

## Zur Bestimmung der Phenole im Rinderharn.

Von

Dr. P. Liechti, Vorstand und Dr. W. Mooser, Adjunkt der schweizerischen agrikultur-chemischen Anstalt Bern.

(Der Redaktion zugegangen am 27. Juni 1911.)

Vor einiger Zeit haben C. Neuberg und A. Hildesheimer verschiedene Einwände gegen unser Verfahren der Phenolbestimmung im Harn<sup>1)</sup> veröffentlicht.<sup>2)</sup> Denselben liegt die Behauptung zugrunde, daß eine Furfurolbildung bei der Destillation des Harns mit Phosphorsäure auftrete infolge des Zerfalls von gepaarten Glukuronsäuren und eigentlichen Kohlenhydraten bezw. Pentosen. Zum Schluß betonen die Verfasser die Notwendigkeit der Anwendung einer von Neuberg<sup>3)</sup> früher ausgearbeiteten Modifikation des Kossler-Penny-Verfahrens zur Phenolbestimmung im Harn.

Die Dürftigkeit des zur Widerlegung unserer Angaben aufgebrachten Beweismaterials (5 Bestimmungen) war nicht geeignet, uns von der Richtigkeit der obigen Behauptungen zu überzeugen. Wir haben uns daher bemüht, die Angaben Neubergs und Hildesheimers nachzuprüfen, und sind dabei zu ganz anderen Resultaten gekommen. Selbstverständlich lag für uns der Schwerpunkt dieser Prüfung im Nachweis des Einflusses, der nach jenen Angaben in bezug auf die Zuver-

<sup>1)</sup> Beitrag zur Chemie des Kuhharns und der Gülle, Landw. Jahrbuch der Schweiz, 1906, S. 580.

<sup>2)</sup> Die Bestimmung der Phenole im Rinderharn, Biochem. Zeitschrift, 1910, S. 525.

<sup>3)</sup> Über die quantitative Bestimmung des Phenols im Harn, Diese Zeitschrift, 1899, S. 123.

lässigkeit unserer Methode bestehen soll, was uns der kritischen Bewertung des angeführten Zahlenmaterials enthebt. Es handelte sich dabei um folgende Versuche.

## I.

1 g l-Arabinose wurde in 100 ccm 5%iger Phosphorsäure gelöst und die Lösung unter andauerndem Nachfüllen von jeweils ca. 25 ccm Wasser so lange destilliert, bis das Destillat ammoniakalisch-alkalische Silberlösung nicht mehr reduzierte. Resultat: Der Jodverbrauch des Destillats bewegte sich in den Fehlergrenzen der Methode.

1 g l-Arabinose wurde mit einer Kresollösung, enthaltend 0,0137 g p-Kresol in 250 ccm, unter Zusatz von 25 ccm sirupöser Phosphorsäure destilliert und die Bestimmung nach unserem Verfahren zu Ende geführt. Gefunden: 0,0138 g p-Kresol.

Bei einem Versuch, wobei dieselbe Kresolmenge in Wasser gelöst und die Lösung ohne weiteres nach Kossler-Penny titriert wurde, wurden 0,0139 g Kresol gefunden.

Fernere Wiederholungen bestätigten, daß ein Einfluß der Arabinose auf die quantitative Kresolbestimmung nicht nachweisbar ist.

## II.

1 g Traubenzucker wurde mit 250 ccm Wasser und 25 ccm sirupöser Phosphorsäure unter Nachfüllung von Wasser destilliert, bis das Destillat ammoniakalisch-alkalische Silberlösung nicht mehr reduzierte. Die Destillate der verschiedenen Bestimmungen wurden jeweils nach unserem Verfahren weiter behandelt. Hierbei ergab sich ein Jodverbrauch von 0,15 bis 0,8 ccm  $1/10$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,00027—0,0014 g p-Kresol.

1 g Traubenzucker wurde mit 250 ccm einer Kresollösung, enthaltend 0,056 bzw. 0,062 g p-Kresol, unter Zusatz von 25 ccm sirupöser Phosphorsäure destilliert und die Kresolbestimmung nach unserem Verfahren zu Ende geführt. Hierbei wurden gefunden 0,0559 bzw. 0,0619 g p-Kresol.



Bei direkter Titration derselben Kresolmengen nach Kossler-Penny wurden gefunden 0,0562 bzw. 0,0615 g  $\mu$ -Kresol.

Auch bei diesen Versuchen hat sich also ein Einfluß des Traubenzuckers auf die Genauigkeit unserer Kresolbestimmung nicht bemerkbar gemacht. Weitere Bestimmungen ergaben dasselbe Resultat.

Neuberg und Hildesheimer legen das Hauptgewicht ihrer Einwände auf den Nachweis des Furfurols in den Destillaten; sie bestimmen die Menge des Furfurolphloroglucids und schließen daraus auf die Untauglichkeit unseres Verfahrens. Merkwürdigerweise gaben sie sich nicht die Mühe, den Furfurolphloroglucidniederschlag zu reinigen und versäumten ferner, den Einfluß des Furfurols auf die quantitative Bestimmung der Phenole nach unserem Verfahren festzustellen. Die Bedeutung dieses Einflusses geht aus folgendem hervor.

Neuberg und Hildesheimer erhielten aus 200 ccm Bullenharn durch Salzsäuredestillation an Furfurolphloroglucid 0,0563 g und aus 250 ccm desselben Bullenharns durch Phosphorsäuredestillation 0,0504 g.

Wir haben die aus dem Mittel dieser Bestimmungen berechnete Furfurolmenge nach dem Verfahren von Kossler und Penny titriert und gefunden, daß die Titration keinen die Fehlergrenze der Methode überschreitenden Verbrauch an Jod ergab.

0,2 g Furfurol erforderten bei gleicher Behandlung 5,15 ccm  $^{1/10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0093 g  $\mu$ -Kresol.

0,8 g Furfurol erforderten eine Jodmenge, die 0,036 g  $\mu$ -Kresol, und

1 g Furfurol erforderte eine Jodmenge, die 0,0395 g  $\mu$ -Kresol entsprach.

### III und IV.

An Stelle von Versuchen mit Glukuronsäure, die unseres Erachtens wegen ihrer geringen Menge kaum in Betracht fallen kann, setzten wir den indirekten Beweis der Leistungsfähigkeit unseres Kresolbestimmungsverfahrens.

Von jeweils frisch gefaßtem Kuhharn wurden je zwei Proben von gleichem Gewicht nach Zusatz von etwas Kalilauge auf dem Wasserbad konzentriert. Vor der Destillation mit Phosphorsäure erhielt die eine Probe einen Zusatz von 1 g Dextrose, die andere dagegen wurde stets ohne Zuckerzusatz destilliert. Hierbei wurden folgende Ergebnisse erhalten:

		Gebrauchte $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung ccm	Berechneter Kresol- gehalt g
1. Probe 250 g Harn	mit Dextrose	80,22	0,1446
	ohne »	84,66	0,1526
2. Probe 250 g Harn	mit Dextrose	83,44	0,1504
	ohne »	87,2	0,1572
3. Probe 500 g Harn	mit Dextrose	203,2	0,3662
	ohne »	206,5	0,3721
	mit Dextrose	203,0	0,3658
	ohne »	205,0	0,3694

Aus allen bei diesen Untersuchungen erhaltenen Resultaten, denen wir noch weitere ähnliche angliedern könnten, geht mit Sicherheit hervor, daß die Beobachtungen von Neuberg und Hildesheimer die Verwendbarkeit unserer Methode nicht beeinflussen. Dagegen haben uns die gemachten Einwände genannter Autoren dazu geführt, die Zuverlässigkeit der von Neuberg vorgeschlagenen Modifikation der Kresolbestimmungsmethode im Harn eingehender zu untersuchen.

Nach Neubergs Angaben wird die durch Destillation mit Schwefelsäure erhaltene und über kohlen-saurem Kalk rektifizierte Flüssigkeit, welche neben den Phenolen noch Körper von Aldehyd- oder Ketonnatur enthält, mit einem großen Überschuß von lufttrockenem, hydratischen Bleioxyd (3 g), das mit Barytlösung aus Bleinitrat frisch zu fällen ist und 5 ccm einer konzentrierten Lösung von basischem Bleiacetat oder, statt beider, mit einer Auflösung von 1 g Ätznatron und 6 g festem Bleizucker versetzt und etwa 15 Minuten auf einem lebhaft siedenden Wasserbad erhitzt. Zur vollkommenen Entfernung der leicht flüchtigen Aldehyde erhitzt man den Kolbeninhalt



noch kurze Zeit am absteigenden Kühler auf freier Flamme, bis wenige Kubikzentimeter des übergelassenen Destillats ammoniakalisch-alkalische Silberlösung nicht mehr reduzieren, was gewöhnlich nach etwa 5 Minuten der Fall sein soll. Ein unnötig langes Erhitzen soll vermieden werden, da bei anhaltender Erwärmung die Bleiphenolate in ihre Komponenten zerfallen.

Diesem Verfahren haften nun zwei große Mängel an.

1. Die Unmöglichkeit des quantitativen Austreibens der Aldehyde durch nur kurz (5 Minuten) dauerndes Erhitzen über freier Flamme.

2. Die leichte Zersetzbarkeit der Bleiphenolate beim Erhitzen.

An Hand wiederholter Versuche mit Lösungen von bekanntem Kresol- und Furfurolgehalt, bei welchen genau nach der Vorschrift von Neuberg gearbeitet wurde, haben wir die Kresolverluste sowie die Unmöglichkeit der sofortigen Entfernung des Furfurols festgestellt. Um Mengen von Furfurol zu verflüchtigen, wie sie nach Neuberg und Hildesheimer bei Destillation von Rinderharn vorkommen sollen, ist ein längeres Erhitzen über freier Flamme als wie angegeben notwendig. Erhitzt man aber so lange, bis sämtliches Furfurol übergegangen ist, so können Kresolverluste eintreten, die den halben Betrag der vorhandenen Kresolmengen übersteigen.

Wir sind zu der Überzeugung gekommen, daß die Anwendung der Neubergschen Modifikation bei der Kresolbestimmung zu weit größeren Fehlern führt als die Nichtberücksichtigung der bei Verwendung von Phosphorsäure vorhandenen kleinen Furfurolmengen.

Wie wir nachweisen konnten, ist das bisher üblich gewesene Verfahren der Phenolbestimmung in Rinderharnen wie folgt abzuändern:

1. An Stelle der Schwefelsäure ist Phosphorsäure zu gebrauchen. Die Verwendung von Phosphorsäure verhindert das Auftreten des Urogons, welches Jod bindet und unseres Erachtens die Hauptmenge der die Phenolbestimmung gefährdenden jodbindenden Substanzen ausmacht. Sodann wirkt die

Phosphorsäure nicht auf das Kresol ein, was bei der Schwefelsäure der Fall ist. Endlich tritt bei Verwendung von Phosphorsäure die Abspaltung von aldehydartigen Körpern nicht in einer die Sicherheit der Phenolbestimmung beeinträchtigenden Weise auf.

2. Die Rektifikation der Harndestillate über kohlsauren Kalk hat unter Einleiten eines Kohlensäurestromes zu erfolgen. Hierdurch wird eine Bindung der Phenole durch den kohlsauren Kalk und ein damit verbundener Verlust an Phenolen vermieden.

Diese Tatsachen, auf denen sich unsere Vorschläge zur Bestimmung der Phenole im Harn aufbauen, sind von seiten unserer Kritiker offenbar nicht gewürdigt worden.