

Kleinere Mitteilungen.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 20. Dezember 1912.)

1. Über den Nachweis der Kieselsäure im Harn ohne Veraschung desselben.

Daß die Kieselsäure unter den anorganischen Bestandteilen des Harns nicht ganz fehlt, ist lange bekannt. Man konnte auch aus manchen Beobachtungen vielleicht schließen, daß ihre Quantität über Spuren hinausgeht. So findet man, wenn man behufs Bestimmung des Gesamtschwefels 25 ccm Harn mit Salpetermischung schmilzt, die Lösung der Schmelze mehrmals mit Salzsäure zur Trockne dampft, die rückständige Salzmasse in Wasser löst, diese Lösung getrübt durch Kieselsäure, eine Tatsache, die ich auch in meinem Praktikum der physiologischen Chemie¹⁾ erwähnt habe. Ebenso hat man lange gewußt, daß die Asche der Organe Spuren oder kleine Mengen von Kieselsäure enthält. Allein man hat auf diese Befunde keinen Wert gelegt, die Anwesenheit der Kieselsäure vielmehr als ganz irrelevant, sie gewissermaßen als Verunreinigung betrachtet. Erst seitdem Hugo Schulz durch eine Reihe von Untersuchungen gezeigt hat, daß die Quantität der Kieselsäure nach der Natur der Organe wechselt und daß die Kieselsäure ein charakteristischer Bestandteil des Bindegewebes ist, hat man diese Ansicht von der Gleichgültigkeit der Kieselsäure fallen lassen müssen.

¹⁾ 2. Auflage (1910), S. 264. Hier sind freilich 50 ccm Harn vorgeschrieben, in den späteren Auflagen nur 25 ccm. Allerdings besteht die Möglichkeit, daß ein Teil dieser Kieselsäure aus der Abdampfschale stammt, die bei wiederholtem Eindampfen der Salzsäure an diese wohl etwas Kieselsäure abgeben könnte; dahingehende Angaben liegen von Fresenius vor: Quant. Analyse, 6. Aufl., Bd. II, S. 798.

Vor kurzem hat nun Hugo Schulz¹⁾ auch den Harn in den Kreis seiner Kieselsäure-Untersuchungen gezogen.

Schulz hat zunächst an 14 aufeinanderfolgenden Tagen die Kieselsäure in der gesamten Tagesquantität seines Harns durch Veraschen von je 500 ccm Harn in einwandfreier Weise quantitativ bestimmt. Ihre Menge betrug danach zwischen 0,0614 und 0,2594 g pro Tag. Die niedrigen Werte fallen auf die Tage, an denen das gewohnte grobe, kleienhaltige Schwarzbrot in der Nahrung fehlte, der höchste Wert auf einen Tag, an dem eine gewisse Quantität von sehr kieselsäurereicher ungeschälter Hirse genossen wurde. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß der Gehalt des menschlichen Harns über die darin angenommenen «Spuren» hinausgeht.

Bei dieser Sachlage scheinen mir die nachstehenden Beobachtungen nicht ohne Interesse zu sein, welche zeigen, daß man die Kieselsäure aus dem Harn auch ohne die stets äußerst lästige und mühselige Veraschung des Harns isolieren, vielleicht auch quantitativ bestimmen kann.

Meine Beobachtungen gingen von dem von mir für den Nachweis resp. die Bestimmung der Oxalsäure im Harn geübten Verfahren aus und zwar von der Form, die ich in letzter Zeit diesem Verfahren gegeben habe.²⁾

Dieses Verfahren besteht darin, daß man 500 ccm Harn mit Ammoniak alkalisiert, mit Chlorcalciumlösung ausfällt, nun, ohne zu filtrieren, eindampft und mit Alkohol fällt, den Niederschlag abfiltriert, gut mit Alkohol auswäscht, dann in ca. 80—100 ccm verdünnter Salzsäure (1 Vol. Salzsäure von 1,126 D und 3 Vol. Wasser) auflöst und die filtrierte Lösung mit alkoholhaltigem Äther ausschüttelt. Dabei bleibt natürlich Harnsäure ungelöst zurück und auch Calciumsulfat, eventuell auch Reste von Calciumphosphat, das mitunter der Lösung etwas länger widersteht. Es war mir nun aufgefallen, daß der un-

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. 144 (1912), S. 350. Dasselbst auch die Zitate der früheren Arbeiten von Hugo Schulz über die Kieselsäure im Organismus.

²⁾ Praktikum der physiol. Chemie, 4. Auflage (1912), S. 174, und MacLean, Diese Zeitschrift, Bd. 60, S. 24.

gelöste Rückstand außer den genannten Substanzen augenscheinlich noch eine andere enthielt, die sich durch ihre äußere Beschaffenheit von den genannten Verbindungen unterscheidet. Ich vermutete in ihr bei der Schwerlöslichkeit des Calciumsilikates Kieselsäure und diese Vermutung bestätigte sich durch die weitere Untersuchung.

Die salzsaure Lösung wurde durch ein aschefreies Filter von 11 cm Durchmesser (Schleicher und Schüll Nr. 590) filtriert, so lange nachgewaschen, bis das Waschwasser nur noch sehr schwach sauer reagierte, dann das Filter getrocknet und samt dem Inhalt in der Platinschale verascht. Die Veraschung gelingt trotz der geringen Menge Substanz nur sehr schwer vollständig. Um sie zu befördern, wurde in einigen Fällen die kohlehaltige Asche zwischendurch mit einem Achatpistill verrieben, dieses dann mit aschefreiem Filtrierpapier abgewischt. Mitunter wurde auch die Kohle mit sehr wenig Salpetersäure durchtränkt und, zuerst sehr vorsichtig, weiter erhitzt. Zweckmäßig erwies es sich auch, die Platinschale mit einer zweiten, nicht ganz schließenden Platin- oder Quarzschale zu bedecken. Schließlich gelingt die vollständige Veraschung stets, es ist aber nicht nötig, diesen Punkt zu erreichen, eine geringe Beimischung von Kohle schadet nichts, da doch eine zweite eventuell sogar dritte Veraschung folgen muß.

Die rückständige Asche wurde mit einigen Kubikzentimetern Salzsäure übergossen, auf dem Wasserbad erwärmt, mit Wasser verdünnt und filtriert. Im Filtrat war stets noch Calcium, Phosphorsäure und Schwefelsäure nachweisbar. Der ungelöste Filterrückstand wurde sorgfältig gewaschen, das mit Alkohol und Äther getrocknete Filter aufs neue verascht und wiederum mit Salzsäure behandelt. Das nunmehr erhaltene Filtrat enthielt höchstens noch Spuren der genannten Verbindung oder nichts mehr davon. Es wurde nun wiederum die Salzsäure fortgewaschen, das Filter getrocknet und behufs Bestimmung der Quantität des ungelösten Rückstandes verascht.

Der erhaltene weiße Rückstand erwies sich nun, wie vermutet, als Kieselsäure. Er gab in der Phosphorsalzperle das bekannte Kieselsäureskelett, löste sich beim Schmelzen mit

Soda am Platindraht unter Entweichen von CO_2 zu einer glasigen Masse und gab keine merkliche Blaufärbung mit Kobaltnitratlösung¹⁾ vor dem Lötrohr, enthielt also kein Aluminium, an das man noch hätte denken können. Beim Erhitzen der Kieselsäure mit einem Überschuß von Fluorammonium in einer Platinschale blieb nur ein minimaler, nicht wägbarer Rückstand. In einigen Fällen wurde die Quantität der so erhaltenen SiO_2 bestimmt, sie ergab sich für 500 ccm Harn von 1017 D zu 0,0422—0,046—0,045 g.

Ich bemerke zu dem Verfahren des Nachweises noch folgendes:

1. Man könnte annehmen, daß die SiO_2 aus der Abdampfschale stammen könnte. Um diesen Einwand, der bei der geringen durch Ammoniak bewirkten Alkaleszenz des Harns recht unwahrscheinlich ist, möglichst auszuschließen, muß man zum Eindampfen eine Schale nehmen, deren Glasur ganz unangegriffen ist.

2. Hatte der Harn zufällig ein geringeres spezifisches Gewicht, so wurde dementsprechend eine größere Quantität angewendet, sodaß in jedem Fall das Produkt aus den beiden letzten Dezimalen des spezifischen Gewichts und der Harnmenge die Zahl 8500 ergab.

3. Das Eindampfen geschah anfangs auf freiem Feuer, was meistens ohne wesentliches Stoßen möglich war. Es schien mir, daß das Stoßen, das übrigens nur am Anfang eintrat und sich durch Rühren mit einem Nickelspatel²⁾ besänftigen ließ, weniger bemerkbar war, wenn man den Harn zuerst mit NH_3 und CaCl_2 fällte, dann erst die Mischung in die Schale brachte, als wenn man den Niederschlag in der Schale selbst bewirkte. Dampft man von vornherein auf dem Wasserbad oder Dampfbad ein, so ist die Gefahr der Aufnahme von SiO_2 aus der Schale jedenfalls noch geringer.

¹⁾ In dem alten, aber als sehr genau bekannten Handbuch von Rose-Finkener, 6. Auflage, Bd. I, S. 54, heißt es betreffs dieser Reaktion: «Auch die SiO_2 erzeugt mit Kobaltnitrat eine blaue Farbe, die aber lichter als die durch Tonerde erzeugte ist und durch einen größeren Zusatz von Kobaltnitratlösung dunkelgrau oder schwärzlich wird.» Genau so verhält sich die vorliegende Substanz und käufliche Kieselsäure. Die Handbücher von Fresenius und Treadwell, die mir gerade zur Hand sind, erwähnen nichts von einer Reaktion der SiO_2 mit Kobaltnitrat.

²⁾ Nebenbei sei bemerkt, daß der Nickelspatel, wenn man ihn längere Zeit in dem Harn verweilen läßt, einen schwarzen Beschlag zeigt, natürlich soweit er in den Harn eingetaucht war. Dieser Beschlag besteht aus Schwefelnickel, er löst sich in Salzsäure unter H_2S -Entwicklung.

4. Es wurde bis zum dünnen Sirup eingedampft — dabei ist sorgfältig darauf zu achten, daß an den Rändern der Flüssigkeit nichts eintrocknet, resp. das Eintrocknete durch erneutes Erwärmen und Benetzen mit der Harnmischung in Lösung zu bringen — und mit ca. 350 ccm Alkohol von 95—96% Tr. gefällt, mitunter, wenn das Eindampfen nicht weit genug gegangen zu sein schien, wurden noch 80—90 ccm Alkohol absolutus hinzugesetzt. Die Fällung bleibt bis zum nächsten Tage stehen.

5. Der Alkoholniederschlag wurde nicht auf dem Filter in der verdünnten Salzsäure gelöst, um etwaige Aufnahme von SiO_2 aus dem Filter — es war kein aschefreies Filter angewendet worden — auszuschließen.

Nachdem ich eine Anzahl derartiger Versuche ausgeführt hatte, legte ich mir die Frage vor, ob die Ausfällung mit $\text{NH}_3 + \text{CaCl}_2$ überhaupt nötig wäre, ob nicht vielmehr die Unlöslichkeit des Alkalisilikates, das man doch im Harn annehmen muß, in Alkohol groß genug wäre, um auch ohne diese Fällung den Nachweis von SiO_2 zu ermöglichen. Das ergab sich nun in der Tat, ja, es zeigte sich, daß für den einfachen Nachweis das direkte Eindampfen des Harns den Vorzug verdient.

500 ccm Harn wurden eingedampft und mit Alkohol gefällt, das Ganze in ein Cylinderglas gebracht. Von der klebrigen Fällung, die sich am nächsten Tag am Boden des Glases abgesetzt fand, wurde die alkoholische Lösung abgegossen, der Niederschlag mit Alkohol durchgerührt, auf ein aschefreies Filter gebracht, und mit Alkohol gewaschen, schließlich mit Äther getrocknet. Der Inhalt des Filters wurde in das Glas zurückgeschüttet und mit etwa 50 ccm der verdünnten Salzsäure (1 Volumen Salzsäure + 3 Vol. Wasser) durch vielfaches Rühren in Lösung gebracht, dann durch dasselbe Filter filtriert, das im Glase Verbliebene mit Wasser auf das Filter gebracht und mit Wasser solange nachgewaschen, bis das Waschwasser kaum noch sauer reagierte. Die Veraschung des getrockneten Filters gab von vornherein fast ganz reine weiße Kieselsäure, die an Salzsäure nur noch Spuren von Schwefelsäure abgab. Das Gewicht betrug in einem Falle 0,0218 g. Als diese SiO_2 nochmals mit Salzsäure behandelt usw., dann wieder gegläht wurde, war das Gewicht 0,0208 g. In dem zweiten salzsauren Auszug war keine Schwefelsäure mehr nachweisbar, die ge-

ringe Gewichtsabnahme — ein Milligramm — ist wohl auf mechanische Verluste zurückzuführen.

Könnte nun aber die gefundene SiO_2 nicht doch vielleicht aus der Abdampfschale stammen? Da ich bezüglich dieses Punktes doch nicht ganz beruhigt war, machte ich noch einen Versuch, bei dem 500 ccm Harn direkt in der Platinschale eingedampft, dann mit Alkohol gefällt und, wie oben beschrieben, behandelt wurden. In dem unter Erwärmen hergestellten salzsauren Auszug des Glührückstandes war nur eine letzte Spur Phosphorsäure nachweisbar, dagegen keine H_2SO_4 und kein Ca, das Gewicht der so gereinigten schneeweißen SiO_2 betrug 0,0496 g; nach nochmaliger Behandlung mit Salzsäure 0,0478 g.

Natürlich ist damit nicht gesagt, daß nicht ein Teil der bei Anwendung von Porzellanschalen zum Abdampfen erhaltenen Kieselsäure doch aus diesen stammen könnte. Dies würde sich nur durch vergleichende quantitative Bestimmungen feststellen lassen.

Es fragte sich nun, ob man nicht das eine oder das andere der beiden Verfahren auch zur quantitativen Bestimmung benutzen könne.

A priori kann man annehmen, daß hierzu das erste Verfahren, die Ausfällung mit CaCl_2 und NH_3 , geeigneter sein möchte, als das Verfahren des direkten Eindampfens, da das Calciumsilikat jedenfalls in Alkohol noch weniger löslich sein wird, als das Alkalisilikat, ebenso wie das für Wasser gilt, es fragt sich indessen, ob praktisch nicht auch die Löslichkeit des Alkalisilikates in Alkohol gleich Null gesetzt werden kann. Diese Frage muß als offen angesehen werden. Jedenfalls ist ein merklicher Verlust an Kieselsäure bei der ersten Etappe des Verfahrens, dem Eindampfen und der Fällung mit Alkohol, nicht anzunehmen. Dagegen läßt sich von vornherein vermuten, daß beim Behandeln des Alkoholniederschlages mit verdünnter Salzsäure etwas SiO_2 in die Salzsäure übergehen wird. Um diese Vermutung zu prüfen, wurde die abfiltrierte salzsaure Lösung in einer Platinschale nach Neutralisieren mit Natriumcarbonat möglichst zum Trocknen gedampft, der Rückstand mit Salpetermischung geschmolzen, die Schmelze in Wasser gelöst und

die filtrierte alkalische Lösung in der üblichen Weise durch Verdampfen mit Salzsäure, Erhitzen auf 110° usw. auf SiO_2 untersucht. Die schließlich erhaltene Lösung war nicht ganz klar, beim Stehen setzte sich etwas Kieselsäure ab, allerdings so wenig, daß eine quantitative Bestimmung nicht lohnend erschien. Es geht also etwas SiO_2 in der Tat in die salzsaure Lösung über.

Dagegen könnten gegen einen anderen Weg, nämlich den des Schmelzens des getrockneten Alkoholniederschlags mit Salpetermischung und Bestimmung der SiO_2 in dem alkalischen Filtrat in der üblichen Weise, wohl keine Einwendungen zu erheben sein, vorausgesetzt, daß der Alkoholniederschlag alle Kieselsäure enthält, was im höchsten Grade wahrscheinlich ist.

Das Schmelzen der Mischung muß, zur Vermeidung von Verlusten, sehr vorsichtig ausgeführt werden. Auf diesem Wege erhielt ich in einem Falle aus 500 ccm Harn 0,0426 SiO_2 , sie war indessen nicht ganz so rein, wie die ohne Anwendung des Schmelzverfahrens erhaltene, sondern ein wenig eisenhaltig, vermutlich infolge eines minimalen Eisengehaltes der angewendeten Materialien. Gegen die Genauigkeit dieses Verfahrens kann eingewendet werden, daß ein geringer Verlust unvermeidlich ist, wenn man den Alkoholniederschlag vom Filter nimmt. Das ist zuzugeben, der Fehler läßt sich aber ausschließen, wenn man zum Sammeln des Alkoholniederschlags ein aschefreies Filter nimmt — was im vorliegenden Falle nicht geschehen ist — und das Filter mitverbrennt. Übrigens fragt es sich noch, ob bei vergleichenden Bestimmungen nicht das einfache Abdampfen des Harns usw. vollauf genügend ist, ein Verfahren, das von vornherein bei wiederholter Veraschung mit dem Filter, Ausziehen des Rückstandes mit Salzsäure, Auswaschen, Glühen usw. eine nahezu völlig reine Kieselsäure liefert. Die erhaltene Kieselsäure ist als rein anzusehen, wenn ihre Quantität nach der Wägung durch nochmaliges Ausziehen mit Salzsäure, Auswaschen usw. und Wiederglühen nicht mehr als um höchstens 1 mg abnimmt. Dieser Gewichtsverlust kann wohl als mechanischer Natur angesehen werden. — Die vollständige Veraschung des die SiO_2 enthaltenden Filters ist

übrigens oft sehr schwer zu erreichen; man kann sie in bekannter Weise durch Andrücken der Kohle an die Platinschale befördern. Auch die Kieselsäure ist oft schwer ganz weiß zu bekommen.

Da mir zufällig eine größere Quantität des Alkoholniederschlages von Hundeharn und Kaninchenharn zur Verfügung stand, habe ich die Gelegenheit benutzt, um auch diese auf SiO_2 zu untersuchen.

Der erstere stammte von einem Hunde von 21,8 kg Körpergewicht, der reichlich mit Küchenabfällen gefüttert war. Der Harn wurde täglich eingedampft. Der in 2 Anteilen verarbeitete Alkoholniederschlag des Harns von 7 Tagen lieferte im ganzen 0,0612 SiO_2 . Es gelang in diesem Falle nicht, die SiO_2 ganz rein zu erhalten. Sie erschien nach dem Glühen zwar ganz weiß oder weiß mit einem kaum merklichen Rosa-Schimmer, gab auch beim Erwärmen mit Salzsäure nichts ab, wurde aber bei dem Übergießen mit Salzsäure deutlich rötlich, enthielt also augenscheinlich eine geringe Beimischung von Eisenoxyd, das sich nach dem starken Glühen in Salzsäure nicht mehr löste. Gerade an dieser Kieselsäure wurde eine sehr auffällige physikalische Erscheinung beobachtet, nämlich das gänzliche Fehlen der Adhäsion der SiO_2 an die glühende Platinschale. Wenn man dieselbe mit der Zange faßte und bewegte, schwamm die SiO_2 gewissermaßen in der Platinschale umher, indem sie den leisesten Bewegungen folgte. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich auch sonst vorhanden gewesen, jedoch nicht beachtet worden, fehlte indessen auch manchmal.

Zufällig bot sich mir Gelegenheit, den Harn desselben Hundes bei Fütterung mit 400 g Fleisch, 50 g Speck und 30 g Reis pro die zu untersuchen, als derselbe, zum Zweck der Abgrenzung der Faeces, Kieselgur erhalten hatte. Der in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn — 370 ccm — enthielt 0,0632 SiO_2 , nach dem einfachen Verfahren des Abdampfens, Fällens mit Alkohol usw. bestimmt. Die Beobachtung steht in Einklang mit der von H. Schulz mitgeteilten über die Vermehrung der SiO_2 im Harn beim Menschen nach der Aufnahme kieselsäurereicher Nahrung. Die Kieselsäure war diesmal frei

von Eisenoxyd, da der Harn nicht im Käfig aufgefangen, sondern durch den Katheter entleert war. Ich bemerke noch, daß die untersuchten Tierharn alle filtriert waren, beim menschlichen Harn ist dies nicht immer geschehen.

Der Alkoholniederschlag des Harns von einem mit Weißkohl gefütterten Kaninchen von $2\frac{1}{4}$ kg Körpergewicht, an 5 Tagen gesammelt, lieferte nur $0,019 \text{ SiO}_2$.

Bei den 5 untersuchten Proben menschlichen Harns wurden — allerdings nach verschiedenen Methoden — $0,0422$ — $0,0246$ — $0,045$ — $0,0478$ — $0,0208 \text{ SiO}_2$ —, im Mittel also $0,036$ aus 500 ccm erhalten.

Schätzt man die Tagesmenge Harn bei einem spezifischen Gewicht von 1017 auf 1500 ccm , so würde sich für die Tagesmenge rund $0,1 \text{ SiO}_2$ ergeben, ein Wert, der innerhalb der von H. Schulz gefundenen Zahlen liegt. Aus dem Maximum, das unter Vermeidung des Abdampfens in einer Porzellschale erhalten wurde, würden sich $0,1434 \text{ g}$ ergeben.

H. Schulz sagt am Schlusse seiner Arbeit: «Zu beachten ist schließlich der Umstand, daß man bei einer Analyse der Aschenbestandteile des Harns, wenn die Kieselsäure nicht völlig entfernt wird, dieser im weiteren Gang der Analyse wieder begegnen muß, was zu Fehlern von nicht vorher zu bemessender Größe führt, wenn es sich um Gewichtsbestimmungen handelt.»

Dem ist durchaus beizustimmen, ganz besonders für den Pflanzenfresserharn. Man begegnet da manchmal der SiO_2 an Stellen, wo man sie durchaus nicht erwartet hat. Ein Beispiel davon habe ich vor einiger Zeit mitgeteilt¹⁾. Der aus mit Essigsäure angesäuertem Rinderharn durch essigsäures Uran erhaltene Niederschlag enthielt nicht unerheblich SiO_2 , nämlich $0,14$ bezogen auf ein Liter. Natürlich ist dabei nicht alle Kieselsäure ausgefallen.

In neuester Zeit hat bekanntlich A. Zeller²⁾ mitgeteilt, daß nach seinen Beobachtungen innerlich verabreichte Kieselsäure nicht selten einen heilenden Einfluß auf Geschwülste, speziell Krebse ausübt. Wenn diese Angaben auch bisher keine

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 42, S. 224 und 228.

²⁾ Münchener med. Wochenschrift, 1912, Nr. 34.

Bestätigung erfahren haben, so liegt es doch nicht außerhalb des Bereiches der Möglichkeit, daß die Kieselsäure im Organismus auch eine gewisse allgemeine Rolle spielt.

Zum Schlusse bemerke ich noch, daß ich mich mit der Kieselsäure im Organismus nicht weiter zu beschäftigen gedenke, um nicht in das Arbeitsgebiet von Hugo Schulz einzugreifen.

Nach Abschluß der vorliegenden Mitteilung wurde zufällig noch eine Beobachtung gemacht, die ich nicht ganz unerwähnt lassen möchte. In einer Arbeit von Kojo¹⁾ ist am Schluß erwähnt worden, daß der durch Zinksulfat im Harn bewirkte Niederschlag sich unerwarteterweise als nicht unbeträchtlich harnsäurehaltig erwiesen hat. Diese Beobachtung ist von Dr. Kaschiwabara bei mir weiter verfolgt worden. Gleichzeitig wurde die Relation zwischen dem Gesamt-N und dem durch Zinksulfat fällbaren N festgestellt. Da diese sich auffallend niedrig ergab, wurde das Verfahren auf meinen Rat dahin abgeändert, daß die Mischung, die nach der Fällung mit Zinksulfat saure Reaktion angenommen hatte, durch Na_2CO_3 etwas alkalisiert wurde. Zur Untersuchung auf Harnsäure wurde der so erhaltene, sorgfältig gewaschene Niederschlag, da er sehr voluminös und wasserreich war, auf dem Wasserbad zur Trockene gedampft und der Rückstand mit Salzsäure behandelt. Die so erhaltene Harnsäure hinterließ beim Veraschen zwischen 2 und 6 mg SiO_2 aus 100 ccm Harn.

2. Über das Verhalten der Harnsäure zu Ammoniak und Magnesiumsalzen und die Bestimmung des Magnesiums im Harn.

Wenn man bei der Bestimmung der Harnsäure nach der Silbermethode so verfährt, wie ich es angegeben habe, d. h. 200 ccm Harn, dessen Konzentration nicht über etwa 1017 bis 1020 liegt, mit 50 ccm Magnesiummischung und 50 ccm Wasser versetzt, dann sofort filtriert, so enthält der Niederschlag keine Harnsäure, wenigstens findet eine Ausscheidung von Harnsäure im Niederschlag nicht statt innerhalb der Zeit, die erforderlich ist, um die für die Bestimmung gebrauchten 200 ccm Filtrat zu erhalten, da die Filtration bei geeignetem Papier (Schleicher & Schüll 604 oder 597) äußerst schnell erfolgt. Läßt man aber ein solches Filtrat 1—2 Tage stehen, so scheidet sich nachträglich noch etwas Ammoniummagnesiumphosphat aus, daneben aber gelbliche, an den Wänden des Glases hängende oder an der Oberfläche schwimmende Häute,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 73, S. 416.

die mikroskopisch aus knollenförmigen oder rundlichen Gebilden bestehen, an denen kaum etwas von radiärer Streifung zu sehen ist. Nicht selten findet man auch am Boden des Glases einen pulverigen Niederschlag von derselben Beschaffenheit. Von den sogenannten «Stechapelformen», welche als dem harnsauren Ammon zukommend betrachtet werden, ist nichts zu sehen.

Die Ermittlung der Zusammensetzung dieses Niederschlages stößt auf große Schwierigkeiten.

Der auf dem angegebenen Wege erhaltene Niederschlag ist zur Analyse selbstverständlich nicht zu brauchen, da er phosphorsaure Ammonmagnesia enthält. Läßt man aber die oben erwähnte Mischung aus Harn und Magnesiamischung zur vollständigen Abscheidung der phosphorsauren Ammonmagnesia 24 Stunden stehen, ehe man filtriert, so scheidet sich der größte Teil der Verbindung mit dem Ammoniummagnesiumphosphat ab. Man bekommt zwar aus dem Filtrat bei weiterem Stehenlassen noch eine Ausscheidung, dieselbe ist aber so gering, daß es mir auch bei Verwendung großer Harnmengen und Sammeln des Niederschlages aus verschiedenen Darstellungen nicht gelungen ist, soviel davon zu erhalten, daß eine quantitative Analyse ausführbar gewesen wäre. Es kommt noch der Übelstand hinzu, daß sich der Niederschlag beim Auswaschen mehr und mehr löst. Ich habe lediglich qualitativ nachweisen können, daß der fragliche Niederschlag Harnsäure, Ammoniak und Magnesia enthält, wie von vornherein wahrscheinlich war. Beim Glühen hinterbleibt stark alkalisch reagierendes Magnesiumoxyd.

Handelt es sich, wie man vermuten kann, um eine Verbindung von der Formel $Mg(NH_4)_2(C_5H_2N_4O_3)_2$? Um diese Frage zu entscheiden, habe ich versucht, eine derartige Verbindung künstlich herzustellen.

Es wurde zunächst 1 g Harnsäure in Wasser unter Zusatz von Natronlauge gelöst, die Lösung bis auf annähernd 1 Liter verdünnt, mit Essigsäure oder Salzsäure angesäuert, mit Ammoniak alkalisiert und auf 1 Liter aufgefüllt. Derartige ammoniakalische, Natriumacetat oder Natriumchlorid enthaltende Harnsäurelösungen halten sich tagelang unverändert.

Versetzt man eine solche Lösung mit einer relativ großen

Quantität Magnesiamischung — 50 ccm auf 1 Liter —, so bleibt sie innerhalb 24 Stunden unverändert, es tritt keine Ausscheidung ein. Anders, wenn man die Quantität der Magnesiamischung noch weiter steigert, z. B., wie bei der Harnsäurebestimmung, auf 200 ccm der Lösung 50 ccm Magnesiamischung nimmt, event., um bei den im Harn eingehaltenen Verhältnissen zu bleiben, noch 50 ccm Wasser hinzusetzt. Diese Mischungen trüben sich nach etwa einer Stunde oder auch später, und nach 24 Stunden findet man einen weißen Niederschlag ausgeschieden. Merkwürdigerweise tritt die Trübung und Ausscheidung schneller ein, wenn man statt der üblichen, Chloride enthaltenden Magnesiamischung eine solche anwendet, die statt Magnesiumchlorid und Ammoniumchlorid die betreffenden Nitrate in ungefähr den Chloriden entsprechenden äquivalenten Mengen enthält.

Die Untersuchung dieser abfiltrierten, zuerst mit Wasser, dann behufs Trocknung mit Alkohol und Äther gewaschenen Niederschläge — beim Waschen mit Wasser gehen sie übrigens zum Teil in Lösung — ergibt nun, daß sie, wie zu erwarten war, Harnsäure, Ammoniak und Magnesium enthalten, aber die Zusammensetzung des bei 100° bis zur Gewichtsinstanz getrockneten Niederschlages entspricht nicht der angegebenen Formel. Diese würde verlangen 6,12% Mg, 9,18% NH₄, 85,71% Harnsäure.¹⁾ Dagegen ergab sich der Magnesiumgehalt noch etwas unter 1%, der Harnsäuregehalt, bestimmt durch Digerieren einer abgewogenen Quantität mit Salzsäure usw. 88,02%, der Ammoniumgehalt im Filtrat von der Harnsäure 7,05%. Die Summe der bestimmten Bestandteile ergab statt 100 resp. 101¹⁾ nur 96,07%, die qualitative Untersuchung ergab noch einen Gehalt an Natrium.²⁾

¹⁾ Die Summe der Prozente beträgt natürlich etwas mehr als 100, nämlich 101,01.

²⁾ 0,6732 g des bei 110—115° getrockneten Niederschlages hinterließ beim Glühen nur 0,005 g MgO = 0,003 g Mg. — 0,3278 g Trockensubstanz mit Salzsäure übergossen, stehen gelassen, das Ungelöste nach 24 Stunden auf einem gewogenen Filter gesammelt usw., gab 0,2886 g Harnsäure. Filtrat und Waschwasser mit Natronlauge destilliert. Das Destillat neutralisierte 12,55 ccm $\frac{n}{10}$ -Säure = 7,05% NH₄.

Um dieses auszuschließen, wurde in einem folgenden Versuch zur Lösung der Harnsäure Piperazin (Diäthylendiamin) angewendet.

2 g Harnsäure wurde in 500 ccm Wasser suspendiert, auf dem Wasserbade erwärmt, die Harnsäure durch 10%ige Piperazinlösung in Lösung gebracht, filtriert, da noch etwas Harnsäure ungelöst geblieben war, Ammoniak hinzugesetzt, die stark alkalische Reaktion durch Zusatz von Salzsäure bis zur schwach alkalischen abgestumpft, nunmehr reichlich Magnesiummischung hinzugefügt. Der Niederschlag wurde nach 24 Stunden abfiltriert, zuerst mit Wasser gewaschen, dann behufs Trocknung mit Alkohol und Äther. Auch dieser Niederschlag enthielt nur äußerst wenig Magnesium.¹⁾

Auch durch Fällung einer konzentrierteren Lösung von Harnsäure in Piperazin mit Magnesiummischung gelangte ich nicht zum Ziele. Der erhaltene Niederschlag enthält allerdings etwas mehr Magnesium, nämlich 1,19%,²⁾ aber doch immer nur etwa $\frac{1}{5}$ der theoretischen Menge.

Eine nebenher gemachte Beobachtung möchte ich nicht ganz unerwähnt lassen.

Wenn man zwei parallele Versuche mit der oben erwähnten, 0,1%igen, Natron, Ammoniak und Chlorammonium enthaltenden Harnsäurelösung anstellt, indem man zu 200 ccm derselben 50 ccm Magnesiummischung und 50 ccm Wasser hinzusetzt, zu anderen 200 ccm nicht Magnesiummischung, sondern eine Lösung, welche ebensoviel Chlorammonium und Ammoniak enthält wie diese (70 g NH_4Cl und 300 ccm 12%iges Ammoniak im Liter), so sieht man, daß diese letztere Mischung sich konstant schon nach wenigen Minuten trübt und bald einen weißen Niederschlag von Ammoniumurat in greifbarer Menge ausscheidet, die magnesiumhaltige sich dagegen erst nach einer halben bis ganzen Stunde zu trüben anfängt. Der Magnesiumgehalt verzögert also die Ausscheidung des Ammoniumurats.

Schließlich schlug ich noch folgenden Weg ein. Ich dachte mir, daß an dem geringen Magnesiumgehalt der Umstand schuld sein könne, daß bei den bisherigen Darstellungsversuchen die Ammonsalze in zu überwiegender Quantität vorhanden waren,

¹⁾ 0,4744 g der bei 110—115° getrockneten Substanz hinterließ beim Glühen nur 0,0060 g MgO.

²⁾ 0,5572 g bei 110° getrocknet gaben 0,0106 g MgO.

sodaß es sofort oder doch sehr schnell zur Ausscheidung des außerordentlich schwerlöslichen harnsauren Ammons kam und für die Bildung der Magnesiumverbindung nicht mehr genug Harnsäure disponibel blieb. Ich suchte also die Quantität der Ammonsalze und des Ammoniaks möglichst herabzusetzen. — Es wurde folgendermaßen verfahren.

2 g krystallisiertes Magnesiumchlorid wurden in ca. 50 ccm Wasser gelöst und die Lösung so lange mit 10%iger Piperazinslösung versetzt, als noch eine weitere Trübung zu bemerken war, das ausgeschiedene Magnesiumhydroxyd dann durch möglichst geringen Zusatz von Chlorammoniumlösung in Lösung gebracht. Dies gelang leicht, die Lösung war allerdings nicht absolut klar, sondern leicht getrübt. — Andererseits wurden 2 g Harnsäure mit 60 ccm 5%iger Piperazinslösung in der Reibschale gut verrieben, dann in ein Becherglas übertragen. Beim Erhitzen bis zum Sieden unter vielfachem Umschwenken erfolgte völlige Lösung. In diese wurde die wie oben angegeben hergestellte Magnesiummischung hineingegossen: es entstand sofort ein dicklicher Brei. Nach dem Erkalten wurde derselbe durch Wasserzusatz verdünnt, dann abgenutscht, einigemal mit kaltem, destilliertem Wasser gewaschen, dann auf der Nutsche mit Alkohol und Äther entwässert. Es wurde so ein kreydiges, in Wasser äußerst schwer lösliches Pulver erhalten, dessen Analyse¹⁾ folgendes ergab:

Die Mg-Bestimmung ergab 6,06 resp. 6,04% Mg (erfordert für die angenommene Formel 6,12%), auch der Harnsäuregehalt stimmte leidlich: 83,29% (verlangt 85,71%, das Defizit erklärt sich hinlänglich durch die Löslichkeit der Harnsäure); dagegen ergab die Bestimmung des Ammoniaks im Filtrat von der Harnsäure nur 0,95% NH_4 statt 9,18%.

Auch weitere Versuche mit gesteigertem Chlorammoniumgehalt, wobei sich der durch Piperazin in der Chlormagnesium-

¹⁾ 0,5642 g bei 110° getrocknet hinterließen beim Glühen 0,0568 g MgO. — 0,4810 g lufttrocken gaben 0,390 g Trockensubstanz (bei 110°) und hinterließen beim Glühen 0,0394 g MgO. — 0,5704 g lufttrocken gaben 0,3906 g Harnsäure. Das Filtrat + Waschwasser, mit NaOH destilliert; es wurden nur 2,5 ccm $\frac{n}{10}$ -Säure neutralisiert.

lösung erzeugte Niederschlag völlig löste, und Fraktionierung der Niederschläge nach ihrer Löslichkeit gaben kein befriedigendes Resultat —. Der Magnesiumgehalt war zu gering (2,62% und 3,81%), und ebenso der Ammoniakgehalt, sodaß von der Ausführung von Einzelheiten abgesehen werden kann. Es muß dahingestellt bleiben, ob es sich bei den Niederschlägen um Gemische von harnsaurem Ammon mit harnsaurer Magnesia oder von harnsaurem Ammon mit Ammonmagnesiumurat handelt. Möglicherweise enthalten die Verbindungen auch statt Ammonium Piperazin. Es schien mir nicht lohnend, diesen Punkt noch weiter zu verfolgen. —

Gänzlich negativ verlief der Versuch, die betreffende Verbindung durch Zusatz von Chlorammoniumlösung zu einer heiß gesättigten Lösung von harnsaurer Magnesia zu erhalten (Harnsäure mit frischgefälltem Magnesiumhydroxyd gekocht, heiß filtriert). Der beim Erkalten sich ausscheidende Niederschlag bestand aus harnsaurem Ammon und enthielt nur Spuren von Magnesium.

Es fragt sich nun, ob und inwieweit diese Verhältnisse von Einfluß sind auf die direkte Bestimmung des Magnesiums im Harn ohne Veraschen.

Wenn man in der üblichen Weise aus dem Filtrat der Calciumbestimmung von 200 ccm Harn mittlerer Konzentration die phosphorsaure Ammonmagnesia durch Übersättigen mit Ammoniak und 24stündiges oder 48stündiges Stehen zur Abscheidung bringt und den aufs Filter gebrachten Niederschlag mikroskopisch untersucht, so sieht man, daß derselbe nicht allein aus den Krystallen von Ammonmagnesiumphosphat besteht, sondern gelbliche Kugeln und Knollen beigemischt enthält, die denen sehr ähnlich sind, die sich aus dem mit Magnesiummischung im Überschuß versetzten Harn ausscheiden. Oft erscheint auch der Niederschlag auf dem Filter bei bloßer Betrachtung gelblich. Die Quantität der beigemischten Substanz ist wechselnd und hängt, wie es scheint, abgesehen von dem Harnsäuregehalt des Harns an sich, davon ab, wieviel Harnsäure bei der vorausgegangenen Calciumbestimmung durch die zugesetzte Essigsäure zur Ausscheidung gekommen ist, was

bekanntlich sehr wechselnd ist. Der «Ammonmagnesiumphosphatniederschlag» gibt ferner Murexidreaktion. Bei dem Versuch, die Ausscheidung quantitativ auf das Filter zu bringen, zeigt sich oft die die Wände des Glases bedeckende Ausscheidung so fest haftend, daß sie sich mit dem Gummiwischer nicht loslösen läßt. Diese Ausscheidung löst sich nicht in Salzsäure, wohl aber nach der Behandlung mit Salzsäure in Pipera-zinlösung, enthält also Harnsäure.

Wäscht man den Niederschlag auf dem Filter mit verdünntem Ammoniak (1 Vol. Ammoniak von ca. 12%, 3 Vol. Wasser) aus, so löst sich die Beimischung allmählich auf und nach vollständigem Auswaschen bis zum Verschwinden der Salzsäurereaktion im Filtrat ergibt die mikroskopische Untersuchung meistens völliges Freisein des Ammonmagnesiumphosphats von der erwähnten Beimischung. So ist das Verhalten des Harns in der Regel, mitunter ist aber die «Beimischung» auch nur gering. In diesem Falle pflegen sich beim Stehen des Filtrates von der Magnesiabestimmung harnsäurehaltige Ausscheidungen zu bilden.

Nach den früheren Ausführungen ist es wahrscheinlich, daß diese Ausscheidungen nicht nur aus harnsaurem Ammon bestehen, sondern auch Magnesium enthalten.

Um zu sehen, ob dieser, durch die Ausscheidung von magnesiumhaltigem Ammoniumurat und die Lösung desselben in verdünntem Ammoniak verursachte, Fehler in quantitativer Beziehung in Betracht kommt, wurden zunächst Filtrat und Washwasser einer Magnesiumbestimmung mit Silberlösung gefällt und der so erhaltene Niederschlag genau so wie bei der Bestimmung der Harnsäure nach dem Silberverfahren behandelt. Das salzsaure Filtrat von der Harnsäure wurde mit Ammoniak alkalisiert, vor einer Trübung abfiltriert, dann mit Natriumphosphatlösung versetzt. Am nächsten Tage fand sich ein an den Wänden des Glases haftender Niederschlag von Ammonmagnesiumphosphat in typischer Form (mikroskopisch).

Zwei weitere Versuche wurden durch Veraschung des gesamten Filtrates und der Washwasser durchgeführt. Die Veraschung geschah in der üblichen Weise: die mit Wasser

extrahierte Kohle wurde aufs neue verascht und die Asche in verdünnter Salzsäure gelöst. Dabei blieb etwas Kieselsäure ungelöst zurück. Der vereinigte wässerige und salzsaure Auszug wurde eingedampft, mit Ammoniak alkalisiert, mit Essigsäure angesäuert und zur Entfernung von etwa noch vorhandenen Calciumsalzen mit etwas Ammonoxalat versetzt. In der Tat fanden sich am nächsten Tag noch Spuren von oxalsaurem Kalk ausgeschieden. Das Filtrat wurde aufs neue ammoniakalisch gemacht. Dabei schieden sich Flocken aus, die Kieselsäure gewesen sein mögen. Es wurde wiederum filtriert und Natriumphosphat hinzugesetzt. Die Quantität des nach 24 Stunden ausgeschiedenen Niederschlages war sehr gering, fast innerhalb der Fehlergrenzen.

In dem ersten Versuch betrug die Quantität des direkt erhaltenen $Mg_2P_2O_7$ 0,0833, des aus dem Filtrat + Waschwasser erhaltenen 0,0005 g, im zweiten sind die entsprechenden Zahlen 0,1063 g und 0,0008 g. Man ist danach wohl berechtigt zu sagen, daß das Magnesium sich ohne merklichen Fehler im Harn direkt bestimmen läßt, die Veraschung überflüssig ist.

3. Zur Bestimmung des Eisens in Gegenwart organischer Substanzen.

In manchen Fällen, in denen die Quantität des Eisens neben der organischen Substanz nicht zu gering ist, z. B. in Verbindungen desselben mit eiweißartigen Körpern, ist es sehr bequem, das Eisen durch Schmelzen mit Salpetermischung in Eisenoxyd überzuführen. Vorausgesetzt ist dabei, daß die Verbindung oder das Gemisch frei ist von Calcium- oder Magnesiumphosphat oder anderen in Natriumcarbonat-unlöslichen Verbindungen. Man hat dann nur nötig, die Substanz mit dem 20–30fachen ihres Gewichtes Salpetermischung, natürlich gut durchgemischt, vorsichtig zu schmelzen, die Schmelze im Wasser zu lösen und das Eisenoxyd auf einem aschefreien Filter zu sammeln. Falls die Substanz gleichzeitig Schwefel oder Phosphor enthält, kann man diese aus derselben Quantität Substanz in dem alkalischen Filtrat als Schwefelsäure bzw. Phosphorsäure bestimmen.

Dabei macht sich nun oft ein Übelstand bemerkbar. Wenn man das Eisenoxyd auswäscht, fängt es ganz gewöhnlich an, durch das Filter zu gehen und die Bestimmung ist verloren. Ich habe nun gefunden, daß dieser Übelstand nicht eintritt, wenn man statt mit Wasser mit 10—15%iger Lösung von Ammonnitrat auswäscht, diese Lösung auch schon zum völligen Aufbringen des Eisenoxyds auf das Filter statt Wasser benutzt. Es empfiehlt sich, diese Lösung nicht mit der Spritzflasche aufzuspritzen, sondern das Filter nach jedesmaligem Ablaufen der Waschflüssigkeit vorsichtig randvoll mit Ammoniumnitratlösung zu gießen, da sonst doch leicht etwas Eisenoxyd durch das Filter gehen könnte. Daß das Filter schließlich mit Ammonnitrat imprägniert ist, schadet nichts, indessen pflege ich, um nicht gar zu viel salpetersaures Ammon in dem getrockneten Filter zurückzubehalten, den größten Teil desselben zu verdrängen, indem ich das Filter nach Beendigung des Auswaschens einmal voll Alkohol gieße.

Sehr häufig zeigt die benutzte Platinschale durch ihre bräunliche Färbung, daß etwas Eisenoxyd an ihr festhaftet, das sich auf mechanischem Wege nicht aus derselben entfernen läßt, man muß diese Reste in Lösung bringen, indem man etwas Salzsäure in die Platinschale bringt und einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt. Selbstverständlich ist dabei vorausgesetzt, daß die Platinschale absolut frei ist von etwa anhängendem Nitrat oder Nitrit. Durch Übersättigen mit nicht zuviel Natronlauge und Erwärmen auf dem Wasserbade gelangt das Eisen als Hydroxyd zur Ausscheidung. Ich pflege dabei so zu verfahren, daß ich zuerst die Schmelze in Wasser löse und diese Lösung samt dem suspendierten Eisenoxyd in eine Porzellanschale übertrage, dann erst den Rest des Eisens zur Abscheidung bringe und mit der Hauptmenge vereinige. Das ist besser, als wenn man gleich filtriert und dann die alkalische, den Rest des Eisens als Hydroxyd suspendiert enthaltende Flüssigkeit auf das Filter bringt.

Wenn man vorsichtig verfährt, kann man das Filter samt dem Eisenoxyd in einem offenen Tiegel, selbst in der Platinschale verbrennen; man erhält das Eisenoxyd so als lebhaft

hellrotes Pulver. Reduktion findet, vielleicht dank der Gegenwart von salpetersaurem Ammon, nicht statt oder etwa gebildetes Oxydul oxydiert sich vollständig.

Bei einem Gehalt der Verbindung oder des Gemisches an Erdphosphaten oder sonstigen in Natriumcarbonat unlöslichen Verbindungen ist dieser einfache Weg natürlich nicht anwendbar. Man muß dann zur Trennung von diesen das Eisenoxyd in Lösung bringen. Das gelingt nicht etwa durch Aufgießen von Säuren auf das Filter, es ist vielmehr eine länger dauernde Einwirkung der Säure erforderlich. Zu diesem Behuf verbrennt man das ausgewaschene Filter samt dem Eisenoxyd und eventuell Calciumcarbonat in der Platinschale. Man darf nicht zu lange und zu energisch glühen, da sich das Eisenoxyd dann bekanntlich schwer in Säuren löst.

Am einfachsten ist es dann wohl, den Rückstand in Schwefelsäure (4 Vol. H_2SO_4 , 1 Vol. Wasser) unter Erwärmen zu lösen, die verdünnte Lösung mit Zink zu reduzieren und mit Kaliumpermanganat zu titrieren.

Handelt es sich aber nur um vereinzelte Bestimmungen, so ist es vielleicht bequemer, das Eisen in Ferriphosphat überzuführen, vorausgesetzt, daß nur kleine Mengen von Eisen vorhanden sind, denn das Ferriphosphat hat recht unerquickliche Eigenschaften.

Will man dieses Verfahren einschlagen, so löst man den im wesentlichen aus Eisenoxyd bestehenden Rückstand in Salzsäure, setzt zu der verdünnten Lösung¹⁾ einige Kubikzentimeter Natriumphosphatlösung, alkalisiert mit Ammoniak, säuert mit Essigsäure bis zur unzweifelhaft sauren Reaktion an, filtriert am nächsten Tage.

Dieses Verfahren scheint in neuerer Zeit etwas in Mißkredit gekommen zu sein — in den neueren analytischen Handbüchern wird es kaum noch erwähnt. Das rührt in erster Linie wohl davon her, daß das $FePO_4$ anfangs zwar erträglich filtriert, allmählich aber immer schlechter und schlechter, dann aber auch daher, daß der Niederschlag bei fortgesetztem Waschen

¹⁾ Zweckmäßig erhitzt man sie vor der Fällung mit einigen Tropfen Salpetersäure, um sicher zu sein, daß sie kein Oxydul enthält.

sehr leicht etwas Phosphorsäure abgibt. Meiner Erinnerung nach empfiehlt Rose zum Auswaschen eine Lösung von Ammoniumacetat. Angaben über die erforderliche Konzentration sind mir nicht bekannt. Ich habe eine sich mir bietende Gelegenheit benutzt, um einige Versuche hierüber anzustellen.

Ein durch Veraschen von Kaninchenfaeces (ohne Erhitzen mit Salpetermischung) und Lösen der Asche in Salzsäure, Filtrieren erhaltene Lösung wurde auf 250 ccm aufgefüllt.

1. 50 ccm lieferten beim Auswaschen mit 10%iger Ammoniacetatlösung 0,0358 FePO_4 , das Waschwasser enthielt mit Molybdänlösung nachweisbar Phosphorsäure zu einer Zeit, als die Reaktion mit Salpetersäure und Silbernitrat schon negativ geworden war. Dieses Verhalten beweist zwar nicht direkt die Abgabe von Phosphorsäure, macht sie aber doch wahrscheinlich.

2. 50 ccm lieferten beim Auswaschen mit einer 10%igen Lösung von essigsaurem Ammon in 5%iger Essigsäure:



Die Essigsäure hat also schädlich gewirkt.

3. 50 ccm lieferten beim Auswaschen mit 20%iger Ammoniacetatlösung 0,0368 FePO_4 .

4. 50 ccm gaben beim Auswaschen mit 30%iger Lösung 0,0371 FePO_4 .

Auch in diesem Falle waren im Waschwasser Spuren von Phosphorsäure nachweisbar.

Die vorstehenden Bestimmungen waren nun so ausgeführt, daß bis zum Verschwinden der Chlorreaktion gewaschen wurde, dann noch 1 oder 2 mal mit Ammoniacetatlösung. In anderen Versuchen wurde das Waschen noch einigemal darüber hinaus fortgesetzt¹⁾ (stets mit 30%iger Ammoniacetatlösung): stets war im Waschwasser Phosphorsäure nachweisbar und ich konnte dementsprechend den Verdacht nicht unterdrücken, daß diese Phosphorsäure aus dem Ferriphosphat stammte. Ob dieses in der Tat der Fall ist, gibt sich an dem Aussehen des Ferriphosphats nach dem Glühen zu erkennen. Während das Ferri-

¹⁾ Eine äußerst lästige Prozedur, da der lange gewaschene Niederschlag allmählich fast ganz undurchlässig wird.

phosphat alsdann graublau aussieht, war das nach langem Waschen erhaltene rötlich, enthielt also zweifellos Eisenoxyd.

Das Mißtrauen gegen die Methode ist also in der Tat gerechtfertigt, da man nie weiß, wann man mit dem Waschen aufhören soll. Um über diesen Punkt einigermaßen ins klare zu kommen, stellte ich folgenden Versuch an. Es wurden 10 ccm Salzsäure von 1,126 D und 10 ccm einer 10%igen Lösung von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{H}_2\text{O}$ gemischt, mit Ammoniak überneutralisiert, dann wiederum mit Essigsäure angesäuert, die Mischung durch ein aschefreies Filter von Schleicher und Schüll 590 von 11 cm Durchmesser filtriert und mit 30%iger Ammonacetatlösung chlorfrei gewaschen. Das Filter einmal voll Alkohol absolut. gegossen, dann getrocknet und in einer Platinschale verascht. Es blieb ein kaum sichtbarer, nicht wägbarer Rückstand. Es wurden einige Kubikzentimeter Salpetersäure von 1,2 D in die Schale gegossen, leicht erwärmt, etwas verdünnt, in 2 Teile geteilt. Die Lösung blieb mit Silbernitratlösung absolut klar, gab keine Reaktion mit Molybdänlösung. Man kann sich demnach bei der Bestimmung des Eisens als Ferriphosphat darauf beschränken, nur so lange zu waschen, bis das Waschwasser chlorfrei ist. Befürchtet man, daß das nach diesem Verfahren erhaltene Ferriphosphat doch noch etwas Natriumphosphat enthalten könnte, so läßt sich das Ferriphosphat leicht darauf prüfen, indem man es mit heißem Wasser auszieht; geglühtes Ferriphosphat gibt in Wasser keine Phosphorsäure ab oder höchstens eine minimale Spur. Enthält das Filtrat Phosphorsäure oder Metaphosphorsäure, so läßt sich die Bestimmung allenfalls noch retten, indem man das Ferriphosphat mit Wasser auszieht, einen abgemessenen Teil des Filtrates auf Phosphorsäure prüft, den übrigen Teil eindampft und glüht, das zurückbleibende Natriumpyrophosphat wägt und von dem Gewicht des Ferriphosphats abzieht. Der umgekehrte Fehler, der sich durch rötliches Aussehen des Glührückstandes, wenn auch nur an einigen Stellen, zu erkennen gibt, ist dagegen nicht zu verbessern.

Man könnte übrigens auch von dem Gebrauch des Natriumphosphats ganz absehen und statt dessen Phosphorsäure selbst anwenden. Man kann dann wohl darauf rechnen, daß etwa

noch vorhandene Spuren von Ammoniumphosphat beim Glühen unschädlich werden, indem das Ammoniak entweicht, die Phosphorsäure durch die Filterkohle zu Phosphor reduziert wird.¹⁾

4. Über den störenden Einfluß von Alkohol auf einige Reaktionen.

1. Wenn man zu einigen Kubikzentimetern einer 0,1%igen Jodkaliumlösung im Reagenzglas etwa ebensoviel Chloroform setzt, dann etwas verdünnte Schwefelsäure und einige Tropfen einer 1—2%igen Natrium- oder Kaliumnitritlösung, so färbt sich das Chloroform beim Umschütteln bekanntlich tief violett. Setzt man nun Alkohol absolutus hinzu, etwa in demselben Volumen wie das Chloroform (und die Jodkaliumlösung vor dem Ansäuern) und schüttelt durch, so nimmt das Chloroform eine ganz uncharakteristische orange- oder rotgelbe Färbung an.

Wendet man etwa das halbe Volumen Alkohol an, so ist der Farbenton der Chloroformlösung orange nach rot hin, bleibt aber durchaus uncharakteristisch.

Diese Tatsache ist meines Wissens nicht bekannt, die Unkenntnis derselben kann zu Mißdeutungen führen, wenn die auf Alkalijodid zu prüfende Lösung zufällig Alkohol enthält, denn natürlich sind die Erscheinungen ebenso, wenn man zu der KJ-Lösung vorher etwas Alkohol hinzufügt.

Um den Einfluß anderer Lösungsmittel bequemer prüfen zu können, wurde aus 50 bzw. 100 ccm einer 0,1%igen KJ-Lösung das Jod durch H_2SO_4 und $NaNO_2$ in Freiheit gesetzt und im Schütteltrichter in 50 bzw. 100 ccm Chloroform übergeführt.

Bei Zusatz des halben Volumens von Methyl-,²⁾ Äthyl-, Amylalkohol, Essigäther,³⁾ Aceton ging die violette Farbe des Chloroformes in Gelbrot über — mit kleinen Differenzen in der Färbung, die nicht besonders berücksichtigt wurden —, das halbe Volumen Benzol, Toluol, Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther ließ die violette Färbung unverändert.

¹⁾ Ammoniumphosphat ist bekanntlich beim Glühen nicht unzerlegt flüchtig.

²⁾ Methylalkohol schien etwas schwächer zu wirken wie Äthylalkohol, wenigstens bei der ersten Form der Versuchsanstellung.

³⁾ Die Mischung des Essigäthers mit Chloroform ist trüb.

Auch vorheriges Durchschütteln der Jodkaliumlösung mit Äther ist nicht ganz ohne Einfluß.

Wie diese Erscheinung zu erklären sei, vermag ich nicht zu sagen, es wird sich auch schwer eine Erklärung finden lassen. Beim Ausschütteln der durch Alkoholzusatz gelb gewordenen Chloroformlösung mit Wasser stellt sich die rote Färbung mehr oder weniger vollständig wieder her.

2. Wie ich aus dem Jahresbericht für Pharmacie für 1911, S. 156 ersehe, hat Linke (Apotheker-Zeitung 1911, Bd. 26, S. 994) beobachtet, daß die Reaktion der Salicylsäure mit Eisenchlorid durch Alkoholzusatz an Empfindlichkeit verliert. Ich habe mich davon nicht recht überzeugen können, erheblich kann der störende Einfluß jedenfalls nicht sein.

Außerordentlich stark ist die Beeinträchtigung der Reaktion des Phenols mit Eisenchlorid. Eine 1%ige Lösung, die sich mit Eisenchlorid noch ziemlich tief blau färbt, verändert bei Zusatz von $\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol die Farbe in schwach bläulich, selbst schmutzig grün. Auch bei 2%igen Lösungen ist der Einfluß noch sehr bemerkbar. Eine durch Eisenchlorid blau gefärbte Phenollösung von 0,5% wird bei Zusatz von $\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol gelbgrün, schon $\frac{1}{4}$ Volumen beeinträchtigt die Reaktion sehr erheblich, noch größer ist der Einfluß bei Phenollösungen von 0,25%. Am nächsten Tage erscheinen die mit Alkohol versetzten Reaktionsmischungen auch bei 1%iger Phenollösung rein gelb.

5. Über die bakterielle Reduktion der Sulfate zu Sulfiden.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit äußern sich Sasaki und Otsuka¹⁾ über diesen Punkt unter Nr. 5 der «Zusammenfassung»:

«Aus Taurin vermögen Bakterien keinen Schwefelwasserstoff zu entwickeln, bekanntlich auch nicht aus Sulfaten.»

Dieser Satz steht, soweit er die Sulfate betrifft, im Wider-

¹⁾ Experimentelle Untersuchungen über die Schwefelwasserstoffentwicklung der Bakterien aus Cystin und sonstigen Schwefelverbindungen, Biochem. Zeitschrift, Bd. 39, S. 208.

spruch mit Ergebnissen, zu denen ich seinerzeit in einer Arbeit: «Über die Entwicklung von Schwefelwasserstoff im Harn usw.»¹⁾ gelangt bin. Da diese Arbeit 25 Jahre zurückliegt, so ist es erklärlich, daß sie den Autoren entgangen ist, ebenso wie die noch weiter zurückliegende Literatur über diesen Gegenstand, die ich l. c. angeführt habe. Ein Vorwurf ist den Autoren deswegen nicht zu machen, es erscheint mir aber doch angebracht, auf den Gegenstand an dieser Stelle zurückzukommen.

In der erwähnten Arbeit habe ich zunächst den Nachweis geführt, daß die Muttersubstanz des H_2S in Übereinstimmung mit der Ansicht von Fr. Müller²⁾ und im Gegensatz zu den negativ ausgefallenen Versuchen von Rosenheim und Gutzmann der sogenannte neutrale Schwefel des Harns ist. Der Beweis wurde sehr einfach dadurch geführt, daß ich aus normalem Harn die Schwefelsäure durch Baryumchlorid völlig entfernte, dann aus dem Filtrat das überschüssige Baryum ausfällte und nunmehr das genau neutralisierte Filtrat nach Zusatz einiger Tropfen von Natriumphosphat (Na_2HPO_4) mit Schwefelwasserstoffbakterien impfte: es trat Schwefelwasserstoffentwicklung ein.

Was die Reduktion der Sulfate zu Sulfiden durch Bakterien im allgemeinen betrifft, so sei es mir gestattet, meine damaligen Beobachtungen in extenso mitzuteilen, um sie der Vergessenheit zu entreißen. Es heißt l. c.: «daß gewisse Fäulnisbakterien unter bestimmten Bedingungen auch diese, sehr viel schwierigere Reduktionsarbeit (nämlich der Sulfate zu Sulfiden) zu vollbringen vermögen — welche durch naszierenden Wasserstoff unter keinen Umständen gelingt, ja überhaupt durch kein chemisches Mittel in wässerigen Lösungen —, ist unzweifelhaft.

Es ist mir lange bei den Untersuchungen der städtischen Spüljauche aufgefallen, daß der Gehalt dieser Flüssigkeit an schwefelsauren Salzen ein ganz regelloser ist. Der Gehalt daran steht in keiner Beziehung zu der etwas wechselnden Konzentration der Spüljauche, dagegen in einem unverkennbaren Zusammenhang mit dem Grade der Fäulnis. War die Fäulnis nur

¹⁾ Berliner klin. Wochenschrift, 1888, Nr. 36.

²⁾ Dasselbst 1887, Nr. 23.

wenig bemerkbar, was in kalten Wintermonaten öfters vorkommt, so erwies sich der Gehalt an Schwefelsäure¹⁾ besonders hoch.

Es ließ sich weiterhin leicht nachweisen, daß der Gehalt an schwefelsauren Salzen beim Aufbewahren der Spülflüssigkeit in geschlossenen Flaschen mit der Zeit abnimmt unter Eintritt starker Fäulnis und Entwicklung von Schwefelwasserstoff, welcher allerdings der Hauptmenge nach infolge des Gehaltes der Flüssigkeit an Eisen als Schwefeleisen auftritt, mitunter bis zu dem Grade, daß die Flüssigkeit kaum nach H_2S riecht, es sei denn, daß man sie ansäuert. So wurden aus 250 ccm einer Spülflüssigkeit, die fast ohne Zeichen der Fäulnis zur Untersuchung gelangte, nach dem Einengen unter Salzsäurezusatz, Filtrieren, Nachwaschen und Fällen mit Chlorbaryum 0,1128 g Baryumsulfat erhalten, aus derselben Flüssigkeit 21 Tage später 0,0492 g, noch 4 Tage später 0,0463 g. Eine andere Spüljauche gab bei der ersten Untersuchung 0,0898 g Baryumsulfat, 3 Monate später 0,0337 g, eine dritte bei der ersten Untersuchung 0,0812 g, 25 Tage später 0,0564 g.

Von besonderem Interesse endlich war die Untersuchung einer vierten Probe, welche sofort nach der Entnahme in eine vollständig damit gefüllte Glasstöpselflasche gegeben war und in dieser 14 Tage gestanden hatte. 250 ccm dieser stark fauligen Flüssigkeit lieferten nur 0,004 g Baryumsulfat. In diesem Falle also, der besonders günstige Bedingungen geboten hatte, war die Reduktion der Sulfate beinahe bis auf den letzten Rest erfolgt.

Auf diese reduzierende Wirkung von Bakterien sind ohne Zweifel auch vielfache ältere Angaben zurückzuführen, welche sich namentlich auf sulfathaltige Mineralwässer beziehen.

Eine ganze Reihe von Autoren hat konstatiert, daß solche Wässer, in verschlossenen Flaschen längere Zeit aufbewahrt, sich schwefelwasserstoffhaltig erweisen, wenn bei der Füllung organische Substanz, selbst in so resistenter Form, wie sie ein Strohalm darstellt, zufällig in die Flasche gelangte; ja bei Mineralwässern, welche an sich organische Substanzen enthalten, soll es auch des besonderen Zusatzes organischer Substanz

¹⁾ d. h. Sulfaten.

garnicht bedürfen.¹⁾ Sicherlich ist es nicht die organische Substanz an sich, welche die Reduktion bewirkt, sondern anhaftende Bakterien, welche die organische Substanz zersetzen.

In neuerer Zeit²⁾ hat Hoppe-Seyler gezeigt, daß faulendes Fibrin mit schwefelsaurem Kalk und Wasser 2¹/₂ Jahre aufbewahrt, die Schwefelsäure des Gipses mehr oder weniger vollständig zu Schwefelwasserstoff reduziert.

An der Möglichkeit der Reduktion von Sulfaten zu Sulfiden durch Bakterien ist somit garnicht zu zweifeln, und meine oben mitgeteilten Beobachtungen zeigen, daß diese Reduktion unter günstigen Umständen garnicht so übermäßig lange Zeit beansprucht, selbst bei Zimmertemperatur.»

Ich erwähne dann noch, daß Röhmann³⁾ in mit «Kloakenschlamm» versetzten und längere Zeit im Brütöfen digerierten Pferdeharn eine Abnahme der Schwefelsäure unter Reduktion⁴⁾ beobachtete, nicht dagegen, wenn der Zusatz von Kloakenschwamm unterblieb, sowie ferner, daß meine Versuche, diese Reduktion auch im menschlichen Harn zu bewirken, ein negatives Resultat hatten.

Soweit meine damaligen Beobachtungen und Ausführungen.

Wenn im Gegensatz zu den erwähnten positiven Beobachtungen über Reduktion von Sulfaten zu Sulfiden durch Bakterien die japanischen Autoren mit 21 Bakterienarten in Reinkultur nur negative Resultate zu verzeichnen hatten, eine Schwefelwasserentwicklung aus zugegebenem Natriumsulfat nie beobachten konnten, so können hieran sehr verschiedene Momente schuld sein.

Zunächst ist es bekannt, daß Mischkulturen sich bezüglich chemischer Umsetzungen stets viel wirksamer erweisen, als Reinkulturen, sodann mag der Zusatz von 0,2 g Natriumsulfat auf 5 ccm Kulturflüssigkeit zu hoch gewesen sein, es ist möglich, daß die Reduktion nur in verdünnter Lösung vor

¹⁾ Gmelin-Kraut, Handbuch der anorganischen Chemie, 6. Aufl., 1. Bd., Abt. II, S. 212.

²⁾ d. h. damals neueren, Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 5.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 105.

⁴⁾ Aller Wahrscheinlichkeit nach ist gemeint: zu H₂S.

sich geht, endlich mag die Nährlösung auch nicht geeignet gewesen sein, wenn sich auch die Bakterien entwickelten. Sasaki und Otsuka haben Pepton vermieden, augenscheinlich, um vor der Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus diesem geschützt zu sein. Diese Quelle des Schwefelwasserstoffs ließe sich aber durch Doppelversuche mit und ohne Zusatz von Pepton, eventuell quantitative Bestimmung des Schwefelwasserstoffs, ausschließen.

Jedenfalls beweisen positive Versuche mehr als negative, und so wenig die Resultate der japanischen Autoren zu bezweifeln sind, so können sie doch die festgestellte Tatsache der Reduktion von Sulfaten zu Sulfiden durch Bakterien nicht aus der Welt schaffen.

Nach Beobachtungen, die man nach dem Einnehmen von Magnesiumsulfat oder Natriumsulfat machen kann, scheint es mir nicht ausgeschlossen, daß auch die Darmbakterien unter Umständen imstande sind, Sulfate zu Sulfiden zu reduzieren. Vielleicht wird dieser Vorgang durch Zusatz von Eisensalzen, die, alkalisches Medium vorausgesetzt, den entstandenen Schwefelwasserstoff binden, befördert.
