

# Beitrag zur Kenntnis der aromatischen Körper des Harns.

Von

Dr. W. Mooser.

Mit einer Abbildung.

(Der Redaktion zugegangen am 6. Oktober 1909.)

Unsere Kenntnis über das Vorkommen und die Natur aromatischer Verbindungen in den Ausscheidungen des Tierkörpers verdanken wir namentlich den Arbeiten von Nencki, Brieger, Hoppe-Seyler, Salkowski, Baumann und anderer. Was die Phenole anbetrifft, gebührt Baumann<sup>1)</sup> das Verdienst, den Nachweis ihrer Verbindungsformen geleistet zu haben. Es glückte ihm, nicht nur die phenylschwefelsauren Salze aus dem Harn zu isolieren, sondern auch, diese Verbindungen synthetisch herzustellen.

Angesichts dieser Forschungen ist es auffallend, daß die Frage nach dem Einfluß dieser Körper auf das Pflanzenwachstum, nach ihrer Wirkung auf die Bodenbakterien und nach ihrem weiteren Schicksal im Boden in agrikulturchemischen Kreisen unseres Wissens noch keine Achtung gefunden hat, — ist doch der vergorene Rinderharn in vielen Gegenden von alters her neben dem Stallmist das wichtigste Düngemittel und benutzt ihn die Technik teilweise noch heute als Ausgangsmaterial zur Darstellung von Benzoesäure.

Der Wunsch, die flüssigen Exkreme des Tierkörpers in dieser Richtung zu untersuchen, die Bedeutung gewisser aromatischer Substanzen des Harnes in bezug auf die Düngung festzustellen, veranlaßte den Vorstand der agrikulturchemischen Anstalt Bern, Herrn Dr. P. Liechti, schon vor Jahren, dem

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. IX, S. 54, 1716 (1876), Bd. XI, S. 1907 (1878).

Studium dieser Körper seine Aufmerksamkeit zu widmen. Die Wichtigkeit weiterer Kenntnisse auf diesem Gebiete ergibt sich leicht, wenn man bedenkt, daß speziell in der Schweiz der vergorene Harn (Gülle) in landwirtschaftlichen Betrieben das allgemeinste Düngmittel ist und in Mengen bis zu 1000 hl pro Hektar vielerorts auf die Wiesen gebracht wird.

Nachdem früher<sup>1)</sup> schon durch Vegetationsversuche der Wert des Güllestickstoffs im Vergleich zu Salpeter und schwefelsaurem Ammoniak klargelegt worden, führte die nähere Kenntnis der oben gestreiften Literaturangaben zu der Vermutung, daß die antiseptische Wirkung einiger dieser aromatischen Substanzen auf die Bakterienflora des Bodens nicht ohne Einfluß sein könne.

Demgemäß schien es von Wichtigkeit, den hervorragendsten Vertretern dieser organischen Körper in dem vergorenen Harn, nämlich der Benzoesäure und den Phenolen, bezw. den phenyl- und kresylschwefelsauren Salzen vorerst unsere Aufmerksamkeit zu widmen.

Der erste, welcher mit Erfolg die Untersuchung des Kuhharns sich zum Ziele setzte, ist G. Städeler.<sup>2)</sup> In seiner Arbeit: «Über die flüchtigen Säuren des Harns» teilt er mit, daß er in demselben Phenol — Phenylsäure, wie er es nannte — aufgefunden habe. Gleichzeitig führt er an, daß ihm bei der Harndestillation ein «schwach gelb gefärbtes stickstoffhaltiges Öl von durchdringendem Geruch» aufgefallen sei. Eine nähere Untersuchung desselben mußte wegen zu geringer Ausbeute unterbleiben.

Neben Phenol fand Städeler auch die von ihm so genannte «Taurylsäure», für welche er die Formel  $C_{14}H_9O_2$  als wahrscheinlich annahm, die damals für den, mit dem Namen «Kreosot» bezeichneten Körper galt. Dieser letztere wäre nach Städeler nichts anderes als Phenylsäure — seine Taurylsäure ist also zweifelsohne das Parakresol, welches die Hauptmenge der Phenole des Kuhharns ausmacht.

Endlich glaubte Städeler in der «Damalur- und Damolsäure» zwei noch unbekannte, organische Säuren aufgefunden zu haben. Während er die erste dieser beiden in die Fettreihe verwies, schrieb er der Damolsäure aromatische Eigenschaften zu.

Schotten<sup>3)</sup> wies aber mit Bestimmtheit nach, daß die Damolsäure Städeler's eine Fettsäure von mindestens acht C-Atomen, die Damalur-

<sup>1)</sup> Landwirtschaft, Jahrbuch der Schweiz, Bd. XVIII, S. 141 (1904).

<sup>2)</sup> Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. LXXVII, S. 17 (1851).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 375 (1882/83).

säure aber ein Gemisch von aliphatischen Säuren mit Benzoesäure ist. Das gelblich-grüne Öl Städeler's scheint nicht weitere Beachtung gefunden zu haben; wir werden in einer späteren Arbeit auf dasselbe zurückkommen.

Buliginsky<sup>1)</sup> beschäftigte sich namentlich mit dem Studium der flüchtigen Säuren des Rinderharns und stellte fest, daß in demselben mit Bestimmtheit auf die Anwesenheit von nicht unbedeutenden Mengen Essigsäure und Ameisensäure gezählt werden könne. Die Frage, ob «Carbolsäure» präformiert im Harn vorkomme, glaubt er zum voraus verneinend beantworten zu dürfen. Seine Untersuchungen führen ihn zu der Erkenntnis, daß überhaupt weder freie, noch an Alkali gebundene Carbolsäure im Harn existiert, daß dieselbe sich anderseits aber nach Behandlung des Harns mit Mineralsäuren im Destillate und Ätherauszuge nachweisen läßt.

Smith<sup>2)</sup> beschränkt sich auf den Nachweis von Benzoesäure und Hippursäure in verschiedenen Pferdeharnen und glaubt die erstere als charakteristisch für Pferde während der Ruhezeit, letztere als typisch für Pferde im Arbeitszustand ansehen zu dürfen.

Munk<sup>3)</sup> untersuchte den Tagesharn von drei milchenden Kühen in bezug auf den Stickstoffgehalt, das Verhältnis der freien und gebundenen Schwefelsäure und den Phenolgehalt. Er fand, daß sich dieser Harn von allen genauer untersuchten Tierharnen durch das konstante bedeutende Überwiegen der gebundenen Schwefelsäuren über-präformierte auszeichne.

### Vorversuche.

Angesichts dieser spärlichen Literaturangaben über die Zusammensetzung des Pflanzenfresserharns schien es uns vor allem nötig, durch eigene, qualitative Untersuchungen zu einem ungefähren Bilde über die für uns wesentlichen Bestandteile des Herbivorenharns zu gelangen.

Wir wählten dazu den während des Tages gelassenen Mischharn von drei Kühen. Der Harn wurde während der Entleerung aufgefangen, sofort in Mengen von 5 l mit 20% Kalkmilch vermischt und mittels einer Dampfspirale zum Kochen gebracht. Nach 1 2stündigem Sieden wurde die Flüssigkeit heiß koliert und das Filtrat ohne Verzug auf dem Wasserbad zur

<sup>1)</sup> Med., chem. Unters. v. Hoppe-Seyler. 2. H. (1867).

<sup>2)</sup> Proc. of R. S., Bd. XLVI.

<sup>3)</sup> Malys Ber., Bd. X, S. 288 (1880) (a. Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl.-Bd. z. phys. Abt., S. 22).

Sirupkonsistenz eingedampft. Diese portionsweise Behandlung von frischem Kuhharn wurde fortgesetzt, bis die Menge des in Bearbeitung gezogenen Harns 50 l betrug. Die konzentrierte Lösung der vereinigten Filtrate — mit Wasser auf ca. 8 l verdünnt und durch Filtration von einem Rest ausgeschiedenen Kalks, der deutlich Cumaringeruch aufwies, getrennt — wurde zur Abscheidung des größten Teils der Hippursäure mit Salzsäure übersäuert.

Nach dem Absetzen wurde die Flüssigkeit von dem ausgeschiedenen Krystallgemenge durch Filtration getrennt, hierauf destilliert und die Destillate gesondert aufgefangen. Die ersten derselben waren stark milchig getrübt und von äußerst durchdringendem Geruch, während die späteren klar blieben. Die Destillation wurde solange fortgesetzt, bis der ätherische Auszug einer Probe keinen Rückstand hinterließ. Die nun erfolgenden Ausschüttelungen der Fraktionen mit Äther ergaben bei sämtlichen Proben ölartige Rückstände von bräunlicher Farbe und gleichem qualitativen Verhalten, was uns einer weiteren gesonderten Behandlung derselben entthob.

Nach Vereinigung und Verdunstung sämtlicher Auszüge verblieb ein saurer Rückstand, der mit Wasser aufgeschwemmt, schwach erwärmt und unter stetem Schütteln mit kohlensaurem Kalk übersättigt wurde. Die Umsetzung ging gegen das Ende sehr träge vonstatten, und zuletzt hatten sich die ölartigen Tropfen in eine braune, teigige Masse verwandelt, aus welcher langsam Bläschen von Kohlensäure entwichen. Die überstehende, nun geklärte Flüssigkeit reagierte leicht alkalisch.

Das Verschwinden der öligen Tropfen und die lang andauernde Entwicklung von Kohlensäure ließen uns eine Verbindung der Phenole mit dem kohlensauren Kalk vermuten, umsomehr, als schon Baumann<sup>1)</sup> seinerzeit den Nachweis geliefert hat, daß die Einwirkung von Phenol auf kohlensaures Kali — allerdings bei Siedehitze — bis zur vollständigen Überführung in Phenolat stattfinden kann.

Da nicht ohne weiteres anzunehmen war, daß sich die

---

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem Ges., Bd. X, S. 607 (1877).



Phenole kohlensaurem Kalk gegenüber in ähnlicher Weise verhalten würden, untersuchten wir die Einwirkung von Calciumcarbonat auf Phenol und Parakresol in folgender Weise.

Durch einen Kolben mit Hahntrichter und aufsteigendem Kühler, in dessen zweiter Öffnung eine absteigende Röhre endigte, die mit einer, vollkommen klares Barytwasser enthaltenden, Woulffschen Flasche in Verbindung gesetzt werden konnte, wurde vorerst während zwei Stunden kohlensäurefreie Luft geleitet. Nachdem sämtliche Kohlensäure entfernt war, beschickten wir den Kolben mit 15 g präzipitiertem, frisch ausgewaschenem Calciumcarbonat, das in ca. 200 ccm über Calciumpermanganat destillierten Wassers aufgeschlemmt war, und erhitzen das Gemenge unter Durchleiten von kohlensäurefreier Luft während einer Viertelstunde zum Sieden. Nach dem Erkalten war das Barytwasser in der Vorlage völlig klar. Hierauf wurde dem Kolbeninhalt eine kohlensäurefreie, wässrige Lösung von 6 g Phenol beigefügt, zunächst in der Kälte wieder kohlensäurefreie Luft durchgeleitet und nach einiger Zeit mit der, Barytwasser enthaltenden Vorlage entbunden. Eine bald erscheinende, wenn auch schwache Trübung des Barytwassers deutete auf das Auftreten geringer Mengen Kohlensäure hin. Nach dem Erhitzen des Phenolkalkgemisches bildete sich in der Vorlage alsbald ein Niederschlag von Baryumcarbonat, der sich bei Fortsetzung des Kochens sichtbar vermehrte. Der Kolbeninhalt zeigte nach Unterbrechung der Destillation stark alkalische Reaktion.

Denselben Versuch stellten wir mit Parakresol an, wobei sich ergab, daß diese Substanz auf Calciumcarbonat noch intensiver einwirkte als Phenol.

Der Beweis der Zersetzbarkeit von Calciumcarbonat durch Phenol und Parakresol ist somit geleistet und es wird uns Gelegenheit geboten sein, bei der quantitativen Bestimmung der Phenole auf diesen Punkt des näheren zurückzukommen.

Gestützt auf diese Erfahrungen und quantitative Untersuchungen, bezüglich deren Resultate wir auf den speziellen Teil dieser Arbeit verweisen, destillierten wir das mit kohlensaurem Kalk übersättigte Gemisch unter gleichzeitigem Einleiten

von Kohlensäure. Das milchig getrübt Destillat wurde mit Äther erschöpft, und der Rückstand des ätherischen Auszuges der fraktionierten Destillation unterworfen. Nach Austreiben des Wassers stieg das Thermometer rasch auf  $198^{\circ}$  C., bei welcher Temperatur die Hauptmenge der Substanz überdestillierte, dann erreichte es  $201^{\circ}$  und schließlich erhielt sich das Quecksilber bis zum Schluß der Destillation konstant auf der Höhe von  $204,5^{\circ}$  C. (Barometerstand 716,6 mm, T.  $16^{\circ}$ ). Aussehen und qualitatives Verhalten ließen uns das farblose, stark lichtbrechende, ölige Destillat als ein Gemenge von Kresol und Phenol ansprechen. Allerdings deuteten der Geruch, die hohe Schlußtemperatur bei der Destillation und das Verhalten des Gemisches gegenüber konzentrierter Kalilauge auf das Vorhandensein eines weiteren, uns noch unbekanntes Körpers hin. Versetzt man nämlich das ölige Destillat mit konzentrierter Kalilauge, so resultiert anfänglich eine klare Lösung, die durch weiteren Zusatz sich milchig trübt, ein Verhalten, welches Phenol und Parakresol nicht aufweisen.

Bezüglich einer eingehenderen Besprechung der Natur und der Eigenschaften dieses, sowohl in frischem wie in vergorenem Harn enthaltenen Körpers, verweisen wir auf spätere Ausführungen.

Der nach dem Destillieren mit Kohlensäure verbleibende, nun phenolfreie Kolbeninhalt wurde in der Kälte mit verdünnter Schwefelsäure übersäuert und wiederum destilliert. In der übergangenen Flüssigkeit wurden die organischen Säuren mittels ihres Verhaltens gegenüber Lösungsmitteln und Baryumcarbonat getrennt und es ließen sich hierbei Benzoesäure und in kleiner Menge Essigsäure nachweisen, während wider Erwarten die Prüfung auf das Vorhandensein von Ameisensäure negativ verlief.

Durch weitere Untersuchungen von vergorenem Kuhharn gelangten wir zu der Überzeugung, daß für die beabsichtigten Versuche die Harnphenole und die Benzoesäure in erster Linie zu berücksichtigen sind.

**Harnphenole.****Analytisches.**

Die Frage der quantitativen Bestimmung von Phenolen ist durch die Arbeiten von Koppeschaar<sup>1)</sup> für Phenol, namentlich aber durch diejenigen von Messinger und Vortmann<sup>2)</sup> für Phenol und Kresol bedeutend gefördert worden. Frühere Bestimmungsarten beschränkten sich auf die Wägung des Tribromphenolniederschlages, während Koppeschaar, wie Messinger und Vortmann Titrationsmethoden ausarbeiteten, deren Genauigkeit von Kossler und Penny<sup>3)</sup> eingehend untersucht wurde.

Tabelle I.

*Die Phenole in Wasser gelöst und die Lösung ohne weiteres nach Kossler-Penny titriert.*

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
1	0,0204	—	0,0205	—	100,49	—
2	0,1412	—	0,1414	—	100,14	—
3	0,1600	—	0,1604	—	100,25	—
4	—	0,0143	—	0,0142	—	99,40
5	—	0,0511	—	0,0517	—	101,00
6	—	0,0597	—	0,0598	—	100,20
7	—	0,0729	—	0,0733	—	100,50

Unsere Untersuchungen erstrecken sich vorerst auf die Prüfung des von Kossler und Penny abgeänderten Messinger-Vortmannschen Verfahrens. Das hierzu verwendete Parakresol, wie das synthetische Phenol erwies sich nach der Siede- und Schmelzpunktbestimmung sowie nach eingehender qualitativer Prüfung als vollkommen rein und war vor seiner Verwendung längere Zeit in fein zerriebenem Zustande über Schwefel-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. analyt. Chem., Bd. XV, S. 233 (1876).

<sup>2)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXII, S. 2313 (1889).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 117 (1893).

säure getrocknet worden. Vorerst nahmen wir Bestimmungen mit reinen Phenol- bzw. Parakresollösungen von bekanntem Gehalt vor. (Tabelle I.)

Aus den in Tabelle I niedergelegten Zahlen geht hervor, daß die Genauigkeit der Methode nichts zu wünschen übrig läßt.

Da nicht ohne weiteres anzunehmen war, daß bei einer Destillation von Phenol oder Kresollösungen von bekanntem Gehalt dieselben guten Resultate erhalten würden, führten wir, umsomehr als in der uns zu Gebote stehenden Literatur keine diesbezüglichen Angaben sich vorfanden, gleiche Versuche mit vorgängiger Destillation aus. Die dabei erhaltenen Resultate weisen darauf hin, daß eine unter guter Kühlung vorgenommene Destillation reiner wässriger Phenol- und Kresollösungen keine Fehlerquelle bedingt. (Tabelle II.)

Tabelle II.

*Die Phenole in Wasser gelöst, die Lösung destilliert und das Destillat nach Kossler-Penny titriert.*

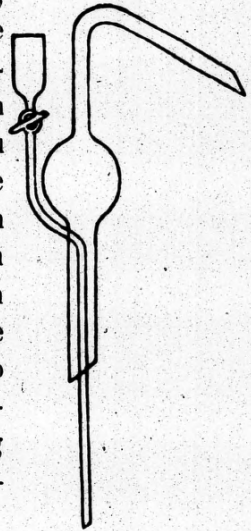
Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurück erhalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
8	0,0445	—	0,0448	—	100,74	—
9	0,1098	—	0,1097	—	99,99	—
10	0,2787	—	0,2791	—	100,14	—
11	—	0,0542	—	0,0541	—	99,3
12	—	0,0865	—	0,0870	—	100,5
13	—	0,4000	—	0,3997	—	99,9

Zur Abscheidung der Harnphenole aus ihren ätherschwefelsauren Salzen ist bisher allgemein eine Destillation des konzentrierten Harns mit Schwefelsäure vorgenommen worden; Kossler und Penny geben dementsprechend an, daß dem auf ein Fünftel eingedampften Harn so viel Schwefelsäure zuzusetzen sei, bis die Flüssigkeit ca. 5% der ursprünglichen Harnmenge davon enthalte. Wie lange die wiederholte Destillation fortzusetzen sei, bzw. auf welches Volumen die saure Harn-



flüssigkeit jeweilen konzentriert werden soll, wird nicht angegeben. Allerdings führen Neubauer und Vogel<sup>1)</sup> an, daß der mit Schwefelsäure versetzte Harn bloß bis zur Hälfte abzu-destillieren sei; so viel wir ersehen konnten, machen aber die betreffenden Autoren diesen Vorbehalt nur, um die Abspaltung jodbindender Substanzen zu verhüten. Daß der Grad der Konzentration der, freie Schwefelsäure enthaltenden, Harnflüssigkeit auf die Phenole selbst von Einfluß sein könnte, wird von keiner Seite erwähnt.

Frühere Erfahrungen führten uns dazu, die eventuelle Einwirkung der Schwefelsäure auf reine Phenol- bzw. Kresollösungen unter den bei dem Kossler-Pennyschen Verfahren herrschenden Bedingungen zu studieren. Es wurde dabei in der Weise verfahren, daß je 150 ccm Phenollösungen von bekanntem Gehalt nach Zusatz von 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure auf ca. 100 ccm konzentriert wurden. Die Destillation wurde unter Ersatz des verdampften Wassers so lange wiederholt, bis die übergelassene Flüssigkeit mit Millons Reagens keine Färbung mehr ergab, was nach sechsmaliger Destillation stets der Fall war.



Zu diesen, wie zu den folgenden Bestimmungen benutzten wir den in der Skizze abgebildeten Aufsatz aus Jenaerglas, der uns ein Überspritzen der Flüssigkeit sowie das zum Nachfüllen des Wassers zeitraubende Abwarten bis zum Erkalten vermeiden ließ. (Tabelle III.)

Das Ergebnis dieser Bestimmungen zeigt deutlich einen Einfluß der Schwefelsäure auf das p-Kresol, während das Phenol sich als widerstandsfähiger erwies. Unsere Befürchtung, daß durch die Schwefelsäure bei dem Verfahren nach Kossler-Penny eine Sulfurierung der Phenole in kleinem Maßstabe eintrete, scheint hiermit begründet zu sein. Leider aber scheiterten

<sup>1)</sup> Neubauer u. Vogel, Anal. d. Harns, X. Aufl., S. 186.

alle von uns unternommenen Versuche, Sulfosäuren aus den Destillationsrückständen zu isolieren, infolge ihrer geringen Menge und des großen Schwefelsäureüberschusses. Wir müssen uns daher darauf beschränken, die Tatsache eines Verlustes an p-Kresol zu konstatieren.

Tabelle III.

*Phenollösungen mit Schwefelsäure destilliert und die Destillate nach Kossler-Penny titriert.*

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
14	0,0363	—	0,03635	—	100,15	—
15	0,0734	—	0,0744	—	101,40	—
16	0,1272	—	0,1261	—	99,17	—
17	—	0,0653	—	0,0461	—	70,50
18	—	0,0855	—	0,0670	—	78,40
19	—	0,2486	—	0,2205	—	88,70
20	—	0,2742	—	0,2449	—	89,30

Versuche, den Gehalt reiner Phenollösungen nach dem von Neubauer und Vogel<sup>1)</sup> angegebenen Verfahren zu bestimmen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis, indem vom vorhandenen Phenol im Mittel 90,6% und vom p-Kresol nur 76,6% zurückerhalten wurden. Der Grund zu diesen schlechten Resultaten liegt in einem Hauptfehler dieser Methode, nämlich in der Unmöglichkeit, aus verdünnten Lösungen die Phenole quantitativ abdestillieren zu können — eine Tatsache, die schon von Kossler und Penny angeführt wird.<sup>2)</sup>

Die Überzeugung, daß die Verwendung der Schwefelsäure die Genauigkeit des Verfahrens von Kossler und Penny beeinträchtigte, ließ uns einen Ersatz derselben durch eine andere, mit Wasserdämpfen nicht flüchtige Mineralsäure suchen. Wir

<sup>1)</sup> loc. cit., S. 786.

<sup>2)</sup> loc. cit., S. 137.

finden einen solchen in chemisch reiner sirupöser Phosphorsäure<sup>1)</sup> die in gleichen Mengen wie die Schwefelsäure zur Verwendung gelangte. Wir machten hierbei die Erfahrung, daß ein starkes Konzentrieren des Kolbeninhaltes die Genauigkeit der Bestimmung in keiner Weise beeinflußt, und die Resultate in Tabelle IV zeigen klar eine Verbesserung des Verfahrens bei Ersatz der Schwefelsäure durch Phosphorsäure. (Tabelle IV.)

Tabelle IV.

*Phenollösungen mit Phosphorsäure destilliert und die Destillate nach Kossler-Penny titriert.*

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückgehalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
21	0,0162	—	0,01622	—	100,0	—
22	0,0479	—	0,0486	—	101,5	—
23	0,0823	—	0,0817	—	99,5	—
24	—	0,0219	—	0,0223	—	102,1
25	—	0,0320	—	0,0328	—	102,4
26	—	0,0345	—	0,0349	—	101,3
27	—	0,1215	—	0,1200	—	98,8

Neuberg<sup>2)</sup> hat früher nachgewiesen, daß die Methode Kossler-Penny bei der Bestimmung von Phenolen in zuckerhaltigen Harnen zu hohe Resultate gibt. Die Erklärung hierüber soll in der von Salkowski bewiesenen Tatsache der Bildung von Jodoform durch aldehydartige Substanzen, entstanden durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf den Zucker, liegen. Auch in dieser Richtung studierten wir den Einfluß der Phosphorsäure.

Parakresollösungen von bestimmtem Gehalt wurden nach Zusatz von 5 g Traubenzucker sowohl mit Phosphorsäure, als

<sup>1)</sup> Gehalt an  $P_2O_5$ : 65,03%, entsprechend 96,86%  $H_3PO_4$ .

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 123—134 (1899).

auch mit Schwefelsäure destilliert. Bei Verwendung von Phosphorsäure wurden vom vorhandenen Kresol 99,94% resp. 99,9%, bei Schwefelsäure 122,3% resp. 124,2% erhalten. Versuche mit Phenol ergaben das nämliche Resultat (zurückgef. bei Phosphorsäureverwendung 99,8%, bei Schwefelsäure 124,4%). Auch hier zeigt sich also der Vorteil einer Verwendung von Phosphorsäure.

Daß durch die Phosphorsäure reine Lösungen von phenyl- und kresylschwefelsauren Salzen ebenso rasch und vollständig wie durch Schwefelsäure zerlegt werden, haben wir uns durch Versuche überzeugt. Wir führen vorgreifend an dieser Stelle an, daß bei Destillation von Harnen mit Phosphorsäure die Zersetzung der ätherschwefelsauren Salze etwas langsamer vor sich zu gehen scheint, als bei Verwendung von Schwefelsäure.

Wie wir im vorhergehenden nachgewiesen haben, vermögen Phenol und p-Kresol Calciumcarbonat unter Bildung von Phenolaten zu zersetzen. Nun verwenden aber Kossler und Penny zur Absättigung der flüchtigen Säuren des Destillats gerade Calciumcarbonat und rektifizieren dasselbe auch über einem Überschuß von solchem.

Da nach früherem ein Einfluß des Calciumcarbonats auf die quantitative Bestimmung der Phenole zu erwarten war, anderseits aber zur Bestätigung und Trennung von Phenolen und Säuren Calciumcarbonat allgemein empfohlen wird, destillierten wir Phenol- und p-Kresollösungen von bekanntem Gehalt über kohlen-saurem Kalk, wobei die in Tabelle V enthaltenen Werte gefunden wurden. Aus diesen geht deutlich hervor, daß sowohl bei Phenol, als auch bei p-Kresol Verluste eintreten können, deren Größe eine sehr wechselnde ist. Während bei Phenol aus uns zwar unbekanntem Gründen mehrmals die theoretische Menge zurückerhalten wurde, trat dieser Fall bei p-Kresol niemals ein. Es scheint überhaupt Calciumcarbonat auf p-Kresol intensiver einzuwirken als auf Phenol. Auch glauben wir aus der, während der Destillation auftretenden orange-gelben Färbung des Kolbeninhalts schließen zu dürfen, daß die Verluste bei p-Kresol nicht bloß auf die Bildung von Phenolat zurückzuführen sind. (Tabelle V.)



Tabelle V.

*Phenollösungen über Calciumcarbonat destilliert und die Destillate nach Kossler-Penny titriert.*

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurück erhalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
28	0,0311	—	0,0240	—	77,07	—
29	0,0420	—	0,0421	—	100,20	—
30	0,0608	—	0,0608	—	100,00	—
31	0,1257	—	0,1263	—	100,48	—
32	0,2254	—	0,2126	—	94,32	—
33	0,4585	—	0,3827	—	83,47	—
34	—	0,0379	—	0,0358	—	94,46
35	—	0,1374	—	0,1243	—	90,47
36	—	0,1594	—	0,1415	—	88,78
37	—	0,1610	—	0,1477	—	91,74

Um diesem Übelstande eines Verlustes an Phenolen bei Verwendung von kohlen saurem Kalk zu begegnen, führten wir nun die Destillation über Kalkcarbonat unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure aus. Die dabei erzielten Resultate (Tab. VI) sind überaus günstige, indem sowohl bei Phenol, als auch bei p-Kresol die theoretischen Mengen gefunden wurden. Aus einer, allerdings unklaren Angabe von Runge<sup>1)</sup> könnte man schließen, daß eine quantitative Zerlegung von Kalkphenolat durch Kohlensäure Schwierigkeiten bietet, aus Tabelle VI geht aber zur Genüge hervor, daß eine derartige Annahme keineswegs berechtigt ist. (Tabelle VI.)

Die Verwendung von Kohlensäure bietet nicht bloß große Vorteile bei der quantitativen Trennung von Phenolen und Säuren mittels Calciumcarbonat, sondern wir haben in derselben auch ein ebenso bequemes als zuverlässiges Mittel zur Bestimmung der freien Phenole in Gemischen von solchen mit phenylschwefel-

<sup>1)</sup> Annal. Physik. u. Chem., Bd. XXXII, S. 308 (1834).

sauren Salzen gefunden. Lösungen von phenyl- oder kresylschwefelsauren Alkalien werden nämlich selbst bei mehrstündiger Destillation unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure nicht zerlegt, wie wir uns durch eine große Zahl von Versuchen mit reinen Lösungen und Harnen hinreichend überzeugen konnten.

Tabelle VI.

*Phenollösungen unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure über Calciumcarbonat destilliert und die Destillate nach Kossler-Penny titriert.*

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zürückerhalten	
	Phenol g	p-Kresol g	Phenol g	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
38	0,0307	—	0,0307	—	100,00	—
39	0,2748	—	0,2753	—	100,18	—
40	0,4038	—	0,4037	—	99,96	—
41	—	0,0246	—	0,0248	—	100,90
42	—	0,0382	—	0,0382	—	100,00
43	—	0,0947	—	0,0941	—	99,4
44	—	0,1145	—	0,1148	—	100,3
45	—	0,1423	—	0,1422	—	99,97
46	—	0,1663	—	0,1667	—	100,3

Das Einleiten der Kohlensäure erfolgt durch den Hahntrichter des auf S. 163 angegebenen Destillationsaufsatzes, dessen Röhre, bis fast auf den Boden des Kolbens hinreichend, verlängert war.

Da sich in den, mit Kalkcarbonat abzusättigenden Harndestillaten auch salpetrige Säure vorfinden kann, deren Anwesenheit bei der Titration der Phenole ausgeschlossen sein muß, untersuchten wir auch, ob bei Destillation einer Calciumnitritlösung unter Durchleiten von Kohlensäure salpetrige Säure abgespalten werde. Die bezüglichen Versuche ergaben ein negatives Resultat und schließen die Befürchtung der Anwesenheit dieser Säure im letzten, die reinen Phenole enthaltenden Destillate aus.

Das Durchleiten von Kohlensäure hat den weitem, nicht zu unterschätzenden Vorteil, die Destillation alkalischer Harnen durch Vermeidung des lästigen Stoßens und Überschäumens bedeutend zu erleichtern.

Die Notwendigkeit einer Verwendung von Kohlensäure zur Phenolbestimmung ließ uns jetzt noch die Frage stellen, ob die Absättigung des ersten Destillates nicht durch ein anderes Salz als Calciumcarbonat möglich wäre. Von den in Betracht kommenden Verbindungen schien uns am meisten der Borax die Möglichkeit eines Ersatzes zu bieten; die angestellten Versuche ließen uns aber von seiner Verwendung absehen.

Nach Abschluß der Versuche mit reiner Phenol- und p-Kresolösung gingen wir nun dazu über, die auf Grund unserer Untersuchungen sich als notwendig erweisenden Abänderungen der bisherigen Phenolbestimmungsmethode an Harnen zu erproben. Zu diesem Zwecke zogen wir sowohl Menschen- als Tierharn (Kuhharn) in Untersuchung.

Zunächst war es uns darum zu tun, den im frühern besprochenen Einfluß der Schwefelsäure nachzuweisen. Wir unternahmen hierzu folgenden Versuch:

Gleiche Mengen desselben frischen Harns (Mensch und Kuh) wurden mit Schwefelsäure, bezw. Phosphorsäure versetzt und durch Destillation phenolfrei gemacht, wovon wir uns durch Millons Reagens überzeugten. Hierauf wurde die Destillation nach Wechsel der Vorlage und unter jeweiligem Ersatz der abdestillierten Flüssigkeit zwei Stunden fortgesetzt und das Destillat titriert. Sowohl die aus Menschen- als auch aus Kuhharn unter Verwendung von Schwefelsäure erhaltenen Destillate enthielten jodbindende Substanzen. Im ungünstigsten Falle wurden 18,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normaljodlösung verbraucht, was einer Menge von 0,341 g Kresol entspricht. Bei Gebrauch von Phosphorsäure hingegen war die Menge der jodbindenden Substanzen nur eine höchst geringe und keines der Destillate erforderte über 0,3 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normaljodlösung.

Die Verwendung von Schwefelsäure erscheint aber nicht nur aus den soeben angegebenen Gründen als nachteilig, sondern auch wegen einer Eigenschaft, die wir bei der Untersuchung von Kuhharn feststellen konnten. Destilliert man nämlich Kuhharn mit Phosphorsäure bis zur Phenolfreiheit und setzt die

Destillation hierauf nach Zusatz der üblichen Menge konzentrierter Schwefelsäure fort,<sup>1)</sup> so bemerkt man bald das Übergehen des schon in der Einleitung erwähnten gelben Öls. Diesem Körper kommen jodbindende Eigenschaften zu; deshalb muß seine Anwesenheit bei der Titration der Phenole sicher ausgeschlossen sein.

Der Wert einer Kohlensäureverwendung bei der Rektifikation des Destillates über Kalk ergibt sich aus folgenden zwei Versuchen:

Aus 250 g Menschenharn wurden die Phenole mit Schwefelsäure abdestilliert und das Übergegangene über kohlen-saurem Kalk ohne Durchleiten eines Kohlensäurestromes solange destilliert, bis eine Probe des Destillates mit Millons Reagens nicht mehr reagierte. Es wurden hiebei 0,01 g Phenol gefunden. Hierauf wurde das kalkhaltige Gemisch unter Einleiten von Kohlensäure weiter destilliert, wobei noch 0,0028 g Phenol = 21,87% der gesamten Phenolmenge erhalten wurden.

Derselbe Versuch wurde mit 250 g frischen Kuhharns wiederholt und dabei ohne Kohlensäure 0,134 g = 78,1% und mit nachfolgender Kohlensäureverwendung noch 0,0376 g = 21,9% des gesamten p-Kresols erhalten.

Diese beiden Versuche bestätigen deutlich die im früheren angeführte Notwendigkeit der Verwendung eines Kohlensäurestromes.

Die im vorstehenden mitgeteilten Ergebnisse berechtigen uns somit zur Abänderung des Verfahrens von Kossler und Penny für die quantitative Bestimmung der Phenole im Harn.

Auf Grund unserer Erfahrungen schlagen wir vor, zur quantitativen Bestimmung der Phenole im Harn inskünftig wie folgt zu verfahren:

*Eine abgewogene, schwach alkalisch gemachte Harnmenge (250—500 g) wird auf dem Wasserbad auf ca.  $\frac{1}{3}$  eingedampft, in den Destillationskolben gespült und dieser mit dem Kühler verbunden. Durch den Hahntrichter läßt man unter zeitweiligem Umschütteln nun soviel sirupöse Phosphorsäure langsam zufließen,*

<sup>1)</sup> Auf die Konzentration beim Eindampfen wurde entsprechend Rücksicht genommen.



daß deren Menge ca. 5% des ursprünglichen Harnvolumens ausmacht. Unter guter Kühlung wird alsdann bis auf ca. 100 ccm abdestilliert und die Destillation nach jeweiligem Nachfüllen von 50 ccm Wasser so lange wiederholt, bis die Prüfung einiger Tropfen des Destillates mit Millons Reagens negativ verläuft. Die in einem geräumigen Kolben aufgefangenen Destillate werden nach Übersättigung mit kohlensaurem Kalk unter Einleiten eines reinen Kohlensäurestromes einer erneuten Destillation unterworfen und dieselbe wie schon angegeben wiederholt. Die übergehende Flüssigkeit wird am besten in einem Schottischen Literkolben mit eingeschliffenem Stopfen aufgefangen und nach Kossler-Penny titriert. Hierbei ist zu beachten, daß infolge der im Destillate enthaltenen Kohlensäure die Menge der zuzusetzenden Natronlauge entsprechend vermehrt werden muß.

### Angewandtes.

Nachdem durch die angeführten Untersuchungen die analytischen Grundlagen der Methode zur Bestimmung der Harnphenole festgestellt waren, traten wir nun an die Lösung der eingangs gestellten Aufgaben.

Zunächst interessierte es uns, den genauen Gehalt des frischen Kuhharns an Phenolen kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurde der Harn einer einmaligen Entleerung von drei Kühen gleich bei seiner Ausscheidung quantitativ aufgefangen, in einem Glasgefäß gemischt, gewogen und davon 500 g sofort auf dem Wasserbad bis zu ca. 100 ccm konzentriert. Als dann wurden die Phenole nach unserem Verfahren bestimmt. Zwecks späterer Untersuchung dieser Harnmischung wurde der Rest derselben bei einer Temperatur von 19—20° in offenem Gefäße der Gärung überlassen.

Erwähnt sei noch, daß der Gesundheitszustand obiger drei Kühe ein normaler war und daß das Futter derselben, wie dasjenige der übrigen, im Stalle stehenden Tiere, aus Heu und einer kleinen Beigabe von Sesammehl bestand.

Nach Übergang zur Sommerfütterung wurden dieselben Untersuchungen wiederholt. Die in Tabelle VII niedergelegten

Resultate sind auf p-Kresol berechnet, da Phenol nur in äußerst geringen Mengen im Kuhharn enthalten ist. (Tabelle VII.)

Tabelle VII.

*Gehalt von Kuhharn an Phenolen, berechnet auf Parakresol.*

Bezeichnung	1000 g Kuhharn enthalten:								
	In frischem Zustande p-Kresol			Nach 4-wöchiger Lagerung p-Kresol			Nach 8-wöchiger Lagerung p-Kresol		
	frei g	ge- bunden g	total g	frei g	ge- bunden g	total g	frei g	ge- bunden g	total g
<b>Winterfütterung</b>									
Morgenharn									
16. I. 06	—	0,5520	—	0,1384	1,0290	1,1674	0,0960	0,8950	0,9910
17. I. 06	—	0,7236	—	0,1752	0,6718	0,8470	0,1398	0,6176	0,7574
22. I. 06	—	0,7720	—	0,1852	0,8180	1,0032	0,1948	0,9336	1,1284
25. I. 06	—	0,7044	—	0,2608	0,6976	0,9584	0,2652	0,7653	1,0305
<b>Nachmittags- harn</b>									
17. I. 06	—	0,5586	—	0,3352	0,4468	0,7820	0,4360	0,0246	0,4606
19. I. 06	—	0,5052	—	0,1917	0,4649	0,6566	0,2402	0,4108	0,6510
23. I. 06	—	0,5940	—	0,1124	0,6380	0,7504	0,1518	0,6356	0,7874
<b>Sommerfütterung</b>									
Morgenharn									
28. V. 06	—	0,3596	—	0,3554	0,0124	0,3678	0,2696	0,0936	0,3632
29. V. 06	—	0,3816	—	0,3576	0,0268	0,3844	0,2744	0,0144	0,2888
30. V. 06	—	0,4612	—	0,4524	0,0108	0,4632	0,4024	0,0115	0,4139
31. V. 06	—	0,6204	—	0,5040	0,0440	0,5480	0,5413	0,0249	0,5662
<b>Nachmittags- harn</b>									
31. V. 06	—	0,3356	—	0,2494	0,0024	0,2218	0,2177	0,0375	0,2552
1. VI. 06	—	0,2860	—	0,1856	0,0101	0,1975	0,1680	0,0101	0,1781
5. VI. 06	—	0,2544	—	0,1996	0,0135	0,2131	0,1752	0,0267	0,2019
6. VI. 06	—	0,3176	—	0,2480	0,0072	0,2552	0,0966	0,0173	0,1139

Die in dieser Tabelle enthaltenen Angaben über den Gehalt von frischem Kuhharn an Phenolen dürften schon aus dem Grunde ein gewisses Interesse bieten, weil sie unter den spärlichen, in der Literatur vorhandenen wohl diejenigen sind, die den größten Anspruch auf Genauigkeit erheben können. Aus

ihnen ist ersichtlich, daß die Menge der Harnphenole größer ist, als bisher angenommen wurde. So bestimmte beispielsweise Munk<sup>1)</sup> nach der alten Brommethode den prozentischen Gehalt von Kuhharn zu 1—4 mg Phenol, während nach unseren Untersuchungen bei Winterfütterung Kuhharn 0,063 g und bei Sommerfütterung 0,0377 g pro 100 g im Mittel enthält. Auf die Tagesmenge, die wir zu 20 l annahmen, berechnet sich somit die Ausscheidung an Phenolen auf 12,6 g bei Winterfütterung und auf 7,54 g bei Sommerfütterung.

Bei seinen Untersuchungen von Kuhharn findet Munk<sup>2)</sup> ein «konstantes bedeutendes Überwiegen der gebundenen Schwefelsäure über die präformierte» (im Mittel um das 2,5fache) und glaubt, da die Menge der gebundenen Schwefelsäure mit ihrem fünften bis achten Teil zur Bindung der Phenole ausreicht, und der Indicagehalt sehr gering ist, daß an der Bindung der Schwefelsäure noch ein anderer Körper beteiligt sein müsse. Unseres Erachtens ist diese Voraussetzung nicht notwendig und dürfte die Erklärung obiger Beobachtung vielmehr in der Unzulänglichkeit der angewandten Methode zu suchen sein.

Über das Vorkommen ungebundenen Phenols in frischem Harn finden sich keine Angaben vor und über das Auftreten von freien Phenolen nach Eingabe von Phenol sind die Angaben nach Heffter<sup>3)</sup> streitig. Die zahlreichen, von uns in dieser Richtung untersuchten frischen Menschen- und Tierharn waren stets frei von ungebundenen Phenolen.

Durch die Gärung ändert sich sowohl der Gehalt an Phenolen, als auch ihre Bindungsform. So fanden wir neben einer bedeutenden Zunahme der Gesamtphenole im vergorenen Harn stets erhebliche Mengen freien Phenols; im Mittel waren in 1000 g vergorenen Winterharns nach vierwöchiger Aufbewahrung 0,200 g und nach achtwöchiger Lagerung 0,218 g freie Phenole enthalten. In den während der Sommerfütterung erhaltenen Harnen war die Menge der freien Phenole nach vierwöchiger

<sup>1)</sup> Malys Ber., Bd. X, S. 288 (1880), a. Archiv f. Anat. u. Physiol., Suppl.-Bd. z. phys. Abt., S. 22.

<sup>2)</sup> loc. cit.

<sup>3)</sup> Sonderabdr. a. Ergebn. d. Physiologie, Bd. IV, S. 242 (1905).

Aufbewahrung noch größer und betrug im Mittel 0,319 g in 1000 g.

Zur Bestimmung der freien Phenole wurde der Harn unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes wie üblich destilliert, hierauf zur Entfernung des Ammoniaks eine Rektifikation des Destillates über Phosphorsäure vorgenommen und die neuerdings übergegangene Flüssigkeit nach Kalkzusatz im Kohlensäurestrom einer nochmaligen Destillation unterworfen. Auf die Anwesenheit von Aceton brauchte keinerlei Rücksicht genommen zu werden, da sich sowohl der frische als auch der vergorene Harn nach der Untersuchung als frei von solchem erwiesen hatte.

Untersucht man das Verhältnis der freien zu den gebundenen Phenolen, so läßt sich weder bei den Harnen mit kürzerer, noch bei denjenigen mit längerer Aufbewahrungszeit eine Beziehung herausfinden. Bei gleich hohem Gehalt an gebundenen Phenolen schwankt die Menge der freien Phenole innerhalb weiter Grenzen.

In drei Fällen (Morgenharn v. 16. u. 22. I., Nachmittags-harn v. 23. I.) hat der Gehalt an gebundenen Phenolen nach vierwöchiger Aufbewahrung eine Zunahme erfahren und zwar ist diese Vermehrung beim Morgenharn vom 16. I. eine ganz beträchtliche. In gleicher Weise, wenn auch weniger hervortretend, sehen wir nach achtwöchiger Lagerung die Menge der gebundenen Phenole in den Morgenharnen vom 22. und 25. I. vermehrt. Dieser höchst auffälligen Erscheinung kann kein Analysenfehler zugrunde liegen, da wir uns durch mehrfache Bestimmungen von der Richtigkeit der erhaltenen Resultate überzeugten. Wir sehen vorläufig davon ab, für diese merkwürdige und unseres Wissens bisher noch nicht beobachtete Tatsache einer Bildung von gebundenen Phenolen außerhalb des Tierkörpers eine Erklärung zu suchen.

Eine Vermehrung von Phenol resp. Kresol in gefaultem Harn soll nach einer Angabe von Salkowski<sup>1)</sup> bereits von

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 274 (1889).



Baumann konstatiert worden sein und nach dem letzteren von einer Spaltung der Oxysäuren und Ätherschwefelsäuren herrühren. Ob es sich hierbei um eine Vermehrung der freien oder der gebundenen Harnphenole handelt, geht aus der genannten Angabe nicht hervor und eine diesbezügliche Arbeit Baumanns konnten wir nicht auffinden.

Besonders hervorzuheben ist das Verhalten des Nachmittags-harns vom 17. I. Von allen untersuchten Harnen der Winterfütterung ist er der einzige, welcher nach achtwöchiger Aufbewahrung eine Abnahme der Gesamtphenolmenge aufweist. Im Gegensatz zu den übrigen Harnen hat die Menge seiner gebundenen Phenole schon nach 4 Wochen eine Verminderung erfahren. Zu Beginn der Untersuchung enthielt dieser Urin in 1000 g 0,5586 g p-Kresol, nach vier Wochen war diese Menge auf 0,4468 g gesunken, nach sechs Wochen auf 0,1406 g und nach acht Wochen fanden sich bloß noch 0,0246 g gebundenes Kresol vor. Die freien Phenole erfuhren in derselben Zeit keine entsprechende Steigerung. Daß ein derartiges Verschwinden der Phenole nicht auf Verdunstung zurückzuführen ist, geht aus dem Verhalten der übrigen Harnen, die unter den nämlichen Bedingungen standen; deutlich hervor. Wir vermuten vielmehr, daß die Ursache dieses Verlustes in vitalen Prozessen zu suchen ist. Noch deutlicher zeigen diese Erscheinungen die Mehrzahl der bei Sommerfütterung untersuchten Harnen, indem schon nach vierwöchiger Lagerung ein in genannter Richtung eingetretener Verlust zu konstatieren ist. Wir hoffen später nach weiteren Untersuchungen auf diese Erscheinung zurückzukommen.

Da sowohl Kossler und Penny<sup>1)</sup> als auch Neuberg<sup>2)</sup> nach ihren Methoden frühere Angaben über den Phenolgehalt des Menschenharns nachgeprüft haben und dabei in bezug auf das in der Tagesmenge abgeschiedene Phenolquantum zu stark abweichenden Werten gelangt sind, bot es Interesse, unsere Untersuchungen auch auf Menschenharn auszudehnen. Zu diesem Zwecke wurde der in 24 Stunden gelassene Harn normaler

<sup>1)</sup> loc. cit.

<sup>2)</sup> loc. cit.

Individuen bei gemischter Kost gesammelt und sofort verarbeitet. Im weitem gelangte noch der Harn eines 20 Monate alten Kindes, sowie derjenige eines Vegetarianers zur Untersuchung. (Tabelle VIII.)

Tabelle VIII.

*Gehalt von Menschenharn an Phenolen.*

Herkunft des Harnes	Datum	Tages- menge g	In der Tages- menge sind enthalten p-Kresol g	In der Tages- menge sind enthalten Phenol g
18jähriger Mann . . . .	2. II. 06	1670	0,0534	—
31jähriger Mann . . . .	2. II. 06	3010	0,0392	—
31jähriger Mann . . . .	5. II. 06	2980	0,0487	—
35jähriger Mann . . . .	21. II. 06	1050	0,0360	—
20 Monate altes Kind . .	2. II. 06	575	0,0102	—
20 Monate altes Kind . .	5. II. 06	835	0,0107	—
28jähr. Mann (Vegetarianer)	2. II. 06	1250	0,0280	0,0248
„ „	5. II. 06	910	0,0365	0,0317
„ „	23. II. 06	1065	0,0340	0,0309

Die von uns gefundenen Zahlen nähern sich den von Neuberg und Munk angeführten Werten (0,03 g in der Tagesmenge). Nach ihren Untersuchungen glauben Kossler und Penny, daß der Gehalt des Harnes normaler Individuen an Phenolen bei gemischter Kost beträchtlich größer sein könne, als gewöhnlich angenommen werde, und führen aufgefundene Mengen von 0,081 und 0,122 g p-Kresol als Tagesmenge an. Nach unseren, im Vorausgegangenen mitgeteilten Erfahrungen, betreffend die der bisherigen Phenolbestimmungsmethode anhaftenden Fehler, erachten wir uns für berechtigt, die Richtigkeit dieser Zahlen in Zweifel zu ziehen.

Zu besonderen Bemerkungen bietet der Harn des Vegetarianers Veranlassung. Da die Jodverbindungen des Phenols und p-Kresols verschiedene Färbung aufweisen, gelangt man bei einiger Übung dahin, zu entscheiden, ob reine Lösungen

des einen oder andern der Phenole, oder Gemische beider vorliegen; auch ein starkes Überwiegen von Phenol oder p-Kresol kann mit ziemlicher Sicherheit abgeschätzt werden. Während nun bei allen von uns untersuchten Menschenharnen — mit Ausnahme des Vegetarianerharns — in Übereinstimmung mit der allgemeinen Annahme Kresol die Hauptmenge der Phenole ausmacht, enthielt der Harn des Vegetarianers sozusagen nur Phenol, eine Beobachtung, die auch von Neubauer und Vogel<sup>1)</sup> erwähnt wird.

### Harnbenzoesäure.

Über die Methoden zur Bestimmung der Benzoesäure im Harn finden sich in der einschlägigen Literatur relativ wenige Angaben vor. Wohl den meisten ausgeführten Bestimmungen liegt das ursprünglich zur Bestimmung der Hippursäure dienende Verfahren von Bunge und Schmiedeberg<sup>2)</sup> zugrunde. Eine Modifikation desselben haben Jaarsveld und Stokvis<sup>3)</sup> angegeben. Auch Völker<sup>4)</sup> hat ein Verfahren ausgearbeitet, das zur Bestimmung der Benzoesäure dienen kann. Pfeifer und seine Mitarbeiter<sup>5)</sup> bestimmen die Hippursäure durch die aus ihr erhaltene Benzoesäure; auch diese Methode kann zur Bestimmung der letzteren verwendet werden.

Da es sich für unsere Zwecke nur darum handelte, den Benzoesäuregehalt von vergorenem Harn, d. h. einer Flüssigkeit, die keine Hippursäure mehr enthält, zu bestimmen, versuchten wir, die Benzoesäure auf möglichst einfache Weise quantitativ aus dem Harn zu isolieren.

Nach einigen Vorversuchen mit verschiedenen Lösungsmitteln verblieben wir bei der Anwendung von nicht über 40° siedendem Petroläther. Vermittelst desselben läßt sich aus

<sup>1)</sup> loc. cit., S. 148.

<sup>2)</sup> Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. VII, S. 235 (1877).

<sup>3)</sup> Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. X, S. 271 (1897).

<sup>4)</sup> Malys Jahresber., 1887, S. 215.

<sup>5)</sup> Mitt. d. landw. Inst. d. Univers. Breslau. Bd. II, S. 273, und Rieke, Über die Bildung der Hippursäure im tierischen Organismus. Inauguraldiss., Breslau 1903.

vergorenem und mit Schwefelsäure übersättigtem Harn die Benzoessäure quantitativ extrahieren.

Zum Ausziehen benützten wir mit großem Erfolg den von Katz konstruierten Extraktionsapparat für Flüssigkeiten mit Flachglasspirale, den wir uns in passender Größe und mit angeschliffenem Kölbchen von der Firma Huggershoff in Leipzig herstellen ließen. Es empfiehlt sich, die Übersättigung des Harns mit Schwefelsäure wegen der massenhaft vorhandenen Carbonate vor dem Einfüllen in den Extraktionsapparat vorzunehmen. Nach 4—5 Stunden ist die vorhandene Benzoessäure quantitativ ausgezogen. Die ätherische Lösung derselben wird hierauf nach Aufsetzen eines Ätherdampfhebers bei gelinder Wärme verdunstet und der schön krystallisierte, beinahe farblose Rückstand nach Auflösen in möglichst wenig schwach alkoholhaltigem Wasser unter Verwendung von gereinigtem Lackmusfarbstoff als Indikator mit  $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge oder Ammoniak titriert. Die an den Rändern des Verdampfungsrückstandes auftretende, leicht gelblichbraune Färbung rührt von mitausgezogenen Phenolen her. Wie wir uns durch Versuche überzeugten, übt jedoch die Anwesenheit selbst größerer Mengen von Phenol oder Kresol auf die Titration keinen Einfluß aus. Für die Erkennung des Farbumschlages empfiehlt es sich, zuvor einige Titrationen mit bekannten Mengen reiner Benzoessäure auszuführen.

Den Gehalt von vergorenem Kuhharn bestimmten wir nach dieser Methode zu 8,93 g Benzoessäure im Kilogramm, denjenigen von Gülle, d. h. eines von 17 Kühen unter gewöhnlichen Verhältnissen (ohne Wasserverwendung im Stalle) gewonnenen und vergorenen Mischharns zu 8,54 g im Liter.

Aus diesen Zahlen geht deutlich hervor, daß die bei der Düngung mit Gülle in Form von benzoesaurem Salz auf das Land gebrachten Mengen Benzoessäure bedeutende sein müssen. Nehmen wir nach hiesigen Verhältnissen eine starke Gülle-düngung zu 1000 hl pro Hektar an, so berechnet sich die damit ausgebrachte Benzoessäuremenge auf 800—900 kg Benzoessäure pro Hektar. In Wirklichkeit wird man nicht immer mit so großen Quantitäten Benzoessäure zu rechnen haben, da die Gülle zumeist in mit Wasser verdünntem Zustande ausgetan



wird. Immerhin darf mit einer Menge von 400—500 kg Benzoesäure pro Hektar gerechnet werden. Zieht man des weiteren in Betracht, daß nach unsern Untersuchungen vergorener Kuhharn pro Kilogramm 0,34—0,83 g Gesamtphenole aufwies, was unter Annahme obiger Düngung 34—83 kg Gesamtphenole ausmacht, so erscheint die eingangs ausgesprochene Ansicht über den Einfluß dieser Körper auf die Bodenbakterien und das Pflanzenwachstum sicherlich begründet.<sup>1)</sup>

### Zur Chemie des Kuhharns.

Die vorstehend angegebenen Analysen- und Versuchsergebnisse wären nicht abgeschlossen, wenn wir denselben nicht auch die Resultate von Untersuchungen beifügen würden, deren Inangriffnahme uns die Vertiefung in das Studium des Kuhharns aufdrängte. Wie früher angedeutet, beziehen sich dieselben auf die Phenole und das Öl Städelaers.

Betreffs der

### Phenole

scheint die Frage ihres Vorkommens im Harn schon längst durch die Arbeiten Baumanns erschöpft zu sein; auch wir waren anfänglich dieser Meinung und erst im Verlauf der ausgeführten Arbeiten sahen wir uns veranlaßt, Zweifel in die bis heute in der Physiologie geltende Annahme zu setzen, als bestände ganz allgemein der Phenolgehalt des Pflanzenfresserharns aus einem Gemisch von Phenol und Kresolen.

Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> glaubt, daß außer dem eigentlichen Phenol keine andern, mit demselben homologe Verbindungen im Pferdeharn enthalten seien, Baumann<sup>3)</sup> sieht in dieser Annahme die Ursache, warum er lange Zeit die Kresylschwefelsäure in den Salzen desselben übersehen konnte. Nachdem

---

<sup>1)</sup> Die in dieser Beziehung von uns erhaltenen Resultate aus angesetzten praktischen Vegetationsversuchen, sowohl als auch die Ergebnisse von Untersuchungen der Nitrifikationsvorgänge sollen seinerzeit an einem andern Orte veröffentlicht werden.

<sup>2)</sup> Handb. d. physiol. u. path. chem. Anat., 4. Aufl., S. 108.

<sup>3)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. IX, S. 1389 (1876.)

dieser Forscher das Vorkommen von Phenyl-<sup>1)</sup> und Kresylschwefelsäure<sup>2)</sup> im Pferdeharn durch die Elementaranalyse sichergestellt hat, findet er es notwendig, auch Städeler's Angabe betreffend Vorkommen von Kresolen im Kuhharn genauer zu prüfen und kommt zum Schlusse, daß das erhaltene Produkt jedenfalls nur zum kleinern Teil aus gewöhnlichem Phenol bestand. Später gelingt es ihm, das Verhältnis der Phenole genauer zu bestimmen, und er schließt aus der Analyse ihrer Sulfosalze, daß die aus dem Pferdeharn gewonnenen Phenole zu mehr als 85% aus p-Kresol bestanden.<sup>3)</sup> Preusse<sup>4)</sup> vertritt folgende Ansicht: «Wir hätten somit aus dem Pferdeharn ein Gemenge von Kresolen erhalten, welches auch bei der trockenen Destillation der Pflanzen gewonnen wird. In betreff des Mengenverhältnisses ist noch beizufügen, daß das p-Kresol weitaus am reichsten, Orthokresol in geringer Menge und Metakresol, wie es scheint, nur in Spuren vorhanden ist».

Dies sind, in Kürze angegeben, die einzigen uns in der Literatur zugänglich gewesenensichern und mit Analysen belegten Forschungsergebnisse über das Vorkommen von Phenolen im normalen Harn des Pflanzenfressers. Der Grund, warum bis auf heute allgemein angenommen wird, daß jeder Harn aus einem Gemisch von Phenol und Kresol bestehe, liegt wohl in einer Verallgemeinerung Baumanns, der schreibt (*loc. cit.*): «Von den unter normalen Verhältnissen im Harn von Säugetieren vorkommenden, aromatischen Schwefelsäuren habe ich bis jetzt die Phenyl- und eine Kresylschwefelsäure in ihren Kaliumsalzen darstellen können» und andernorts: «Das Mengenverhältnis, in welchem Phenyl- und Kresylschwefelsäure im Harn der Pflanzenfresser vorkommen, ist wechselnd und abhängig von der Fütterung».

Was nun den Kuhharn anbetrifft, so können wir diese Ansicht nicht gelten lassen. Schon bei unsern frühern analytischen Untersuchungen war uns das Fehlen der charakteristischen

<sup>1)</sup> Idem, Bd. IX, S. 54.

<sup>2)</sup> Pflügers Archiv, Bd. XIII, S. 285.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 186 (1882).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 355 (1879).

Trijodphenolfärbung stets aufgefallen. Wir nahmen uns deshalb vor — schon zur Klärung der Frage des anzuwendenden Faktors bei der Umrechnung der Titrationsresultate (Kossler-Penny) —, die zur Gewinnung des hypothetischen Öls erforderlichen Mengen Kuhharn auch auf ihren Phenolgehalt zu untersuchen. Im Laufe dieser Untersuchungen wurden gegen 3000 l Harn, herkommend von Kühen verschiedensten Alters, unter Sommer- und Winterregime und bei verschiedenster Fütterung gesammelt und nach folgendem Verfahren verarbeitet: Der sofort nach seiner Fassung auf dem Wasserbade bis zu einem Zehntel seines Volumens eingedampfte Kuhharn wird portionsweise zu je 500 g mit 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert und so lange der Destillation unterworfen, bis im letzten Destillate keine Millonreaktion mehr erzeugt werden kann. Die vereinigten Destillate werden mit kohlen-saurem Kalk alkalisch gemacht und im  $\text{CO}_2$ -Strom neuerdings destilliert. Die übergegangenen Portionen werden mit Kalilauge leicht alkalisch gemacht und durch eine erstmalige Ausschüttelung mit reinstem Petroläther im Scheidetrichter die Hauptmenge des Öls daraus gewonnen. Die wässerige, alkalische, die Phenole enthaltende Flüssigkeit wird nun auf dem Wasserbade konzentriert, im Katzschen Extraktionsapparat nochmals mit Petroläther extrahiert und nach Entzug des Ölrestes mit verdünnter Schwefelsäure leicht übersäuert. Nach Erschöpfung mit dem gleichen Extraktionsmittel ist die früher gelbe Lösung farblos klar und reagiert nicht mehr mit Millons Reagens; gewiß ein sicheres Zeichen, daß die Phenole quantitativ ausgezogen worden sind. Nach dem Abdunsten des Petroläthers der sauren Extraktion erhält man als Rückstand einen braunschwarzen Sirup, der alle Reaktionen des Kresols zeigt.

Die Vakuumdestillation mittels der Wasserstrahlpumpe vollzog sich bei einer konstanten Temperatur von 133—134° bei 15 mm Druck und erhalten wurde ein farbloses, lichtbrechendes, dickflüssiges Öl von intensivem Kresolgeruch.

Eine Siedepunktsbestimmung nach Siwoloboff ergab 200° C.

Nach Vervollkommnung des Heizapparates, resp. Ersatz

des offenen, durch ein mit Kupferumhüllung geschlossenes Paraffinbad erhielten wir bei 23 mm Druck und einer Siedetemperatur von 105—116° sogar vier Fraktionen von gleicher, leicht gelblicher Farbe und Kresolgeruch. Die Siedepunktbestimmungen nach Schleiermacher ergaben:

Für Fraktion 1:	im Mittel	198,5	bei	760	mm
»	»	2:	»	200	» 760 »
»	»	3:	»	202	» 760 »
»	»	4:	»	203	» 760 »

Ließen schon diese physikalischen Daten auf vollständige Abwesenheit von Phenol schließen (aus ca. 3000 l), so ergaben die Resultate der Elementaranalyse erst recht die Gewißheit, daß die von uns in ihrer Gesamtheit gewonnenen Phenole ausschließlich Kresole sein können. Es gelang uns, durch plötzliche Abkühlung mit fester Kohlensäure sofort die dickflüssigen Fraktionen zum Krystallisieren zu bringen. Nach Vereinigung der vier Portionen in einem Gefäß und Stehenlassen im Exsikkator erhielten wir schon bei Zimmertemperatur prächtige Krystalle.

Die Elementaranalyse ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_4$ $\begin{cases} CH_3 \\ OH \end{cases}$ :
C = 77,17 resp. 77,67%	C = 77,06%
H = 8,33 » 8,40%	H = 8,26%
O = 14,50 » 13,93%	O = 14,68%

Die Bestimmung des Molekulargewichts mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung ergab die Zahlen 121 resp. 123, die Stickstoffbestimmung nach Dumas und Kjeldahl ergab kein Resultat, während ein im Vakuumkölbchen verbleibender Destillationsrest ziemlich stark stickstoffhaltig ist.

Da der Siedepunkt des Phenols 178,5, derjenige von Parakresol 201,8 ist, Metakresol aber bei 202,8 und die Orthoverbindung bei 190,8 siedet, dürfen wir mit Recht annehmen, daß im Kuhharn normalerweise Phenol überhaupt nicht vorkommt, derselbe also bloß Kresole enthält, deren Orthoverbindung ebenfalls zu fehlen scheint. In dieser Erkenntnis liegt auch die Begründung, warum wir bei unsern vorhergehenden



Bestimmungen stets nur den Faktor für p-Kresol (1,802) in Anwendung brachten.

### Das Öl Städeler's,

welches mittels der Petrolätherextraktion aus der alkalischen Kresollösung leicht zu gewinnen ist, wird nach mehrmaligem Dekantieren mit Wasser in 2 Portionen von 18 resp. 20 g zur Reinigung mit 20 ccm 10%iger Kalilauge versetzt und im Katz-Extraktionsapparat nochmals mit reinstem Petroläther ausgezogen. Das beinahe vollständig zurückgewonnene Öl wird nun bei Kathodenlichtvakuum destilliert und in nur einer Fraktion ein klares, schwach gelbes, stark lichtbrechendes Destillat erhalten, das bei Abkühlung in fester Kohlensäure in Nadeln krystallisiert wird. Der Destillationsrückstand ist braunschwarz, pechartig und enthält wie der der Kresole noch einen stickstoffhaltigen Körper, der wohl die Ursache der Annahme Städeler's ist, daß das Öl stickstoffhaltig sei.

Wiederholte, von uns ausgeführte Stickstoffbestimmungen nach Dumas ergaben stets eine innerhalb der Fehlergrenze liegende Gasansammlung im Auffangrohr. Beispielsweise erhielten wir mit der größten verwendeten Ölmenge von 0,2560 g nur 0,7 ccm Gas. Desgleichen führten wiederholt Bestimmungen nach Kjeldahl zu keinen Ergebnissen und später öfters vorgenommene Prüfungen des Chloralciums der Wasserbestimmungsröhren mit Diphenylamin zeigten keine Blaufärbung, so daß mit Sicherheit das Öl als nichtstickstoffhaltig erklärt werden darf.

### Elementaranalyse des Öls.

Von den vielen, mit verschiedenen Portionen des Öls ausgeführten Bestimmungen seien hier diejenigen größter Differenz angegeben:

0,100	g Öl	ergaben	0,0706	g H <sub>2</sub> O	und	0,2856	g CO <sub>2</sub>
0,1234	> >	>	0,0839	> >	>	0,3516	> >
0,1458	> >	>	0,1018	> >	>	0,4185	> >
0,0861	> >	>	0,0604	> >	>	0,2466	> >

Somit gefunden:		Berechnet für die Formel
Für C: 77,88%	Für H: 7,84%	$C_7H_8O$ :
77,68%	8,04%	C = 77,06%
78,18%	7,76%	H = 8,26%
78,08%	7,79%	O = 14,68%
Für O im Mittel: 14,18%		

## Bestimmung einiger physikalischer Konstanten des Öls.

Siedepunktsbestimmung nach Schleiermacher: im Mittel  $199,9^\circ$  (korr.).

Molekulargewicht: 126,9 resp. 131,7 (nach Gefrierpunkts-erniedrigung).

Spezifisches Gewicht: 1,0201 bei  $15^\circ$  C.

Brechungsexponent (mittels des Pulfrichschen Refraktometers): im Mittel 1,5289 bei  $24^\circ$  C.

Eine ätherische Lösung des Öls zeigte sich als optisch inaktiv.

## Chemische Eigenschaften des Öls.

Isomer mit den Kresolen, zeigt das Öl auch annähernd den gleichen Siedepunkt und Reaktionsfähigkeit mit Millon. Typisch für dasselbe ist der charakteristische Güllegeruch, der allen mit ihm in Berührung gekommenen Objekten hartnäckig anhaftet. Trotz seines hohen Siedepunkts ist es leicht flüchtig. In Wasser ist das Öl unlöslich; Alkohol, Petroläther, Äther, Benzol, Aceton, Eisessig dagegen lösen es leicht. In Alkalien vorerst unlöslich, verschwindet die milchige Suspension beim Erhitzen unter Entwicklung eines eigentümlichen, an Cymol erinnernden Geruchs. Reaktion mit Lackmus: neutral. Millons Reagens färbt die kleinsten Spuren zwiebelrot. Mit Fehlings Lösung gibt es keine Reaktion, mit Natriumbisulfit keine Verbindung und mit Silbernitrat keine Reduktion. Phloroglucin mit Salzsäure ruft keine Färbung, dagegen löst sich das Öl in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe. Wie schon erwähnt, enthält das Öl keinen Stickstoff, entgegen der Beobachtung Städeler's, der dasselbe nicht rein erhalten konnte.

### a) Oxydationsversuche.

Verhalten gegen Chromsäure. 1 g Öl wurde in 20 g Eisessig gelöst und tropfenweise eine Lösung von Chromsäure

bekanntem Gehalts zugesetzt bei Wasserbadtemperatur von 40—55°. Nach mehrtägigem Stehen konnte durch Wasserzusatz kein Oxydationsprodukt erhalten werden, auch das Öl war nicht mehr zurückzugewinnen, sein Geruch war vollständig verschwunden — Oxalsäure war in der Flüssigkeit nicht nachweisbar. Verdünnte Chromsäurelösungen hatten keine Wirkung.

Verhalten gegen Salpetersäure von 1,51 sp. Gew. Unter stetem Kühlen wurden 2 g Öl mit Kapillarpipette tropfenweise und unter Schütteln in diese Salpetersäure gebracht und nach Erkalten und längerem Stehenlassen die Mischung am Rückflußkühler auf dem Wasserbad bei einer Temperatur von 50° gehalten. Es bildete sich eine schwammige, orangegelbe Masse, die in Äther leicht löslich war, gereinigt teilweise erstarrte und, in Äther gelöst, noch sauer reagierte. Bei dem Versuch, dieses Produkt zu fraktionieren, entstanden schon bei 78° nitrose Dämpfe und die ganze Masse war bei 94° verkohlt. Auch spätere Versuche, mit Zinkcarbonat ein Salz zu erhalten, verliefen resultatlos. Nicht bessere Erfolge hatten wir bei Oxydationsversuchen mit verdünnter Salpetersäure und Wasserstoffsuperoxyd in Aceton.

Verhalten gegen Permanganat. Bei der Prüfung auf Doppelbindung mit Bayers Reagens war in essigsaurer Lösung durch längeres Stehen ein unlöslicher, gelbbrauner Niederschlag von organischer Natur erhalten worden. Infolgedessen versuchten wir, das Öl mit Permanganatlösung  $1/50$ -normal zu oxydieren. Die Entfärbung war anfangs eine momentane, nach und nach aber wurde die Lösung zusehends dunkler und später schied sich eine schmutzig gelbbraune, an den Wänden hartnäckig anhaftende, klebrige Masse aus, während die nun folgenden Manganatzusätze längeres Schütteln bis zur Entfärbung erforderten. Nach anscheinend eingetretener Beendigung der Oxydation wurde die Reaktionsmasse der Ruhe überlassen. Der nach einigen Tagen abgesetzte Niederschlag kann auf dem Filter gesammelt werden als harzartige, amorphe Masse, die sich gut in warmem Eisessig löst und zugefügtes Permanganat aufs neue entfärbt. Diese Zusätze des Oxydationsmittels werden bis zu bleibender Rotfärbung fortgesetzt. Da sich weder ein

Niederschlag, noch eine in der Säure gelöste, feste Substanz nachweisen läßt, wird die essigsäure Lösung mit verschiedenen Extraktionsmitteln behandelt. Petrol- und Äthylätherauszug ergeben einen angenehm riechenden, dadurch an Amylacetat erinnernden Rückstand, der harziges Aussehen hat und nicht krystallisierbar ist. Auch dies ist keine einheitliche Substanz, sondern löst sich teilweise in Alkohol (mehr warm als kalt), teilweise in Äther und der Rest in einer Mischung von Alkohol und Äther. Alle ausgeführten Krystallisationsversuche verlaufen erfolglos. Gleichwohl wurden diese Oxydationsversuche wiederholt und zwar mit 5%iger Permanganatlösung.

2 g Öl wurden damit im Schüttelapparat nach Zusatz von etwas Alkohol tagelang geschüttelt unter Erneuerung des Manganatzusatzes bei jeweiliger Entfärbung. Auch hier bildet sich nach und nach die harzige klebrige Masse, welche durch weitere Zusätze des Oxydationsmittels langsam wieder verschwand. Auch der angenehm aromatische Geruch trat auf und ließ sich durch Behandlung mit Äther der Flüssigkeit entziehen.

Nach beendigter Oxydation — es waren 12 g  $\text{MnO}_4\text{K}$  verbraucht worden (!) — wurde durch Natriumbisulfit entfärbt und eine klare, mostgelbe Lösung erhalten. Im Dampfstrom destilliert, ergab sie ein Destillat von neutraler Reaktion, in welchem filzige Nadeln suspendiert waren, die, nach ihrem Schmelzpunkt zu schließen, identisch mit dem durch wässrige Kalilauge erhaltenen Produkt sind. Alle weiteren Anstrengungen, andere Reaktionsprodukte zu erhalten, blieben erfolglos; auch keines der üblichen Extraktionsmittel vermochte einen definierbaren Körper auszuziehen. Unter Hinweis auf die Resultate der Kalibehandlung erwähnen wir hier ausdrücklich, daß weder Benzoesäure noch Phenole auch nur qualitativ je nachgewiesen werden konnten, obwohl wir diese Oxydationsversuche zur Vermeidung der Zersetzung leicht angreifbarer Produkte auch in neutraler Lösung und unter Verwendung von Natriumformiat statt Bisulfit fortsetzten.

b) Reduktions- bzw. Hydrierungsversuche.

Behandlung des Öls mit Natrium in Ätherlösung.  
10 g Öl werden in zehnfachem Gewicht Äthyläther (nicht ent-



wässert) gelöst und Natriumschnitzel portionsweise eingetragen. Nach Beendigung der H-Entwicklung und eintägigem Stehen wird filtriert, der Ätherverdunstungsrückstand mit Wasser aufgenommen und im Extraktionsapparat mit Petroläther erschöpft. Das so gewonnene Öl erinnert nach Eigenschaften und Aussehen an das ursprüngliche Produkt. Die Prüfung auf eine entstandene Natriumverbindung verläuft negativ, es lassen sich auch keine weiteren wasserlöslichen Substanzen nachweisen. Nach vorgenommener Reinigung und Destillation läßt sich das Öl zu weiteren Untersuchungen wieder verwenden.

Behandlung mit Essigsäure und Zinkstaub. 1 g Öl, in 200 ccm Eisessig gelöst, werden am Rückflußkühler auf dem Wasserbad mit gereinigtem Zinkstaub während zwei Tagen der Digestion unterworfen, indem von Zeit zu Zeit frischer Zinkstaub in kleinen Mengen eingetragen wurde. Nach Erkalten und Verdünnen mit Wasser tritt keine Fällung ein; Extrahieren mit Petroläther aber läßt das unveränderte Öl wieder zurückgewinnen.

### c) Halogenieren.

Verhalten des Öls gegen Brom. Versetzt man die Chloroformlösung des Öls (1,5 g) mit einigen Tropfen einer Lösung von 10 g Brom in 50 g Chloroform, so dauert es ziemlich lange, bis die Braunfärbung verschwindet, während mit verdünnter Bromlösung dies sofort eintritt. Nach Zusatz von 2 g Brom hinterbleibt beim Verdunsten des Chloroforms ein Öl, das nach Wegnahme des Bromüberschusses nicht zum Krystallisieren gebracht werden konnte. Trotz aller Reinigungsverfahren mit Petroläther und Alkohol blieb es sirupartig und zeigte wenig einladende Eigenschaften. Da ein Auftreten von Bromwasserstoff nicht konstatiert werden konnte, kann es sich wohl nur um ein Additionsprodukt handeln, dessen Natur noch aufgeklärt werden muß.

Verhalten gegen Jod. Wie wir im analytischen Teil nachgewiesen haben, beeinflußt die Gegenwart dieses Öls die Phenolbestimmung nach Messinger-Vortmann in ungünstiger Weise. Umgekehrt aber ist gerade diese Methode deshalb ge-

eignet, das Jodprodukt des Öls zu liefern. Zu diesem Zweck wird eine abgewogene Menge desselben am besten im Schottkolben mit eingeriebenem Stöpsel abgewogen, Wasser und etwas  $\frac{1}{10}$ -n-Natronlauge zugesetzt und der Kolben im Wasserbad auf  $60^\circ$  erwärmt. Nach Zusatz der vorgeschriebenen Jodlösung bis zu bleibender Braunfärbung wird einige Stunden (über Nacht) gewartet und alsdann nach Zusatz von Schwefelsäure und Stärke mit Thiosulfat der Jodüberschuß zurücktitriert. Die Entfärbung tritt mit dem letzten Tropfen scharf und sofort ein, das Jodprodukt bildet einen schmutziggrünen Niederschlag, der mühelos auf einem Filter gesammelt werden kann und nach dem Trocknen über Schwefelsäure ein Pulver gleicher Farbe darstellt.

#### Ausgeführte Bestimmungen:

0,1314 g	erfordern	58,8 ccm	$\frac{1}{10}$ -Jodlösung,	entsprechend	0,7438 g	Jod
0,0343	»	15	»	»	0,1898	»
0,0122	»	6,25	»	»	0,0791	»
0,2149	»	101,5	»	»	1,284	»

Daraus berechnet sich die Jodkapazität des Öls  $C_7H_8O$ :

Aus 1.	zu 611 g	Jod,	und hieraus	die Anzahl	Jodmoleküle	=	2,4
» 2.	» 597	»	»	»	»	=	2,35
» 3.	» 700	»	»	»	»	=	2,75
» 4.	» 646	»	»	»	»	=	2,5

Nach diesen Resultaten zu schließen, bildet das Öl ein Dijodprodukt.

Einwirkung von Jodwasserstoffsäure. Das bei der Zeiselschen Oxymethylbestimmungsmethode erhaltene Reaktionsgemisch wird mit Natriumbisulfid behandelt und die saure Lösung mit Äther erschöpft. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol wird eine weiße Masse erhalten, die gleiche Eigenschaften wie das KOH-Produkt aufweist. Spätere, im Einschlußrohr ausgeführte Behandlungen des Öls mit HJ von 1,7 spezifischem Gewicht führten zu dem gleichen Reduktionsprodukt.

Einwirkung von Salzsäure. Wird trockenes Salzsäuregas in eine Petrolätherlösung des Öls geleitet, so bilden sich bald rötliche Tropfen, bis schließlich sich ein brauner Körper ausscheidet, der Neigung zur Krystallisation zeigt. Im Einschlußrohr mit konzentrierter HCl längere Zeit bei Wasserbadtempe-

ratur erhitzt, bildet das Öl eine braunschwarze, flüssige Masse, die beim Erkalten erstarrt.

d) Prüfung auf das Vorhandensein von Oxymethylgruppen nach Zeisel.

Wiederholte Behandlung des Öls mit HJ nach dieser Methode ergab nie auch nicht den kleinsten Niederschlag von Jodsilber, sodaß mit Sicherheit das Fehlen obiger Verbindungen im Ölmolekül angenommen werden muß. Jeweils nachher ausgeführte Kontrollbestimmungen mit Alkohol überzeugten uns von der Beweisfähigkeit des negativen Versuchs. Das Reaktionsgemisch weist einen teerartigen Geruch auf und gestattete die Isolierung des unter HJ-Behandlung erwähnten Produkts.

e) Reaktionsfähigkeit mit den Ketonreagenzien der Terpenreihe.

Verhalten gegen Semicarbacidchlorhydrat. Auf den Rat von Herrn Prof. Rupe, der in dem Öl ein Keton vermutete, versuchten wir, mit Semicarbacid krystallisierende Verbindungen des Öls herzustellen. Da die Fällung von 1,0 g Öl mit 1,0 g Natriumacetat und 0,8 g Semicarbacidchlorhydrat in Wasser und Eisessig nur schwer wieder in Lösung gebracht werden konnte, nach eintägigem Stehen bei Zusatz von Wasser sich aber milchig trübte, versuchten wir, die Verbindung aus Alkohol zu gewinnen. Dazu wurden 3 g Öl in absolutem Alkohol in die Mischung von 2,4 g Semicarbacid und 3 g Natriumacetat gebracht, im Scheidetrichter geschüttelt und fünf Tage der Ruhe überlassen. Die anfangs klare, hellgelbe Flüssigkeit ist nach dieser Zeit trübe und auf den Gefäßwänden zeigen sich krystallinische Gebilde. Tropfenweise in Wasser gebracht, fällt eine milchige Wolke aus. Im Extraktionsapparat mit Äthyläther erschöpft, gibt diese Lösung einen Auszug von brauner Farbe und sirupartiger Beschaffenheit; nach Erkalten hat sich eine helle Krystallhaut an seiner Oberfläche gebildet, ohne daß die eingeschlossene Lösung feste Form annehmen will. Nach Auflösen in Alkohol wird das klare Filtrat der Verdunstung überlassen und da auf diese Weise keine Trennung

der krystallinischen Masse von dem Sirup möglich ist, wird durch Dekantieren mit heißem Wasser das harzige Öl entfernt und der in heißem Wasser unlösliche, krystallinische Teil von gelblichem Aussehen auf einem Filter gesammelt. Leider reichte seine Menge nicht aus, um ein möglicherweise gebildetes Carbacon nachweisen zu können; die vorgenommene Prüfung auf Stickstoff mit Na metall. zeigt deutlich das Vorhandensein dieses Elementes.

Obwohl wir später mit besonderem Interesse der Herstellung von Semicarbaconen einen großen Teil der jeweils frischgewonnenen Ölmengen opferten, gelang es uns nie mehr, krystallinische Verbindungen zu erhalten. Wir müssen deshalb annehmen, daß das Öl in der durch seine Herstellungsweise bedingten Form keine Ketonverbindung sein wird, was auch die nachstehenden Resultate zu bestätigen scheinen.

Verhalten gegen Amidoguanidinchlorhydrat. Wird der in Äther suspendierte Auszugsrückstand des Gemisches von Amidoguanidinchlorhydrat mit Öl in filtrierte wässrige Pikrinsäure gegossen, so tritt sofort eine citronengelbe Fällung ein. Reinigung durch Lösen in Alkohol führt zu einem braunen Sirup, der stickstoffhaltig ist, jedoch trotz aller Bemühungen nicht zum Krystallisieren gebracht werden kann.

Verhalten gegen Hydroxylaminchlorhydrat. Die Ausführung dieses Versuchs nach Wallach ergab deutlich die Reaktionslosigkeit des Öls mit diesem Reagens. Dagegen erhielten wir unter gewissen nicht näher erkannten Umständen resp. Bedingungen einen filzigen Niederschlag, der sich als identisch mit dem durch Kalilauge erhaltenen Kohlenwasserstoff erwies (siehe hinten Elementaranalysen des Urogen). Sein Entstehen dürfte auf die Anwendung von Kalihydroxyd zurückzuführen sein.

#### f) Kondensationsversuche.

Verhalten gegen wässrige Kalilauge. Merkwürdig ist der Einfluß einer wässrigen Kalilösung auf das Öl. Schon in der Kälte tritt bei jeder Berührung kleinster Mengen des vorher im Vakuum fraktionierten Öls mit nicht zu verdünnter



Lauge ein terpenartiger Geruch auf, besonders dann leicht bemerkbar, wenn das Öl in Gasform mit Kalilauge in Berührung kommt, was wir bei allzu rasch verlaufenen Verbrennungen nach Dumas des öfteren konstatieren konnten. Das hierbei aufgefangene Gas war leicht entzündbar.

Schon ein erster Versuch, bei welchem 2 g Öl mit 5%iger Kalilauge am Rückflußkühler gekocht wurden, ergab durch Petrolätherextraktion ein Gemisch von grünlichen Tropfen mit einer weißlichen, paraffinähnlichen Masse. Bei Kathodenlichtvakuum ging die Destillation dieses Gemisches ungleich langsamer vonstatten, als die des nicht umgewandelten Öls. Der Siedepunkt stieg im Vakuum auf über 150°. Eine Trennung konnte auf diese Weise nicht erreicht werden. Das Reaktionsgemisch, kalt, leicht in Stücke zerschneidbar, brachten wir nun im Einschlußrohr mit Kalilauge von 1 : 1 in Berührung. Unter häufigem Umschütteln wurde die Röhre 6 Stunden im Wasserbad erhitzt. Eine anfangs gebildete braune Masse wird zusehends geringer und erweckt den Anschein der Muttersubstanz zweier, am Ende des Versuchs vorgefundener Produkte: eines Harzes und filziger Nadeln, die sich bei Erkalten als weiße Masse in Schuppen ausscheiden. Petroläther löst diese; deshalb wird der Rohrinhalt im Katzschen Extraktionsapparate damit erschöpft. Der Petrolätherrückstand ist gelblich und scheidet beim Erkalten vorwiegend weiße, filzige Nadeln aus. In heißem Alkohol mit Mühe gelöst, fallen diese Nadeln beim Erkalten desselben mit blendend weißem Glanze aus und werden durch Filtration gesammelt. Nach Auswaschen und zweimaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wird die weiße Masse im Vakuumexsikkator getrocknet. (S. Elementaranalysen des Urogen.)

Verhalten in der Kalischmelze. 5 g Öl wurden in ein Vakuumdestillationskölbchen gebracht, anderseits eine gleichgroße Menge festen Kalihydroxyds im oberen Teil des Kölbchens durch vorsichtiges Erwärmen zum Schmelzen gebracht. Die tropfenweise in das Öl fließende Lauge verwandelt diese in eine orangefarbene, nun selbsttätig sich mehr und mehr erhitzende Masse. Das Kölbchen blieb während dieses Vorganges geschlossen, jedoch unter gewöhnlichem Druck. Erst nach Er-

kalten wird die Vakuumpumpe in Gang gesetzt und das Kölbchen im Paraffinbad langsam erhitzt. Bei eintretendem Sieden (äußere Badtemp.  $112^{\circ}$ ) destilliert bald ein vereinzelter Tropfen eines lichtbrechenden, farblosen Öls über, der in dem von Kohlen-säureschnee umgebenen U-Rohr aufgefangen wird. Während der nun folgenden halbstündigen Unterhaltung des Kochens tritt kein weiteres Destillationsprodukt mehr auf, obwohl die äußere Badtemperatur bis auf  $185^{\circ}$  gebracht wird, ohne das ruhige Sieden zu beeinflussen. Nach Unterbrechung der Operation enthält das U-Rohr im Kältegemisch etwas Eis, das nach dem Schmelzen den zu Anfang der Destillation übergegangenen Öltropfen als stark lichtbrechendes, wasserhelles und terpenartig riechendes Öl aufschwimmen läßt. Der Kölbcheninhalt wird nach Erkalten in Wasser gelöst und filtriert. Neben einem braunen, voluminösen, aber kaum wägbaren Rückstand wird ein hellgelbes, klares Filtrat erhalten. Durch Einleiten von gewaschener Kohlensäure wird vorerst eine Trübung, darauf eine dunkle Ausscheidung hervorgerufen. Der kreosotartige Geruch, sowie ihre Destillationsfähigkeit im Dampfstrom lassen dieselbe als ein Phenol ansprechen. Weitere Bemühungen, aus dem phenolfreien alkalischen Destillationsrückstand andere Reaktionsprodukte zu erhalten, sind ergebnislos.

Um das so entstandene Phenol einigermaßen charakterisieren zu können, wird der noch vorhandene Rest an Öl der gleichen Behandlung mit Kalihydroxyd unterworfen.

15 g Öl werden mit der gleichen Gewichtsmenge Kalihydroxyd am Rückflußkühler eine Stunde im Sieden erhalten. Bemerkenswert ist das Auftreten des eigentümlichen, terpenartigen Geruchs. Nach Erkalten wird die alkalische Lösung vorerst im Dampfstrom ohne Einleiten von  $\text{CO}_2$  im Sieden erhalten und dadurch der vorstehend erwähnte Geruchsträger entfernt. Nach Sättigung der Lösung mit Kohlensäure wird neuerdings in Dampf- und  $\text{CO}_2$ -Strom destilliert, bis die Prüfung mit Millon negativ bleibt. Das Destillat wird mit festem  $\text{NaCl}$  übersättigt und die Phenolmenge dadurch ausgeschieden. Durch Lösen in Petroläther wird das Phenol gewonnen; weitere Abbauprodukte sind auch hier nicht nachweisbar.

Nach einer ersten Destillation im Vakuum wird das Phenol mit geschmolzenem Natriumsulfat behandelt und nach längerem Stehen über Baryumsuperoxyd einer zweiten Vakuumdestillation bei Kathodenlicht unterworfen, wobei die Gesamtmenge bei einer äußern Badtemperatur von  $70^{\circ}$  anstandslos destilliert. Das auf diese Weise erhaltene Phenol ist eine farblose, stark hygroskopische, wasserhelle Flüssigkeit, die im Laufe weniger Tage trotz sorgfältigen Luftabschlusses gelblichgrün wird. Erst im Kohlensäureschnee erstarrt dieselbe zu feinen, baumwollartigen Krystallfädchen, die bei gewöhnlicher Temperatur bald wieder schmelzen.

### g) Umwandlungsfähigkeit des Öls.

Nach den angeführten Versuchen zeigt das wenig reaktionsfähige Öl, für dessen nähere Bezeichnungen wir — trotz der Ergebnislosigkeit des angestrebten Ketonnachweises — vorläufig den Namen Urogon vorschlagen, eine besondere Empfindlichkeit gegenüber der Kalibehandlung. Während wässrige Lauge einen Kohlenwasserstoff ergibt, liefert die Schmelze mit festem Kali ein Phenol.

Diese Ergebnisse sind um so auffallender, da wir gerade der Anwendung von verdünnter Kalilauge die Möglichkeit einer quantitativen Trennung des frischgewonnenen Urogons von den Harnphenolen verdanken, ohne anderseits das Auftreten des Kohlenwasserstoffes je bemerkt zu haben. Vorstehende Erwägungen drängten uns deshalb die Vermutung auf, daß das aus der Vakuumdestillation hervorgegangene Urogon eine Veränderung durchgemacht haben müsse, möglicherweise die Fähigkeit besitze, sich intramolekular umzulagern. Eine Stütze dieser Annahme sehen wir in der Tatsache der Farbveränderung, sowie in der Beobachtung, daß nämlich jedesmal, wenn die Trennung des Urogons von den Phenolen nicht sofort nach dem Zusatz der nötigen Kalilauge vorgenommen werden konnte, die erst nach mehrtägigem Stehen ausgeführte Petrolätherextraktion verhältnismäßig wenig oder gar kein Urogon ergab. Da wir uns, wie früher erwähnt, von der Unlöslichkeit alkalischer Phenolate in Petroläther durch quantitative und quali-

tative Versuche zur Genüge überzeugt haben und auch Gemische der isomeren Kresole mit Phenol kein anderes Verhalten zeigten, sogar tagelanges Extrahieren solcher Mischungen mit Petroläther keine wägbaren Verluste ergaben, liegt es nahe, auch dem Urogon phenolartige Eigenschaften zuzuschreiben, in den Fällen, da es sich bei Gegenwart von KOH nicht mehr wie früher in Petroläther löst. Dieser Überlegung folgte nachstehender Versuch:

2 g Öl wurden in Äthyläther gelöst und mit 10%iger KOH geschüttelt. Die gelblichgrüne Ätherlösung wurde bald durch die alkalische Flüssigkeit entfärbt. Nach halbstündigem Schütteln war der Entzug vollständig, wie die Prüfung eines Probeversuchs mit Millon klarlegte. Der Äther hinterließ einen geringen Rückstand, der sich glatt in Alkohol löste, somit den typischen Kohlenwasserstoff nicht enthielt. In der wässrig alkalischen Lösung aber ergab die Sättigung mit Kohlensäure einen Niederschlag, und darauffolgende Destillation im Dampfstrom eine milchige Flüssigkeit, die neutral reagiert, mit Millon sich weinrot färbt und erfrischenden Geschmack besitzt. Ein ähnliches Resultat zeitigte die Behandlung einer Petrolätherlösung von Urogon mit 1%iger KOH. Nach vollständigem Entzug wurde die wässrige Lösung mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  angesäuert und durch Petroläther daraus ein bräunliches Öl erhalten, das sich leicht in KOH löste, im Wasserdampf destilliert, milchige Trübung ergab und sich rötlich mit konzentrierter  $\text{SO}_4\text{H}_2$  färbte. Mit Eisenchlorid gab es eine Färbung, die wir stahlblau nennen möchten, mit Millon intensiven roten Niederschlag. Bromwasser gab eine weißgelbe Trübung, dagegen Salpetersäure keinen wahrnehmbaren Farbstoff. Von Öl unterscheidet sich dieser Körper durch seinen phenolartigen Geruch.

In dieser Möglichkeit der Umwandlung des Urogons in einen phenolartigen Körper liegt vielleicht auch die Erklärung der Zunahme des Phenolgehaltes bei unsern Kuhharnuntersuchungen; im Haushalte der Natur aber hätte diese Fähigkeit die Bedeutung, daß gerade die durch allzu große Reinlichkeit keineswegs geplagte Bevölkerungsklasse in ihrem charakteristischen «Stallgeruch» auch eine Art von Desinficiens an sich trägt.



### Chemische Untersuchung der Ölderivate.

Wie vorstehend ausgeführt, ergibt einzig die Kalibehandlung aus dem Urogen genau definierbare, faßbare Reaktionsprodukte: einerseits einen Kohlenwasserstoff, den wir mit Urogen bezeichnen, anderseits ein Phenol, das Urogol. Aus dem bei der Darstellung des Kohlenwasserstoffs auftretenden harzartigen Körper kann durch nachherige Kalischmelze ebenfalls Urogol erhalten werden, während Schmelzversuche mit Urogen kein Phenol ergaben. Auch das in Alkohol leicht lösliche Harz ergibt mit den Ketonreagenzien keine Verbindungen.

### Urogen.

Sowohl aus dem Urogen, als auch aus dem nach seiner Destillation im Vakuumkölbchen verbleibenden stickstoffhaltigen Rückstand läßt sich durch wässrige Kalilauge der Kohlenwasserstoff gewinnen. Sein zufälliges Auftreten unter andern Bedingungen haben wir vorstehend erwähnt.

#### Elementaranalysen:

a) Urogen von der KOH-Behandlung im Rohr: Schmelzpunkt = 59,5°.

0,1228 g = 0,1604 g H<sub>2</sub>O u. 0,3809 g CO<sub>2</sub>, entspr. H = 14,51%, C = 85,59%

0,1348 » = 0,1786 » » » 0,4229 » » » » = 14,72%, » = 85,55%

b) Urogen aus dem Rückstand der Öldestillation: Schmelzpunkt 60°.

0,072 g = 0,1003 g H<sub>2</sub>O u. 0,2260 g CO<sub>2</sub>, entspr. H = 15,48%, C = 85,60%

0,1093 » = 0,1560 » » » 0,3415 » » » » = 15,86%, » = 85,20%

c) Urogen vom Versuch der Oxymbildung: Schmelzpunkt 59,9°.

0,0686 g = 0,0892 g H<sub>2</sub>O u. 0,2157 g CO<sub>2</sub>, entspr. H = 15,45%, C = 85,78%

0,1271 » = 0,1705 » » » 0,3970 » » » » = 14,91%, » = 85,18%

d) Urogen, erhalten bei KOH-Behandlung 1:1. Schmelzpunkt 59,9°.

0,0970 g = 0,128 g H<sub>2</sub>O u. 0,3032 g CO<sub>2</sub>, entspr. H = 14,66%, C = 85,24%

0,1035 » = 0,1341 » » » 0,3218 » » » » = 13,39%, » = 84,80%

Der Siedepunkt des Urogens wurde im Hochvakuum bei grünem Licht bei genau 140,0° liegend gefunden, die ungenauere Bestimmung unter gewöhnlichem Druck ergab 309—310°.

Die Bestimmung des Molekulargewichts ergab im Mittel 285,6.

Aus den vorstehend gemachten Angaben ergibt sich die Formel  $C_{21}H_{42}$ :

berechnet für  $C_nH_{2n}$ : C = 85,71%, H = 14,72%

gefunden im Mittel: C = 85,37%, H = 14,98%.

Trotzdem verhält sich das Urogen wie ein gesättigter Kohlenwasserstoff; Brom, in seine Schwefelkohlenstofflösung gebracht, wird trotz mehrtägiger Sonnenbelichtung nicht addiert. Dieser Körper krystallisiert anscheinend im monoklinen System und zwar in schönen, seidenglänzenden, feinen Nadelchen, die sich zu schuppenartigen Gebilden vereinigen. In kaltem Alkohol sind dieselben kaum löslich, schwer löslich in heißem Alkohol, unlöslich in Wasser. Dagegen löst sich das Urogen leicht in Benzol, Äther, Toluol, aus welchem letzterem es durch Alkohol leicht gefällt wird. Schwer löslich in Eisessig, leicht dagegen in Aceton und Petroläther gibt die Substanz mit keinem Reagens eine Färbung oder Fällung. Sie ist vollkommen geruchlos und von wachsartiger Konsistenz.

### Urogol.

Die Berechtigung, diesen Körper als ein Phenol anzusprechen, leiten wir ab aus seinem chemischen Verhalten. Schon bei der Kalischmelze erwähnten wir seine neutrale Reaktion, die Löslichkeit in Alkali, sowie die Leichtigkeit, mit welcher das Urogol aus solchen Lösungen durch  $CO_2$  wieder ausgeschieden wird. Seine Flüchtigkeit mit Wasserdampf, sowie das milchige Aussehen dieses Destillats, sein süßlicher Geschmack, die Färbung mit Millon und Eisenchlorid, seine Fällbarkeit mit Brom und Jod, endlich sein kreosotartiger Geruch sind alles Eigenschaften, die den Körpern der ihm zugewiesenen Klasse zukommen.

### Elementaranalyse:

a) 0,1160 g = 0,0831 g  $H_2O$  u. 0,3313 g  $CO_2$ , entspr. H = 7,874%, C = 77,892%

b) 0,1674 » = 0,1200 » » » 0,4787 » » » » = 7,965%, » = 77,996%

c) 0,0919 » = 0,067 » » » 0,2628 » » » » = 8,10%, » = 77,989%

Annähernd läßt sich aus diesen Ergebnissen die Bruttoformel  $C_7H_8O$  aufstellen, welche laut Berechnung C = 77,07%, H = 8,26% und O = 14,68% erfordert. Auffallend dagegen ist die beinahe theoretische Übereinstimmung der prozentischen

Zusammensetzung von Urogol und Urogon. Im Mittel ergab das letztere: C = 77,95, H = 7,83%, während Urogol im Mittel ergibt: C = 77,96, H = 7,98%.

Die Differenz dieser Zahlen mit denjenigen der Kresole — wiederum im Sinne eines größeren C-Gehaltes — scheint uns keine zufällige zu sein und hätte uns auch bewogen, für die gefundenen Körper die besser ihrer Zusammensetzung entsprechende Bruttoformel  $C_{15}H_{16}O_2$  aufzustellen, wenn nicht die ermittelten Molekulargrößen uns davon abhielten. Interessant ist auch das Resultat der Siedepunktbestimmung, die nach der genauen Methode von Schleiermacher

für Urogol im Mittel: 207,6° C. (korr.)

für Urogon 199,9° und

für p-Kresol 202,3° C. ergab.

Die weitere Untersuchung unseres Phenols ergab nachstehende Resultate:

Die Bromverbindung gibt einen gelblich weißen, wahrscheinlich nicht krystallinischen Niederschlag, der sich in Natronlauge mit weinroter Färbung löst.

Eisenchlorid ergibt die gleiche Färbung wie mit Kresol (para).

In konzentrierter Schwefelsäure löst sich das Urogol mit Rotfärbung, während die Kresole dies farblos tun. In Wasser ist unser Phenol sehr schwer löslich und gibt dabei eine milchige Trübung, die erst auf Zusatz von Alkohol verschwindet. Ein Gramm Urogol in 100 ccm  $H_2O$  erfordert hierzu 140 ccm Alkohol, während vergleichsweise alle drei Kresole sich anstandslos in der gleichen Menge Wasser ohne weitem Zusatz klar lösen.

Konzentrierte Salpetersäure ergibt einen orangegelb gefärbten Körper, leicht löslich in Äther und Alkohol, unlöslich in Wasser.

Die Molekulargewichtsbestimmung nach der Gefrierpunktsniedrigung ergab die Zahl: 113,3.

Die Polarisationssebene wird von einer wässerig-alkoholischen Lösung von Urogol nicht gedreht.

Der Brechungsexponent des Urogols beträgt: 1,53054 bei 26° C.

Nach der Methode Kossler-Penny läßt sich das Urogol unter Anwendung des Faktors für Parakresol quantitativ ermitteln, wie nachstehende Bestimmungen zeigen:

An Urogol abgewogen: 1. 0,900 g gefunden 0,0901 g  
 2. 0,1769 » » 0,1764 »

Als großen Unterschied im Verhalten des Urogols gegenüber demjenigen von Phenol und Kresol erwähnen wir das lästige Nachbläuen der Stärkelösung bei der Titration, welches das Ende derselben nicht sicher erkennen läßt. Diese Eigentümlichkeit, welche wir bei Indol und Skatol ebenfalls konstatierten, ist uns seinerzeit auch bei sämtlichen Phenolbestimmungen im gegärten Harn aufgefallen. Das Jodprodukt des Urogols ist auch im Aussehen von demjenigen des Parakresols und Phenols verschieden, indem es tief grasgrün ausfällt, während Phenol einen weinroten, Parakresol einen schmutzigrünen Niederschlag liefert.

Trotz des Widerspruchs, in den uns die Bruttoformel des aus Urogon mittels der Kalischmelze erhaltenen Phenols mit der Theorie versetzt, müssen wir das Urogol als einen durch seine Eigenschaften von den drei Kresolen verschiedenen Körper betrachten. Der höhere Siedepunkt, das Verhalten gegen gewisse Reagenzien, sein Geruch, sowie die schwere Löslichkeit in Wasser sprechen ganz für diese Auffassung. Dagegen wagen wir keine Behauptungen aufzustellen in bezug auf seine Entstehung aus Urogon. Wir haben vergebens uns bemüht, in letzterem möglicherweise die Ketoform des Kresols zu erkennen — eine Auffassung, die uns Herr Prof. Willstätter nahelegte —, und sind heute zur Ansicht gekommen, daß das Urogon zwar ein einheitlicher, aber eigenartiger Körper ist. Die Möglichkeit intramolekularer Umlagerung des Urogons findet in der für beide Körper identischen Bruttoformel zwar eine Stütze, die Leichtigkeit aber, mit welcher das Urogon dagegen einen festen Kohlenwasserstoff mit hohem Molekulargewicht, das Urogon liefert, zwingt uns, von jeder Einreihung in eine der organischen Gruppen vorläufig abzusehen.



## Schlußbetrachtungen.

Mit der vorliegenden Arbeit ist es uns nicht bloß gelungen, durch analytische Belege den Beweis zu erbringen, daß die gegenwärtig übliche Methode der Phenolbestimmung zu falschen Resultaten führen kann, sondern wir haben auch im Urogon direkt einen Körper isolieren können, der, gleichzeitig mit den Phenolen zur Titration gebracht, mit Jod ebenfalls eine Verbindung eingeht, möglicherweise unter den herrschenden Bedingungen ein Phenol zu liefern imstande ist.

Des weitern ist durch unsere Untersuchungen die Vermehrung gebundener Phenole bei der Aufbewahrung des Harns, sowie die Bildung leicht zerlegbarer Phenolverbindungen außerhalb des Tierkörpers analytisch nachgewiesen (siehe Besprechung der Tab. VII, S. 172).

Das Öl Städeler's haben wir isolieren können und darin einen einheitlichen Körper mit bestimmten Eigenschaften erkannt, der wahrscheinlich infolge innerer Verschiebungen bis jetzt aber eine genaue Definition und Klassifizierung noch nicht zuläßt. Zwei Spaltungsprodukte dieses Körpers, das Urogon und Urogol, haben wir aufgefunden und einigermaßen charakterisiert.

Der Gegenwart des Urogons und nicht derjenigen isomerer Kresole — wie Preusse<sup>1)</sup> glaubt — ist es wohl zuzuschreiben, wenn es Baumann nie gelang, das aus dem Harn gewonnene Parakresol zur Krystallisation zu bringen.

Sollte das Urogon, wie Brieger<sup>2)</sup> es uns vermuten läßt, auch im menschlichen Urin vorkommen, so wäre dem weiteren Studium dieses interessanten Körpers damit ein leichter Weg gewiesen. Brieger schreibt (loc. cit.) «Oben habe ich erwähnt, daß bei der Destillation des an die Phenole gebundenen Kali-ölige Tropfen übergingen. Schon Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> gibt an, daß im Pferdeharn neben dem Phenol flüchtige kampferartige Körper sich vorfinden».

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 355 (1879).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 207 (1880).

<sup>3)</sup> Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. pathol. chem. Anatomie, S. 109 (1875).

Endlich sind wir durch die ausgeführten Arbeiten zu dem Ergebnis gekommen, daß das eigentliche Phenol keineswegs ein normaler Bestandteil jedes tierischen Urins ist, daß dieser Körper im normalen Kuhharn beispielsweise nicht vorkommt und von uns in allen untersuchten Menschenharnen mit Sicherheit einzig bei demjenigen eines Vegetarianers nachgewiesen werden konnte.

Zum Schlusse möchten wir noch auf die annähernde Übereinstimmung der Bruttoformel unseres Urogon mit demjenigen von Willstätters Phyten<sup>1)</sup> hinweisen und trotz mancher sonstiger Verschiedenheiten damit andeuten, als könnte das Urogon ebenfalls ein im Laboratorium des Tierkörpers umgewandeltes Abbauprodukt des Chlorophylls darstellen.

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, den Herren Dr. Paul Liechti, Bern, und Prof. Dr. Rupe, Basel, für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse und die mir erteilten Ratschläge herzlich zu danken. Besondern Anspruch auf meine Erkenntlichkeit hat sich außerdem Herr Dr. Liechti für die Anregung zu vorstehender Arbeit, für seine Unterstützung und seine Bereitwilligkeit erworben, die Arbeit in dem unter seiner Direktion stehenden Institut ausführen zu lassen.

Bern, Oktober 1909. Schweizerische agrikulturchemische Anstalt Liebefeld.

---

<sup>1)</sup> Liebigs Annal. d. Chem., Bd. CCCLIV, 255 (1907).