

Zur Methodik der Harnacidimetrie (insbesondere für klinische Zwecke).

Von
W. Biehler.

Mit 8 Figuren.

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik zu München.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. August 1920.)

Anlässlich eines Stoffwechselversuches, über den W. H. Jansen in der Zeitschr. für klin. Med. (1) berichtet hat, stellte sich die Notwendigkeit heraus, die Reaktion des von den Versuchspersonen gelassenen Harnes messend zu verfolgen. Auf eine recht einfache Methode, die dies leisten soll, weist Michaelis (5) in seiner „H-Konzentration“ hin: „Man titriere mit n. Lauge und Phenolphthalein das primäre Phosphat, mit Methylorange und n. HCl das sekundäre Phosphat“, ihr Verhältnis $\times 2 \cdot 10^{-7}$ gibt dann (nach einer von Henderson (2) aufgestellten Formel) die H-Konzentration.

Man kann nun wie in der erwähnten Jansenschen Arbeit der Auffassung sein, daß diese Titrations nur Näherungswerte geben, und trotzdem dabei auf jede Komplikation, welche dazu dienen soll, die Genauigkeit zu steigern, verzichten. Tut man das und vergleicht die so erhaltenen Werte bzw. die hieraus errechnete H-Konzentration mit der z. B. kolorimetrisch, also direkt gemessenen, so ergibt sich eine Differenz von ca. 0,62 p_H im Mittel. Andererseits ergibt die Titration reiner Phosphatgemische im Vergleich mit den direkt gefundenen p_H -Werten eine sehr gute Übereinstimmung. Diese Differenz in den Ergebnissen hat offenbar ihren Grund darin, daß bei der oben erwähnten Titration des Harns nicht nur die Phosphate, sondern auch andere Harnbestandteile mittitriert werden. Es ergab sich also die Frage, ob sich einfache Maßnahmen

treffen ließen, die eine Titration nur des primären und sekundären Phosphates im Harn erlaubten.

Was das primäre Phosphat anlangt, ist seine Bestimmung bereits sehr eingehend durchgearbeitet, sah man doch in ihm in früherer Zeit den eigentlichen Vertreter der „Säure“ des Harnes. Es ergab sich, daß hauptsächlich die Kalksalze als störend in Betracht kommen, welche den Umschlag hinausziehen. Um sie und womöglich auch die Hauptmenge der Magnesiumsalze auszufällen, empfiehlt sich (wie auch z. B. Moritz (6) vorschreibt) der Zusatz von 5 ccm $n/2$ Natriumoxalat in der Kälte mit nachfolgendem mehrstündigem Stehen im Eisschrank. Vor der Titration wird dann abfiltriert, dem Filtrat 20 ccm gesättigte NaCl-Lösung zugesetzt und mit $n/10$ NaOH gegen Phenolphthalein titriert. Diese Bestimmung des primären Phosphates allein gibt keinen zuverlässigen Wert für die Harnacidität, man muß auch noch das sekundäre Phosphat berücksichtigen. Bei seiner Titration stört vor allem die Intensität der Zwischenfarbe: Orange, welche den Umschlag des oben schon erwähnten Indikators Methylorange unscharf macht. Sein Ersatz durch Kongorot bzw. alizarinsulfosaures Na litt an Mißständen. Besser bewährte sich ein anderer Indikator der Azogruppe: Dimethylamidoazobenzol. Er hat den großen Vorteil, den Umschlag von Rot zu Gelb fast rein zu zeigen, so daß man ihn in stärkerer Konzentration als Methylorange verwenden kann. Leider ist er etwas empfindlicher gegen Ammoniaksalze. Man wird also der Analyse zur Zurückdrängung derselben zweckmäßig 20 ccm gesättigte NaCl-Lösung zufügen, wodurch man gleichzeitig auch eine Abschwächung der Eigenfarbe des Harnes und damit weitere Verschärfung erreicht. Noch besser ist der Umschlag freilich in farblosen Lösungen. Nun wird seit langem zur Entfärbung des Harnes Tierkohle benützt. Dieses einfache Hilfsmittel hier anzuwenden, ist theoretisch nicht ganz zulässig. Denn wir wissen, daß Tierkohle H. adsorbiert (Löffler und Spiro [4]), demnach die Reaktion der damit behandelten Lösungen, also im Falle des Harnes auch das Verhältnis von primärem : sekundärem Phosphat, ändert. Praktisch freilich kommt dies wenig in Betracht, denn vergleichende Titrations schwach gefärbter bzw. mit Tierkohle behandelter Harnes ergaben gut übereinstimmende Resultate.

Nativer Harn	2,05—2,10 ccm $n/10$ HCl	2,90—2,80	2,3	2,9
Entfärbter Harn	2,00—2,05 ccm $n/10$ HCl	2,80—2,75	2,2	2,8

Schließlich muß man sich jedoch klar werden, daß Schärfe und Lage des Umschlages nicht allein beeinflußt werden von der Eigenfarbe des Harnes, sondern in erster Linie von seinem Gehalt an organischen Säuren. Dies ist auch der Punkt, ohne dessen Berücksichtigung jede Bestimmungsmethode des sekundären Phosphates unzulänglich wird, sei es nun eine Titration gegen einen Indikator oder eine Methode wie z. B. die de Jagers (3), welcher im angesäuerten Harn durch einen Überschuß von BaCl₂ die Sulfate ausfällt und das Filtrat bis zur Trübung durch

BaHPO₄ titriert. Die organischen Säuren auf ganz einfache Weise zu entfernen, scheint nicht möglich zu sein. Es bleibt da wohl nur der Weg der Aschenanalyse. Diese ist für klinische Massenbestimmungen jedoch zu zeitraubend. Man könnte auch daran denken, die P₂O₅-Titration an die Kjeldahlisierung anzuschließen, welche prinzipiell ja nichts weiter als eine Säuregemischveraschung darstellt. Durch die Neutralisierung wird dann noch dazu alles NH₃ ausgetrieben; also bieten sich anscheinend die günstigsten Verhältnisse. Doch ergeben sich tatsächlich bei Kontrollanalysen (unter Verwendung von 3—5 ccm Harn) recht beträchtliche Differenzen, die ihren Hauptgrund darin haben, daß die Phosphorsäure bzw. besonders ihr Na-Salz mit dem Glase der Kjeldahlkolben Verbindungen eingeht und demnach in wechselnder Menge zu Verlust geht.

Wendet man eine der genannten Methoden der verfeinerten Titration an, so macht sich noch unangenehm bemerkbar, daß sie zunächst nur innerhalb eines bestimmten Reaktionsgebietes anwendbar, wenn nämlich gleichzeitig sekundäres neben primärem Phosphor vorhanden ist. In den Grenzgebieten, besonders nach der sauren Richtung (und der Harn ist im allgemeinen ziemlich sauer), wird die Titration immer ungenauer und der der Methodik anhaftende Fehler immer größer.

Es erwuchs mir zunächst die Aufgabe, den durch verfeinerte Titrationsmethode errechneten p_H-Wert mit der direkt beobachteten Acidität zu vergleichen, um zu sehen, ob der schon in der Jansenschen Arbeit (1) angedeutete Zusammenhang zwischen beiden Methoden auch in den extremen Reaktionsgebieten des Harns besteht, d. h., ob der Methodenfehler eine gewisse konstante Größe hat.

Eine direkte p_H-Bestimmung ist beispielsweise die besonders von Sörensen ausgebaute kolorimetrische Methode. Für die Harnbestimmung klinisch verwertbar ist deren Modifikation nach Walpole, wie sie in Neubergs „Harn- und Körperausscheidungen“ ausführlich beschrieben und auch bei dem oben erwähnten Jansenschen Versuch (1) benutzt wurde. Dabei machten sich jedoch allerlei Mißstände bemerkbar. Das tägliche Abmessen von Vergleichsflüssigkeiten ist, besonders wenn wenig Harne mit weit auseinanderliegender Reaktion untersucht werden sollen, außerordentlich zeitraubend. Unveränderliche Lösungen vorrätig zu halten, oder gefärbte Glassäulen, wäre zu umständlich wegen der enormen Anzahl von Farbnuancen, die zur Beobachtung nötig sind. Störend empfunden wird auch, daß bei dem Walpoleschen Apparat

die Farbflächen nicht aneinandergrenzen. Gewöhnliche Kolorimeter sind nicht benützbar, wenn man nicht das Wal-

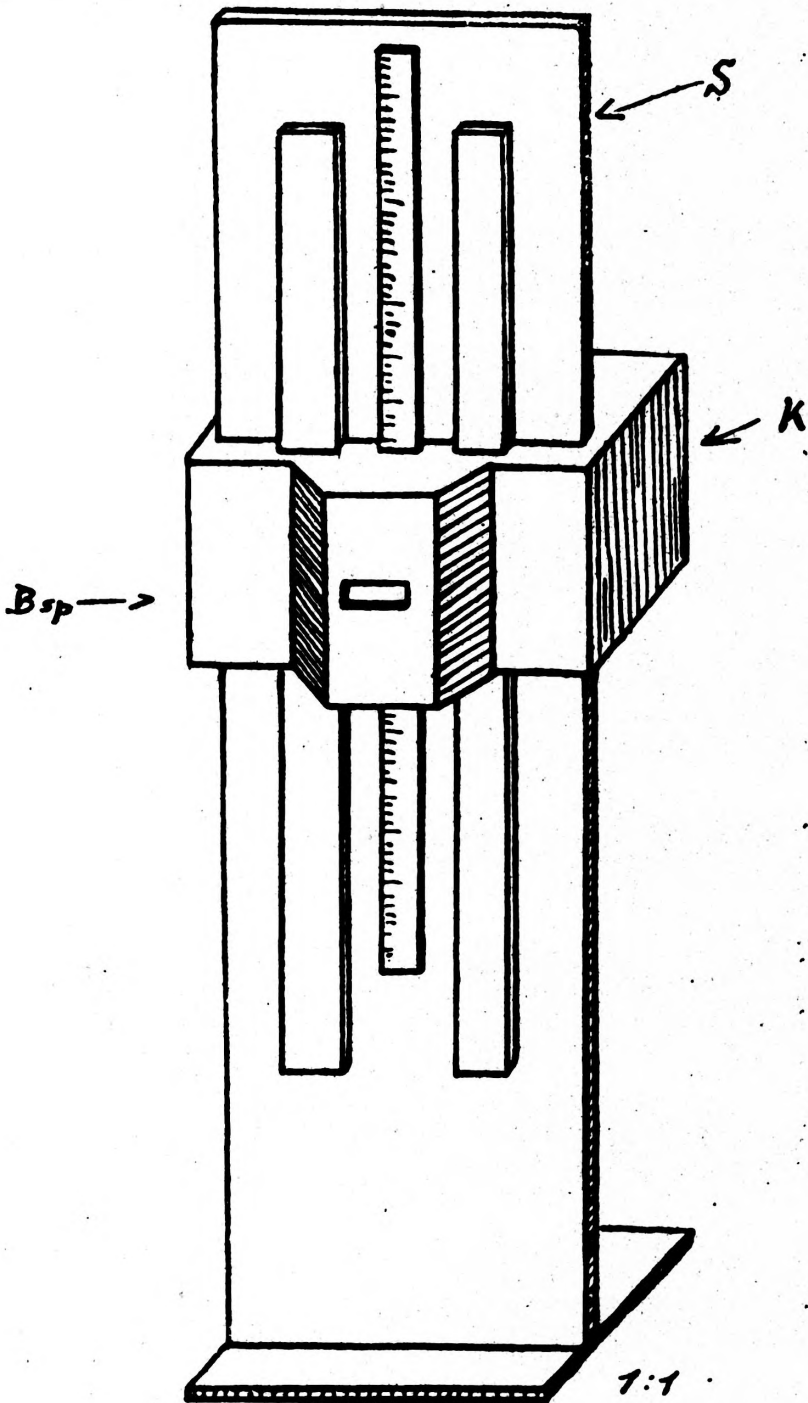


Fig. 1.

polesche Prinzip, mit dem er die Eigenfarbe des Harnes ausschaltet, aufgeben will. Dieses besteht darin, daß die

Harnfarbe auf beiden Hälften des Apparates optisch addiert wird. Alle diese Mißstände drängten zu einem Umbau und auf Grund der damit gemachten Erfahrungen zur nachfolgenden Neukonstruktion eines Kolorimeters, welches von der Firma Lautenschläger, Filiale München, angefertigt wurde.

Der Hauptbestandteil dieser Konstruktion ist, wie die schematische Figur 1 zeigt, ein metallener Schieberkasten K, von dem Figur 2 den Grundriß bietet. Wir finden an seiner Stirnseite die Optik, bestehend aus 2 nebeneinandergesetzten Parallelepipeden. Diese bieten gegenüber der Helmholtzschen

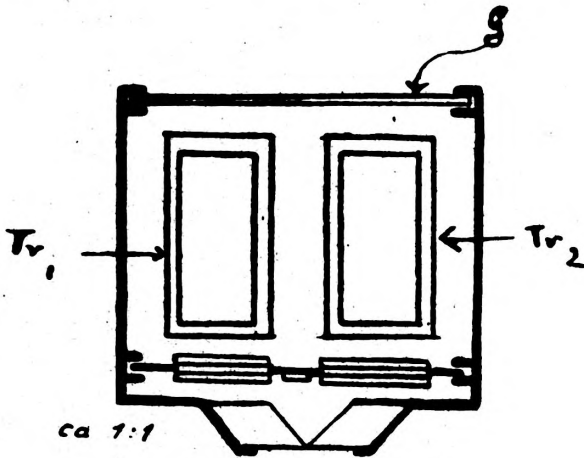


Fig. 2.

Doppelplatte, wie sie z. B. das Autenriet-Kolorimeter verwendet, den Vorteil geringerer Tiefe. Dahinter läuft ein auf beiden Seiten gefensterter Metallrahmen, der eine Skala trägt. Im rechten Fenster sind 2 gefärbte Gelatinekeile gegeneinander geschaltet. Diese bieten gegenüber Flüssigkeitskeilen den Vorzug geringerer Tiefe. Ferner erlauben sie, vermöge der Art ihrer Schaltung, einen Farbwechsel messend zu verfolgen, während die gebräuchlichen Kolorimeter allgemein nur den Vergleich mit einer einfarbigen, allmählich schwächer werdenden Standardfarbe gestatten. Zum optischen Ausgleich des Strahlenganges befinden sich im linken Fenster 2 entsprechende gegengeschaltete farblose Keile. Hinter dem Metallrahmen stehen die beiden Untersuchungströge Tr_1 und Tr_2 , zur Aufnahme des Materials. Die Rückwand bildet die Milchglas-scheibe G. Der Metallrahmen, welcher im Schieberkasten

federnd läuft, so daß beide in jeder beliebigen gegenseitigen Stellung feststehen, läßt sich auf der Grundplatte B aufstecken, so daß das Instrument völlig stabil steht. Andererseits sind jedoch Kästchen und Schieber in ihren Ausmaßen so klein, daß man beide bequem in die Tasche stecken kann. — Natürlich geht die ganze kolorimetrische Bestimmung des p_H auf Werte zurück, die mit der Nernstschen Gaskette erhalten wurden. Es wurden deshalb auch eine Reihe Vergleichsbestimmungen mit der elektrometrischen Methode ausgeführt.

Eine Zusammenstellung der Werte ergibt folgendes Bild:

Elektrometr. p_H	Errechn. p_H	Differenz	Verhältnis prim. Ph. : sek. Ph.
4,94	6,15	1,21	3,55 : 1
5,03	6,47	1,44	1,7 : 1
5,08	6,34	1,26	2,3 : 1
5,24	6,46	1,22	1,75 : 1
5,51	6,46	0,95	1,75 : 1
5,74	7,15	1,41	1 : 2,8
6,04	6,89	0,85	1 : 1,5
6,11	7,39	1,28	1 : 4,9
7,27	7,68	0,41	1 : 9,5

Durchschnittliche Differenz: 1,10.

Kolorimetr. p_H	Errechn. p_H	Differenz	Verhältnis prim. Ph. : sek. Ph.
4,6	5,96	1,36	5,5 : 1
4,6	5,96	1,36	5,5 : 1
4,8	6,12	1,32	3,8 : 1
4,95	6,19	1,24	3,2 : 1
5,2	6,36	1,16	2,2 : 1
5,45	6,47	1,02	1,7 : 1
5,6	6,54	0,94	1,45 : 1
5,8	6,44	0,64	1,8 : 1
5,9	6,52	0,62	1,5 : 1
5,95	6,90	0,95	1 : 1,6
6,1	6,90	0,80	1 : 1,6
6,9	7,34	0,44	1 : 4,35

Durchschnittliche Differenz: 1,0.

Die Untersuchung eines Harnes auf seine Acidität gestaltet sich also so, daß nach Auswahl des passenden Indikators durch die Vorprobe (cf. Michaelis [5]) — für den Harn kommen in der Regel Methylorange, Methylrot, Neutralrot in Betracht — je 2 ccm Harn in Tr_1 bzw. Tr_2 gefüllt werden, dann in Tr_1 die entsprechende Indikatoren-

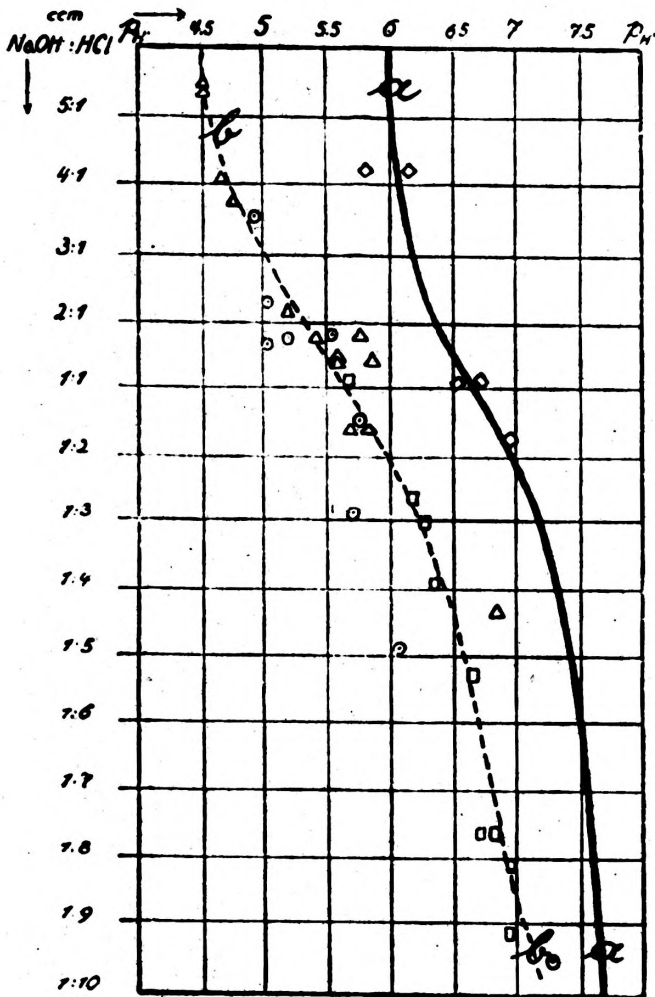


Fig. 3.

menge. Diese richtet sich nach der Keilstärke und wird bei der Eichung festgesetzt. Man beobachtet weiter durch den Beobachtungsspalt Bsp und stellt auf Farbgleichheit ein. Dann liest man die Skala ab und entnimmt der durch Eichung des Keiles erhaltenen Tabelle den p_H -Wert.

Selbstverständlich läßt sich das Instrument bei Verwen-

dung passender Keile für jede andere kolorimetrische Bestimmung und auch farbloser Flüssigkeiten verwenden.

Wie man sieht, befinden sich die Differenzen zwischen direkt beobachteten und errechneten p_H -Werten in guter Übereinstimmung (1,1 bzw. 1,0). Man sieht aber auch besonders deutlich aus den kolorimetrischen Bestimmungen, wie die Differenzen entsprechend dem Übergang vom sauren ins mehr alkalische Gebiet immer geringer werden. Noch deutlicher kommt dies bei einer graphischen Darstellung zum Ausdruck (Fig. 3). Bei ihrer Aufstellung wurde folgendermaßen verfahren: Als Abszisse wurde der p_H -Wert aufgetragen; als Ordinate das Verhältnis vom primären : sekundären Phosphat, bzw. das damit identische Verhältnis verbrauchter ccm n/10 NaOH : ccm n/10 HCl. Hierbei wurde die kleinere Zahl immer gleich 1 gesetzt. Aus der Hendersonschen Formel ergibt sich nun eine Kurve, welche mit a—a bezeichnet wurde. Mit ihr zusammen fällt die durch Titration reiner Phosphatlösungen erhaltene Kurve. Die einzelnen (elektrometrisch gemessenen) Werte derselben sind mit \diamond bezeichnet.

Ferner sind eingetragen die elektrometrisch erhaltenen Werte (mit \odot bezeichnet), sowie die kolorimetrisch erhaltenen Werte (mit \triangle bezeichnet). Die aus diesen Werten durch Interpolation erhaltene Kurve ist mit b—b gekennzeichnet.

Um den Anschluß an die in der Jansenschen Arbeit (1) veröffentlichte Kurve herzustellen, sind einige der dort erhaltenen Werte mit dem Zeichen \square eingezeichnet. Man kann sich damit sofort von der guten Übereinstimmung überzeugen.

Man sieht aus dem Verlauf der beiden Kurven, daß die von der titrimetrischen Methode gelieferten Werte zwar nicht mit den direkt gemessenen identisch sind, daß aber ein gewisser innerer Zusammenhang sicher ist. Dieses Resultat erlaubt also, die Titrationmethode zur Messung der p_H -Werte zu verwenden, und zwar geht man am einfachsten so vor, daß man das Verhältnis Lauge : Säure nimmt und mittels Kurve b den wahren p_H -Wert unmittelbar abliest.

Doch wird man dabei immerhin einige Vorsicht walten lassen müssen. Es soll nicht verschwiegen werden, daß auch einzelne, ganz aus dem Rahmen fallende Werte erhalten wurden. Sicherer ist auf jeden Fall die direkte Bestimmung, wie sie nach dem oben Gesagten kolorimetrisch ebenso leicht und rasch ausgeführt werden kann.

Literatur.

1. Jansen, Zeitschr. klin. Med. Bd. 88, Heft 3/4.
 2. Henderson, Erg. Physiol. Bd. 8.
 3. de Jager, Diese Zeitschr. Bd. 24 und 55.
 4. Löffler und Spiro, nach Zentral-Bioch. Biophys. Bd. 21, S. 1504.
 5. Michaelis, Die H-Konzentration, Berlin 1914.
 6. Moritz, Deutsch. Arch. klin. Med. Bd. 80.
-