Jager's, als auch in den von mir beobachteten Fällen viel zu gross, um auch nur der Hauptsache nach durch Tetraurat bedingt sein zu können.

Nach dem im Vorhergehenden über die de Jager'sche Methode Gesagten ist es selbstverständlich, dass ihren Resultaten jede Genauigkeit abgesprochen werden muss. Dennoch möchte ich es der Vollständigkeit halber nicht unterlassen, noch kurz auf gewisse Einzelheiten der genannten Abhandlung einzugehen. Insbesondere wären einige Unklarheiten im Ausdruck hervorzuheben, die das Verständniss der Arbeit ausserordentlich erschweren, und mehrere fehlerhafte Angaben richtig zu stellen.

Wie z. B. aus de Jager's «Versuch IX» zu ersehen sein soll, dass die Methode von Freund zu hohe Werthe für das saure Phosphat ergibt, ist mir unverständlich; oder soll dies aus der Tabelle auf S. 315 hervorgehen? In dieser sind nämlich die nach Zusatz von NaOH zu einem Harn erhaltenen Werthe des zweifach sauren Phosphats relativ höher als der erste Werth, der vor Laugenzusatz erhalten wurde.

Der Inhalt des Absatzes (S. 315), der mit den Worten «Wie oben gesagt» beginnt, war mir ebenfalls unklar. Er ist, wie ich jetzt glaube, so zu verstehen: S. 313 wurde gezeigt, dass die Acidität nach de Jager

zu niedrig gefunden wird. Dort hätten nämlich statt 8,8 cem.  $n_{10}$  NaOH 9,3 cem. gebraucht werden sollen ( $66 : 7,1 = 9,3$ ). Die Alkaleszenzbestimmung fällt ebenfalls zu niedrig aus, weil  $BaHPO_4$  erst auftritt, wenn ein kleiner Ueberschuss an Lauge zugesetzt wurde. Da aber dennoch die Differenz der beiden Zahlen im Harn grösser ist, als dem  $P_2O_5$ -Gehalt entspricht (was ich übrigens aus den angeführten Versuchen nicht ersehen konnte), so muss beim Feststellen der unteren Grenze damit ist wohl die Alkaleszenzbestimmung gemeint) Säure verschwunden sein, man braucht also weniger Lauge, als sonst erforderlich wäre. Wie de Jager auf S. 320 erklärt, ist diese Säure Harnsäure; durch Zusatz von HCl zum Harn vor Ausfällung desselben mit  $BaCl_2$  soll sich die Harnsäure als solche ausscheiden, was eine Aciditätsverminderung des Harns zur Folge haben soll. Den Beweis hierfür ist de Jager allerdings schuldig geblieben: denn wenn die Menge der so ausgeschiedenen Harnsäure zu gering ist, um die Murexidprobe damit anzustellen, so ist wohl fraglich, ob sich ihr Einfluss bei einem Verfahren äussern kann, das nach de Jager's eigenen Angaben sowohl bei der Aciditäts- als auch bei der Alkaleszenzbestimmung andere (grössere) Fehlerquellen besitzt.

Es ist auch merkwürdig und wohl nur Zufall, dass de Jager trotz der genannten Fehlerquellen, und obwohl er selbst an Phosphatlösungen z. B. im Versuch VL 1) nicht ganz richtige Resultate erhält, eine ziemlich genaue Uebereinstimmung seiner Gesamt- $P_2O_5$ -Zahl mit der durch Urantitration ermittelten beobachtet hat (S. 314) und überdies auf Grund seiner Methode den Gehalt des Harns an Erdalkaliphosphaten erüiren zu können glaubt, wobei die Werthe «nicht genau, aber zur ungefähren Vergleichung brauchbar» sein sollen (S. 316).

S. 317 ff. führt de Jager die an Harnsäurelösungen gemachten Versuche an. Zu diesen benützte er eine Lösung von källicher Harnsäure in Natronlauge, indem er zu Natronlauge soviel Harnsäure zusetzte, «bis die Reaction für Phenolphthalein neutral war», womit offenbar das Verschwinden der Rothfärbung gemeint ist. Das so erhaltene Urat hält de Jager für neutral und führt es durch Neutralisiren der Hälfte der verbrauchten NaOH-Menge durch HCl in saures über. Wie man sich leicht überzeugen kann, 2) erhält man nach dem Verfahren de Jager's nicht neutrales, sondern Bicut, und ein überschüssiger Tropfen  $n_{10}$  NaOH

1) Dort soll es heissen «s =  $8,8 \cdot 7,144 = 18,5$  mg  $P_2O_5$ ».

2) Ich wog mir 72 mg reiner Harnsäure ab, die ich allmählich in ein Kolbchen brachte, in welchem sich 4,4 cem.  $n_{10}$  NaOH (irrhümlich, statt berechneter 4,3 cem.), mit Wasser verdünnt und mit Phenolphthalein gefärbt, befanden. Zur Bildung von neutralem Urat waren 37 mg Harnsäure erforderlich, die Rothfärbung verschwand jedoch erst nach Zusatz von 72 mg Harnsäure und 1 Tropfen  $n_4$   $H_2SO_4$ , es hatte sich also Bicut gebildet. Dasselbe Ergebniss lieferte allmählicher Zusatz von  $n_{10}$  NaOH zu einer abgewogenen Harnsäuremenge.

erzeugt in der Biuratlösung Rothfärbung von Phenolphthalein. De Jager hat demnach kein neutrales Urat benützt, hat also durch seine Versuche auch nicht den angestrebten Beweis erbringen können, «dass neben saurem Phosphat neutrales Urat anwesend ist»<sup>1)</sup>. Neutrales Urat wird übrigens schon durch die Kohlensäure der Luft zersetzt, es ist also nicht anzunehmen, dass es im Harn vorkommt.

«Aus der Löslichkeit von saurem Urat in neutralem Phosphat» (i. e. einfach saurem Ph.) folgert de Jager, «dass der Harn nur saure Phosphate enthält; sonst wäre ein Sedimentum lateritium unmöglich, erst recht ein Sediment von Harnsäure». Hierzu ist zu bemerken, dass das Ausfallen von Tetraurat und Harnsäure, wie allgemein angenommen wird, in Folge allmählicher Abgabe von Basis Seitens des vorhandenen wesenen Biurats an das zweifach saure Phosphat des Harns vor sich geht. Es entsteht also hierbei einfach saures Phosphat, das als solches die Ausscheidung von Quadriurat nicht behindert.

S. 319 schliesst de Jager aus dem Umstande, dass eine mit Harnsäure bei 100° gesättigte Phosphatlösung beim Abkühlen saures Urat abscheidet, auf das nunmehrige Vorhandensein eines «grossen Ueberschusses» an saurem Phosphat. Es ist ja nicht zu bezweifeln, dass nunmehr in der Flüssigkeit saures Phosphat enthalten ist, aber es kann immer noch einfach saures Phosphat im Ueberschusse sein, denn auch aus alkalischen Phosphatlösungen kann sich Biurat [Baumgarten<sup>2)</sup> Nakahama bei A. Ritter<sup>3)</sup>] ebenso wie Harnsäure [Pfeiffer<sup>4)</sup>] ausscheiden.

Was de Jager (a. a. O. S. 319) über die Grösse des durch die Gegenwart von Harnsäure bedingten Fehlers beim Freund'schen Verfahren angibt, ist ebenfalls nicht richtig, weil der Harn niemals neutrales Urat enthält. Der Fehler könnte unter Zugrundelegung der von de Jager angeführten Hammarsten'schen Zahlen (0,7 g Harnsäure und 2,5 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in der Tagesmenge) höchstens 12,5% , aber nicht 25% betragen, wenn alles Phosphat als saures, alle Harnsäure als Biurat vorhanden wäre und letzteres die gesammte Basis an das Phosphat abgäbe.

Endlich ist noch auf einen Widerspruch zwischen zwei Angaben de Jager's hinzuweisen. S. 319 heisst es, der in Mischungen von Ba (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> mit Natriumurat, ebenso der in Mischungen von Alkali-phosphaten mit Alkaliurat durch Zusatz von BaCl<sub>2</sub> erzeugte Niederschlag bestehe «anfänglich immer aus einer gelblichen körnigen Masse von Baryumurat», während auf S. 320 gesagt wird, das Baryumurat würde «nach einiger Zeit aus dem mit BaCl<sub>2</sub> versetzten Harn ausfallen, wenn

1) a. a. O. S. 317 und Versuch XI.

2) Baumgarten, Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 117, S. 106.

3) A. Ritter, Zeitschr. f. Biol., Bd. 35, S. 162.

4) E. Pfeiffer, Verhandl. d. VII. Congr. f. inn. Med. 1888, 361 cit. nach Neubauer-Huppert, Analyse d. Harns, 10. Aufl., S. 625.

nicht das saure Baryumphosphat demselben alles BaO entzöge. Letztere Behauptung steht also im Gegensatz zu der von de Jager selbst an Phosphatlösungen gemachten Beobachtung, und obwohl nicht einzusehen ist, warum sich das aus Harn erhaltene Baryumurat anders verhalten sollte als das aus Phosphatlösungen gefällte, klärt de Jager diesen Widerspruch nicht auf.

Wie also aus dem eben Gesagten zu ersehen ist, enthält die Abhandlung de Jager's einige unklare Stellen, welche ihr Studium ungemein erschweren; dazu kommen noch Fehler, die zum Theil schon auf den ersten Blick als solche zu erkennen sind, und die durchaus nicht ein besonderes Vertrauen zu de Jager's Angaben zu erwecken vermögen. Es ist daher leicht begreiflich, dass de Jager's Kritik der Freund-Lieblein'schen Methode bisher nur wenig beachtet wurde, obwohl sie, wie ich oben gezeigt habe, zum grossen Theile das Richtige trifft. Nun geht aus meinen Ausführungen hervor, dass auch die Methode de Jager's durchaus nicht den Anforderungen entspricht, die an ein quantitatives Verfahren gestellt werden müssen. Die älteren Methoden, die für die Aciditätsbestimmung im Harn angegeben wurden, liefern nach Lieblein<sup>1)</sup> ebenfalls unrichtige Resultate, weshalb sich jetzt von Neuem das Bedürfniss nach einem richtigen Verfahren geltend macht.

Den Versuch eines solchen unternahm ich, von dem Gedanken ausgehend, dass durch  $\text{AgNO}_3$  bei Gegenwart von essigsaurem Natron aus sauren Phosphaten  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  ausgefällt werden kann (Holleman), und die so frei werdende Essigsäure, nach Entfernung des überschüssigen Silbers durch  $\text{NaCl}$  volumetrisch bestimmt, als Maass der Acidität angesehen werden könnte. Da ausserdem bekanntlich auch organische Verbindungen die Tendenz zur Bildung normaler Silbersalze haben, könnte auf diese Art die Gesammtheit der noch durch Metall vertretbaren Wasserstoffatome, also das ideale Maass der chemischen Acidität bestimmt werden. Leider führten einige Vorversuche nicht zum gewünschten Resultate, und aus äusseren Gründen mussten weitere Versuche unterbleiben.

<sup>1)</sup> Lieblein, a. a. O., S. 54.