

Beiträge zur Harnchemie.

Von

Dr. L. de Jager, prakt. Arzt zu Stiens (Niederland).

(Der Redaktion zugegangen am 2. September 1909.)

I. Über die Kochprobe.

Wenn eiweißhaltiger Harn gekocht wird, so entsteht ein Niederschlag von koaguliertem Albumin. In der Regel braucht man dazu keine besondere Maßnahme. Nur wenn der Harn alkalische Reaktion zeigt, ist es zu empfehlen, diese vorher abzustumpfen, weil Albumin in der Hitze nur bei saurer Reaktion koaguliert. Letzteres gilt für reine Albuminlösungen. Daß Albumin in alkalischem Harn beim Kochen gelöst bleiben soll, erscheint nicht gerade wahrscheinlich, weil das entstandene Albuminat mit den Kalk- und Magnesiumsalzen unlösliche Verbindungen eingehen wird. Zweitens wird sich alkalischer Harn beim Kochen immer trüben durch die Anwesenheit der Erdphosphate. Dieser Niederschlag löst sich nach Zusatz einer verdünnten Säure. Ist aber der Harn eiweißhaltig, so verschwindet der Niederschlag nach Säurezusatz nicht. Nun ist es wohl unmöglich, festzustellen, ob der Phosphatniederschlag sich nur z. T. löst, oder ob, während die Phosphate gelöst werden, das Eiweiß von der Säure gefällt wird.

Ein alkalischer Harn, welcher neben Eiweiß Erdphosphate enthält, wird beim Kochen einen Niederschlag geben, welcher nach Säurezusatz nicht gelöst wird. Wenn ein alkalischer eiweißhaltiger Harn beim Kochen sich nicht trübt, so kann dieses nicht durch die Reaktion allein erklärt werden.

Ich hatte Gelegenheit, den Harn einer Patientin zu untersuchen, welcher während einiger Tage sich so verhielt, daß er bei eben alkalischer Reaktion, einmal auch bei saurer Reaktion, beim Kochen sich nicht trübte. Der Harn enthielt das erstemal, als die Kochprobe negativ aus-

fiel. 4,5 g Eiweiß im Liter; als dann die Reaktion sauer war, betrug der Eiweißgehalt noch 0,9 g im Liter. Ersterer Harn (mit 4,5 g im Liter) gab ein positives Resultat, als ich den Harn mit Wasser auf ein Fünftel verdünnte, an den anderen Tagen hatte auch Verdünnung keinen Erfolg.

Als ich zu diesem Harn Kaliumoxalat zusetzte, entstand kein Niederschlag. Ebensowenig trübte sich der Harn nach Zusatz einer überschüssigen Menge Ammoniak.

Der Harn enthielt also keine Erdphosphate. Es konnte sich demnach weder ein Niederschlag von Erdphosphaten, noch ein solcher von Calciumalbuminat bilden.

Nach Zusatz einiger Tropfen einer Chlorcalciumlösung entstand beim Kochen ein Niederschlag. Als ich diesen durch Filtrieren entfernte, erwies sich das Filtrat albuminfrei.

Während das Ausbleiben des Niederschlags bei dem alkalischen Harn erklärt werden kann durch die Abwesenheit von Calcium und die Anwesenheit von sekundärem Phosphat, trifft letzteres nicht zu bei dem sauer reagierenden Harn. Auch dieser Harn enthielt keinen Kalk. Die für Lackmus saure Reaktion ist aber kein Beweis dafür, daß der Harn wirklich sauer ist. Ich untersuchte eine Probe nach der von mir empfohlenen Methode.¹⁾ Es ergab sich, daß der Harn keine freie Säure, sondern sekundäres Phosphat enthielt. Die Erklärung ist demnach dieselbe wie beim alkalischen Harn: Anwesenheit von sekundärem Phosphat und Abwesenheit von Kalk.

Merkwürdig ist, daß der Harn von einer Patientin²⁾ stammte, welcher ich Calciumlactat gegeben hatte.

Nach einigen Tagen enthielt der Harn wieder Calcium, wie die Probe mit Kaliumoxalat erwies, und zugleich war auch die Kochprobe wieder positiv. Als ich Kaliumoxalat zusetzte und filtrierte, blieb das Filtrat bei saurer Reaktion beim Kochen klar. Der Harn enthielt aber noch sekundäres Phosphat.

Zwei Tage später fiel die Kochprobe im Filtrat nach Entfernen des Kalks mittels Kaliumoxalat ebenfalls positiv aus. Jetzt enthielt der Harn kein sekundäres Phosphat mehr, sondern es war neben saurem Phosphat noch freie Säure anwesend.

Zu einer Probe dieses Harns setzte ich soviel Natronlauge zu, daß die freie Säure genau gesättigt war. Die Kochprobe war positiv.

Eine zweite Probe wurde ebenso neutralisiert und durch Kaliumoxalat vom Kalk befreit. Das Filtrat zeigte beim Kochen keinen Niederschlag.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 6.

²⁾ Es betraf eine Gravida mit ernstern uraemischen Symptomen, welche eine Woche, nachdem ich sie gesehen hatte, ein lebendes Kind gebar, welches sie selbst ernährte. Die weiteren Harnproben stammen aus der Periode nach der Entbindung.

Zum Gelingen der Kochprobe ist nach diesen Versuchen die Anwesenheit entweder von Kalk oder von freier Säure erforderlich. Ein alkalischer Harn bleibt bei der Kochprobe klar, wenn kein Kalk anwesend ist. Die Magnesia scheint sich wie die Alkalien zu verhalten.

Weil die Kochprobe negativ ausfällt, wenn kein Kalk zugegen ist, so glaubte ich, daß Zusatz von Calciumchlorid beim Kochen einen stärkeren Niederschlag erzeugen konnte.

Ich setzte also zu 5 ccm Harn, welcher eine positive Kochprobe zeigte, 12 Tropfen einer 10%igen Chlorcalciumlösung und kochte. Es entstand kein Niederschlag. Auch nach Zusatz von Essig- oder Salpetersäure blieb die Probe klar.

Wenn aber vor dem Kochen neben Chlorcalcium Natronlauge oder Natriumphosphat zugesetzt wurde, so entstand ein Niederschlag, welcher von Säure nicht ganz gelöst wurde.

Denselben Erfolg wie Chlorcalcium ergab ein Zusatz von primärem Calciumphosphat. Das entsprechende Magnesiumphosphat hatte keinen Einfluß.

Eine wässrige Lösung von Hühnereiweiß gab keinen Niederschlag beim Kochen nach Zusatz von primärem Calciumphosphat.

Ein Zusatz von Milchserum, nachdem unter Anwendung von Methylorange als Indikator die Phosphate in primäre umgesetzt waren, zu normalem Harn gab dasselbe Resultat wie eiweißhaltiger Harn. Serumeiweiß stand mir nicht zu Diensten.

Obige Versuche wurden angestellt mit Harn, welcher 0,9 g Eiweiß im Liter enthielt. Bei einem größeren Gehalt entstand auch nach Chlorcalciumzusatz ein Niederschlag.

Ein Harn einer anderen Patientin ergab nach Zusatz von CaCl_2 beim Kochen einen starken Niederschlag, welcher aber nach Zusatz von Essig- oder Salpetersäure sich löste.

In den Proben, welche nach Zusatz von CaCl_2 beim Kochen keinen Niederschlag zeigten, fiel, nachdem die Probe abgekühlt war, der Versuch mit Ferrocyanwasserstoff positiv aus.

Das Albumin wird in diesen Versuchen nicht in Lösung gehalten, sondern ist umgebildet zu Acidalbumin. Dieses wird nicht durch Zusatz von Säure, wohl aber durch Alkali gefällt. Die Verbindung, welche diese Umsetzung bewirkt, ist das primäre Calciumphosphat.

Das Verhältnis ist also gerade das umgekehrte von demselben Alkaliphosphaten gegenüber.

Albumin wird beim Kochen niedergeschlagen bei Anwesen-

heit von primärem, nicht aber von sekundärem Alkaliphosphat.

Sekundäres Calciumphosphat hingegen erzeugt eine Fällung, primäres nicht.

Ich glaube die Erscheinung folgendermaßen erklären zu können. Das primäre Calciumphosphat zerfällt beim Kochen in Phosphorsäure und sekundäres Phosphat, aber nur, wenn nicht zugleich sekundäres Phosphat anwesend ist. Zusatz von Alkaliphosphat verhindert diese Dissoziation. Nur wenn überschüssiges primäres Calciumphosphat anwesend ist, wird eine nennenswerte Menge freier Phosphorsäure entstehen. Diese Säure zersetzt in der Hitze, wie alle andern anorganischen Säuren, das Albumin.

Es ist fraglich, ob der Harn je eine solche Menge Kalk enthält, daß dadurch das Albumin zersetzt werden kann. Wenn es aber der Fall ist, so wird die Kochprobe mißlingen, auch nach Säurezusatz.

Die Kochprobe kann negativ werden, wenn zu viel und wenn kein Kalk anwesend ist.

Um gänzlich unabhängig zu sein von der Anwesenheit des Kalks, empfehle ich eine modifizierte Kochprobe.

Zu 10 ccm Harn wird 1 ccm einer 10%igen Kaliumoxalatlösung zugesetzt und nach einigem Zuwarten durch doppeltes Filter, nötigenfalls wiederholt, filtriert, bis das Filtrat vollkommen klar ist.

Eine Probe des Filtrats wird gekocht. Entsteht ein Niederschlag, so ist mit Gewißheit Eiweiß anwesend.

Eine zweite Probe des Filtrats wird nach Zusatz von 2 bis 3 Tropfen verdünnter Essigsäure gekocht. Bleibt der Harn klar, so ist gewiß kein Eiweiß anwesend.

In der Regel ist der Niederschlag bedeutender, wenn die Säure vor dem Kochen zugesetzt wird. Ich koche aber auch eine Probe ohne Säurezusatz, weil die Möglichkeit besteht, daß durch diesen Zusatz geringe Mengen Eiweiß gelöst werden.

Durch Verdünnung eines eiweißhaltigen Harns mit normalem Harn gab die nach dieser Methode ausgeführte Probe einen geringen Niederschlag bei einem Eiweißgehalt von 50 mg, einen sehr deutlichen Niederschlag mit 60 mg im Liter.

Die Hellersche Probe war bei letzterer Verdünnung noch negativ. Bei einem Eiweißgehalt von 60 mg im Liter war der Erfolg noch nicht deutlich zu sehen.

Durch Verdünnung des eiweißhaltigen Harns mit Wasser anstatt mit normalem Harn wird nach beiden Methoden eine geringere Menge Eiweiß angezeigt, aber auch dann ist die Kochprobe der Hellerschen überlegen.

II. Die Aciditätsbestimmung des Harns unter Formalinzusatz.

Wenn zu einer Lösung einer Ammoniakverbindung oder einer Aminosäure Formalin zugesetzt wird, so nimmt die Acidität um so viel zu, als die Menge NH_3 in diesen Verbindungen beträgt.

Von Malfatti¹⁾ ist diese Umsetzung zur Ammoniakbestimmung im Harn benutzt worden. Es wird der Harn nach Zusatz von Phenolphthalein mit Natronlauge bis zur Rotfärbung titriert, jetzt wird (zu 10 ccm Harn 3 ccm) neutralisiertes Formalin zugesetzt und wieder bis zur Endreaktion titriert.

Letztere Menge soll den Ammoniakgehalt anzeigen. In den von Malfatti angestellten Versuchen stimmt dieser Wert vollkommen mit dem nach der Methode von Schloesing erhaltenen.

Nach dem Ergebnisse anderer Forscher ist dieses aber nicht der Fall und ist die nach der Formalinmethode erhaltene Zahl höher, als dem Ammoniakgehalt entspricht. Der Unterschied wird gegeben durch den Gehalt an Aminosäuren. V. Henriques²⁾ hat, auf die von Sörensen angegebene Formoltitrierung gestützt, eine Bestimmung der Aminosäuren im Harn ausgearbeitet.

Es wird die Aciditätszunahme nach Formalinzusatz (betreffs der Einzelheiten der Methode verweise ich auf das Original) und in einer zweiten Harnprobe der Ammoniakgehalt durch Evakuieren nach Zusatz von Barytwasser bestimmt. Der Unterschied soll den Gehalt an Aminosäure ergeben.

Ich habe die Formalinmethode benutzt, um umgekehrt

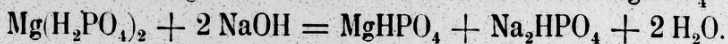
¹⁾ Zeitschrift f. analytische Chemie, XLVII. Jahrgang, 5. Heft.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, Heft 1.

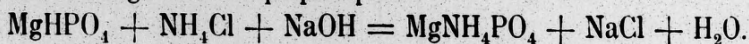
durch Abzug des Aminosäuregehalts den Ammoniakgehalt zu finden. Seit längerer Zeit habe ich mich damit beschäftigt, eine Schnellmethode zur Ammoniakbestimmung auszuarbeiten, welche auf der Bildung von Tripelphosphat beruhen soll.

Die Magnesia wird bekanntlich bei Gegenwart von Phosphorsäure gefällt durch überschüssiges Ammoniak. Ebenso wird umgekehrt ein Zusatz von überschüssiger Magnesia das Ammoniak niederschlagen.

Es erwies sich, daß für diesen Fall nur primäres Magnesiumphosphat geeignet ist. Ich bereitete mir eine Lösung dieser Verbindung, von welcher 5 ccm zur Neutralisation 20 ccm Zehntelnormallauge erfordern. Es entsteht dann MgHPO_4 .



Setzt man 5 ccm dieser Lösung zu einer Salmiaklösung, so ist dieselbe Menge Lauge bis zur Rotfärbung erforderlich. Diese rote Farbe bleibt unverändert. Sobald man aber die Wände des Becherglases tüchtig mit einem Glasstabe reibt, entfärbt sich die Flüssigkeit unter Bildung eines feinkörnigen Niederschlags von Tripelphosphat.



Bei weiterem Zusatz von Natronlauge verschwindet die rote Farbe sofort, bis das Ammoniak gänzlich in das Tripelphosphat übergegangen ist. Rotfärbung zeigt die Vollendung dieser Umsetzung an. Die genannte Menge Magnesiumphosphat ist imstande, $10 \times 1,7 = 17 \text{ mg NH}_3$ zu binden.

Das Tripelphosphat ist fast unlöslich und es ist zu erwarten, daß das Ammoniak gänzlich im Niederschlag anwesend ist.

Versuche, um diesen Gehalt nach Filtrieren im Niederschlag zu bestimmen, mißlingen. Es enthält der Niederschlag mehr P_2O_5 , als der Menge NH_3 entspricht; daraus geht hervor, daß neben Tripelphosphat noch sekundäres oder tertiäres Magnesiumphosphat gefällt wird.

Ich kochte den Niederschlag mit starker Lauge und titrierte, nachdem ich annehmen konnte, daß kein NH_3 ausgetrieben war. Die auf diese Weise aufgefundene Menge NH_3 erwies sich aber als zu niedrig. Es ist nicht leicht, durch Kochen das Ammo-

niak in kurzer Zeit gänzlich auszutreiben. Andererseits kann vielleicht ein Teil des Tripelphosphats gelöst bleiben. Ich habe die Untersuchung des Niederschlags weiterhin nicht fortgesetzt.

Als ich aber die Formalinmethode kennen lernte, versuchte ich die Methode aufs neue. Ich filtrierte den Niederschlag nach Bildung von Tripelphosphat ab, suspendierte ihn in Wasser und neutralisierte, bis Phenolphthalein eben rötlich war. Nach Zusatz von Formalin erwartete ich eine Aciditätszunahme dem Ammoniakgehalt entsprechend. Die Reaktion bleibt aber dieselbe. Während durch Zusatz von Formol zu Salmiak Salzsäure abgetrennt wird, unter Bildung von Tetramethylenetetramin, bleibt durch Einwirkung von Formol auf Tripelphosphat nach Entziehung des Ammoniaks $MgHPO_4$ übrig, das zur Endreaktion gegenüber Phenolphthalein keinen weiteren Zusatz von Lauge erfordert.

Wenn man den Niederschlag in Salzsäure löst, dann $CaCl_2$ oder $BaCl_2$ zusetzt und jetzt neutralisiert, so kommt nach Formalinzusatz die Aciditätszunahme zum Vorschein. Der auf diese Weise gefundene Ammoniakgehalt erwies sich aber, wie unten gezeigt werden soll, als zu niedrig.

Eine andere Methode, um die Bildung von Tripelphosphat zur Ammoniakbestimmung zu benutzen, ist die direkte Titrierung. Zu einer Lösung von Salmiak setzte ich primäres Magnesiumphosphat und die zur Neutralisierung des Phosphats erforderliche Menge Natronlauge. Unter stetigem Reiben der Glaswände wurde Zehntelnormalnatronlauge zufließen gelassen, bis nach Bildung des Niederschlags eine bleibende Rotfärbung erreicht war. In Lösungen von Salmiak läßt sich auf diese Weise der Ammoniakgehalt qualitativ genau bestimmen. Dieselbe Methode wandte ich beim Harn an. Nur wurde etwas Kaliumoxalat zugesetzt, um den Kalk niederzuschlagen. Es wurde nach Zusatz von Magnesiumphosphat bis zur Rotfärbung titriert und nach Bildung von Tripelphosphat aufs neue bis zur Endreaktion titriert. Diese Zahl stimmte zwar ungefähr, aber nicht ausreichend genau mit dem mit der Methode von Schloessing gefundenen Wert.

Die Erfahrung, daß der Aciditätswert von Tripelphosphat

durch Zusatz von Formol nicht geändert wird, führte mich zu folgender Überlegung.

Durch Zusatz von Formalin zeigt der Harn eine Aciditätszunahme, gleich dem Stickstoffwert des Ammoniaks und der Aminosäuren. Durch Magnesiumphosphat und Natronlauge wird das Ammoniak zu Tripelphosphat gebunden, während die Aminosäuren anwesend bleiben. Wenn man nun, nachdem nach Bildung von Tripelphosphat die Endreaktion erreicht ist, Formalin zusetzt, so wird die Aciditätszunahme nur von den Aminosäuren verursacht, während das Ammoniak keinen Einfluß mehr übt.

Eine Mischung von Salmiak und Glykokoll, nach dieser Methode untersucht, ergab eine Aciditätszunahme, gleich der Zunahme, welche das Glykokoll für sich ergab.

Die Methode, wie ich sie beim Harn anwende, ist folgende: 20 ccm Harn werden versetzt mit 2 ccm einer 10%igen Kaliumoxalatlösung und nach Phenolphthaleinzusatz mit Zehntelnormallauge titriert, bis zur Rotfärbung = Ac_1 .

Jetzt wird 40 ccm neutralisiertes Formalin zugesetzt und wieder bis zur Endreaktion titriert = Ac_2 .

$Ac_2 - Ac_1$ ergeben den Aminosäure- und den Ammoniakstickstoff.

Zu ebenfalls 20 ccm Harn werden 2 ccm Kaliumoxalatlösung und 5 ccm einer Lösung von primärem Magnesiumphosphat, entsprechend 20 ccm Zehntelnormallauge, zugesetzt. Nachdem soviel Natronlauge zugesetzt ist, daß die Probe rot gefärbt erscheint, werden die Wände mit einem Glasstab gerieben und weiter titriert. Ich lasse mehr Natronlauge zufließen, als zur Endreaktion erforderlich ist. Gewöhnlich genügen 35 ccm Zehntelnormalnatronlauge. Mit Zehntelnormalsalzsäure wird zurücktitriert und durch abwechselndes Zusetzen von NaOH und HCl die Endreaktion genau bestimmt. Als Endreaktion nehme ich eine eben sichtbare Rötung an. Die dazu verbrauchte Menge Lauge wird notiert = Ac_3 .

Nach Zusatz von 4 ccm Formalin wird wieder titriert durch abwechselnden Zusatz von NaOH und HCl, bis die Farbe die gleiche ist wie bei der ersten Bestimmung = Ac_4 .

$Ac_4 - Ac_3$ ergeben den Aminostickstoffwert.

Der Ammoniakgehalt muß gleich $(Ac_1 - Ac_2) - (Ac_4 - Ac_3)$ sein.

In einer Reihe von Versuchen habe ich nach dieser Methode den Ammoniakgehalt bestimmt, immer unter Kontrolle der Schloesingschen Methode. Die Resultate sind, wie aus Tabelle I hervorgeht, recht befriedigend.

Tabelle I.

$Ac_2 - Ac_1$	$Ac_4 - Ac_3$	NH ₃ in Kubikzentimeter NaOH				NH ₃ in Grammen		
		be- rechnet	ge- funden	Zu viel oder zu wenig		be- rechnet	ge- funden	Zu viel oder zu wenig
				in ccm	in %			
41,58	6,16	35,42	33,11	+ 2,31	+ 6,9	0,602	0,563	+ 39
44,63	6,13	38,50	37,19	+ 1,31	+ 3,6	0,655	0,632	+ 23
45,00	7,50	37,50	36,75	+ 0,75	+ 2,1	0,638	0,625	+ 13
41,04	7,20	33,84	33,12	+ 0,72	+ 2,1	0,575	0,563	+ 12
42,70	5,60	37,10	35,35	+ 1,75	+ 5,0	0,631	0,601	+ 30
36,00	5,00	31,00	30,50	+ 0,50	+ 1,5	0,527	0,519	+ 8
42,00	6,30	35,70	34,30	+ 1,40	+ 4,1	0,607	0,583	+ 24
41,28	6,99	34,29	33,02	+ 1,27	+ 3,9	0,583	0,561	+ 22
44,54	7,20	37,34	36,03	+ 1,31	+ 3,4	0,635	0,612	+ 21
39,93	5,44	34,49	33,28	+ 1,21	+ 3,5	0,568	0,566	+ 20
29,50	5,00	24,50	23,50	+ 1,00	+ 3,75	0,417	0,400	+ 17
34,08	5,68	28,40	28,40	0	0	0,483	0,483	0
34,17	6,03	28,14	28,81	- 0,67	- 2,4	0,478	0,490	- 12
31,35	5,78	25,57	26,40	- 0,83	- 3,1	0,435	0,449	- 14
28,08	4,86	23,22	22,68	+ 0,54	+ 2,4	0,396	0,386	+ 10
29,64	3,64	26,00	24,96	+ 1,04	+ 4,1	0,442	0,424	+ 18

Als ich die Methode noch nicht genügend beherrschte, fand ich einige Male größere Abweichung, aber auch dann weniger als 10%. Für die Praxis ist die Methode, welche sich schnell und ohne andere Hilfsmittel als zwei Büretten ausführen läßt, also anzuempfehlen, wenn es darum zu tun ist, sich schnell über den Ammoniakgehalt ein Urteil zu bilden.

Und doch wohnt der Methode ein Fehler inne, welcher auch die Methoden von V. Henriques wertlos macht.

Ich bereitete mir eine Lösung von Glykokoll und eine Lösung von Salmiak und bestimmte die Aciditätszunahme dieser Lösungen und einer Mischung beider Lösungen nach Formalzusatz. Da fand ich eine Aciditätszunahme für

Glykokoll	3,6 ccm	$n_{/10}$ -NaOH
Salmiak	9,1	»
Glykokoll + Salmiak	11,8	»
während	$3,6 + 9,1 = 12,7$	»

Aber nicht nur daß eine Mischung von Glykokoll und Salmiak eine niedrigere Aciditätszunahme zeigt, als die getrennte Untersuchung beider Körper aufweist, sondern auch wenn zu einer mit Formalin versetzten Glykokolllösung, nachdem dieselbe neutralisiert worden ist, Salmiak hinzugesetzt wird, so ist weniger Natronlauge zur Neutralisation erforderlich, als die gleiche Menge Salmiak erheischt. Dasselbe ist der Fall, wenn eine Salmiaklösung mit Formalin versetzt und nach Neutralisation Glykokoll hinzugegeben wird. Wird, nachdem wieder neutralisiert worden ist, die nämliche Menge Glykokoll hinzugesetzt, so ist mehr Natronlauge erforderlich als für die erste Portion.

Folgende Beispiele mögen dieses erleuchten. Die Salmiaklösung erforderte 9,1 ccm, die Glykokolllösung 3,6 ccm, eine Mischung 11,7 ccm Zehntelnormallauge.

Versuch I. Zu der neutralisierten Glykokolllösung wird Salmiak hinzugesetzt. Erforderlich sind 7,7 ccm Zentelnormallauge, zu einer zweiten gleichen Menge Salmiak 8,0 ccm Lauge.

Versuch II. Zu der neutralisierten Salmiaklösung wird dreimal hintereinander die gleiche Menge Glykokoll hinzugesetzt. Zur Neutralisation sind erforderlich resp. 3,1, 3,2 und 3,4 ccm Zentelnormallauge; in einem zweiten Versuch resp. 3,0, 3,2 und 3,4 ccm.

Im zweiten Versuch ist die Summe der Aciditäten beider Körper größer als im ersten, wo die Aciditätszunahme ebenso groß ist, als wenn die Körper vorher gemischt werden.

Ich bereitete mir eine Mischung von Glykokoll und Salmiak,

welche resp. 3,7 und 9,1 ccm Zehntelnormallauge erforderten, eine Mischung ergab eine Aciditätszunahme von 11,55 ccm.

Ich behandelte diese Mischung nach dem Zusatz von Magnesiumphosphat, wie oben angegeben, und füllte an zu einer Flüssigkeitsmenge von 55 ccm. Ich filtrierte den Niederschlag ab, löste dieselbe in Salzsäure, setzte BaCl_2 und Ba(OH)_2 hinzu und füllte an zu 50 ccm.

Von dem Filtrat wurden 50 ccm neutralisiert und die Aciditätszunahme nach Formalinzusatz bestimmt, von dem gelösten Niederschlag wurden 40 ccm auf gleiche Weise behandelt.

In zwei Versuchen fand ich folgende Aciditätszunahme.

Filtrat	4,2	5,05
Niederschlag	7,25	6,625
Zusammen	11,45	11,675

Im zweiten Versuch wurde filtriert nach 3 Stunden, im ersten sofort.

Auch hier ist die Aciditätszunahme zu niedrig und zwar ebenso groß, wie in der Mischung bei direkter Bestimmung. Das Filtrat enthält wahrscheinlich noch gelöstes Tripelphosphat, doch ist der Verlust an NH_3 jedenfalls beträchtlich. Wenn man die Aciditätszunahme des Filtrats von der Gesamtaciditätszunahme subtrahiert, so findet man $11,55 - 4,2 = 7,35$ ccm, d. h. rund 80% des anwesenden Ammoniak.

Ganz ähnliche Verhältnisse fand ich im Harn. Ich bestimmte in einer Versuchsreihe die Gesamtaciditätszunahme nach Formolzusatz und untersuchte auf gleiche Weise das Filtrat nach Bildung von Tripelphosphat.

Die Zahlen beziehen sich auf 20 ccm Harn und sind angegeben in Kubikzentimetern Zehntelnormallauge (Tab. II).

Diese Zahlen stimmen mit dem Ergebnis in reiner Lösung.

In zwei Harnproben bestimmte ich außerdem die Aciditätszunahme des Niederschlags (Tab. III).

Die Summe der Aciditäten des Filtrats und des Niederschlags ist größer als die Gesamtaciditätszunahme. Doch wurde ebenso wie in reinen Lösungen die Acidität des Filtrats zu hoch gefunden, während die Acidität des Niederschlags sich als viel zu niedrig erweist. Wenn nicht filtriert wird, sondern

Tabelle II.

	1 Gesamt- Aciditäts- zunahme	2 Aciditäts- zunahme Filtrat	3		5 Stab 3:4 in Prozenten
			NH ₃		
			berechnet aus 1—2	gefunden nach S.	
	5,7	1,600	4,100	5,2	79
	7,2	1,950	5,250	5,8	90
	8,8	3,030	5,770	8,1	71
	4,5	1,625	2,875	3,8	76
	4,3	2,100	2,200	3,4	65
	4,2	1,800	2,400	3,2	75
	7,5	2,450	5,050	5,8	87
	5,9	2,100	3,800	4,9	77
Im Mittel	6,01	2,082	3,930	5,025	78

Tabelle III.

	ccm	ccm
Gesamt-Aciditätszunahme	4,9	5,7
Filtrat	1,85	2,4
Niederschlag	3,35	3,5
HN ₃ nach Schloesing	4,0	4,3
Berechnete NH ₃ in Prozenten	81 %	81 %

das Tripelphosphat in der Flüssigkeit suspendiert bleibt, wie ich oben angegeben habe, so wird in reiner Lösung genau die Menge Glykokoll aufgefunden. Wenn dieses im Harn auch der Fall ist, so muß die Summe des für die Aminosäuren gefundenen Werts und des Ammoniakgehalts niedriger erscheinen als die mittels der Formolmethode bestimmte Aciditätszunahme. In der Regel ist aber das umgekehrte der Fall. Die Erklärung kann ich nicht geben. Es scheint der Harn Körper zu enthalten, welche wie die Aminosäuren eine Aciditätszunahme nach Formalinzusatz erzeugen, durch die Behandlung mit Magnesiumphosphat aber der Zersetzung durch Formol nicht mehr zu-

gänglich sind. Welcher dieser hypothetische Körper ist, und welche Umsetzungen mit Magnesiumphosphat stattfinden, weiß ich nicht zu sagen.

Wenn man annimmt, daß die Gesamtaciditätszunahme durch den Aminosäurewert und 80% des Ammoniakgehalts gegeben werden sollte, so würde die Differenz dieser berechneten Zahl und der gefundenen Aciditätszunahme den Gehalt an jener hypothetischen Verbindung angeben. Dieser Gehalt würde in den ersten Bestimmungen der Tabelle II im Mittel 8,1 ccm, in den 6 letzten 5,5 ccm Normalnatronlauge entsprechen. Die für jeden Harn besonders berechnete Zahl weicht nur wenig von diesen Mittelzahlen ab. Die 10 ersteren Bestimmungen stammen aus einer anderen Versuchsreihe als die folgenden. Auch der Ammoniakgehalt ist an letzteren Tagen niedriger.

Daß demnach der berechnete Ammoniakgehalt mit dem wirklichen Gehalt bis auf wenige Prozente stimmt, würde dann ein Zufall sein.

Doch scheint mir die Methode empfehlenswert zu sein, wenn es darum zu tun ist, sich schnell ein Urteil über den Ammoniakgehalt des Harns zu bilden. Den richtigen Gehalt kann man immer noch nach der Methode von Schloesing kontrollieren.

Ich habe die Formolmethode nach V. Henriques einige Male versucht, habe aber keinen besonderen Vorteil der einfachen Titrierung gegenüber darin gefunden. Zwar ist die Anwesenheit der Phosphate etwas störend, aber diesen Nachteil finde ich nicht groß genug, um diese einfache Titrierung für die umständlichere Methode zu vertauschen.

Ich möchte noch auf ein Mittel hinweisen, um den Farbumschlag des Phenolphthaleins im gefärbten Harn und in trüben Flüssigkeiten deutlicher hervortreten zu lassen. Bei obigen Versuchen war mir das Mittel noch nicht bekannt, doch scheint es mir recht brauchbar zu sein. Wenn man eine Zeichnung, aus schwach rötlichen und kaum sichtbaren grünlich blauen Linien bestehend, mit einem roten Glase oder einem Stück roter Gelatine bedeckt, so verschwindet die rote Zeichnung und es

tritt die bläuliche schwarz hervor. Nach diesem Prinzip der Farbenabsorption setze ich zu dem Harn neben Phenolphthalein ein wenig einer sehr verdünnten Methylengrünlösung hinzu, sodaß der Harn schwach grün erscheint. So lange die Reaktion sauer ist, ist der Harn grün, beim Farbumschlag verschwindet die grüne Farbe und tritt die Eigenfarbe des Harns etwas dunkelgefärbt hervor. Mit einem Tropfen Lauge wird die Farbe rötlich. Bei den gewöhnlichen Indikatoren ändert sich die Farbe. Das ist hier nicht der Fall, sondern bei neutraler Reaktion wirken die grüne und die rote Farbe wie Komplementärfarben und es entsteht ein schmutziges Grau, das, wenn sehr wenig Methylgrün zugesetzt ist, kaum sichtbar ist. Es darf dem Harn nur ein leichter Stich ins Grünliche erteilt werden, sonst wird die Acidität zu hoch gefunden. Ich glaube, daß mit diesem Mittel der Unterschied, welcher durch verschiedene Untersucher für die Acidität desselben Harns gefunden wird, verschwinden wird. Ich verdünne $\frac{1}{4}$ ccm einer 1%igen alkoholischen Methylengrünlösung mit 30 ccm Wasser, d. h. eine Lösung von 1 : 10000 und setze ein Tröpfchen, welches $\frac{1}{50}$ g wiegt, dieser verdünnten Lösung zu 20 ccm Harn. Wer gewöhnt ist, Lauge zufließen zu lassen, bis die Farbe deutlich rot erscheint, muß eine größere Menge Methylengrün zusetzen. Wenn man ein für allemal ausprobiert, welche Menge Methylengrün erforderlich ist, um die rote Farbe, welche man als Endreaktion angenommen hat, zu verdecken, so braucht man weiterhin nur diese Menge zuzusetzen. Man braucht dann nicht mehr zu schätzen, ob die Farbe dunkel genug erscheint, sondern stellt nur das Verschwinden der grünen Farbe fest. Zusatz von Methylblau, wobei die gelbe Farbe des Harns die Farbe grün erscheinen läßt, ergab sich mir als weniger geeignet, obwohl auch dieser Farbstoff gute Resultate gibt.