

verdünnte Lösungen von Naphtionsäure veilchenblau fluoreszieren (E. Riegler).¹⁾

15. Wasserstoffsuperoxyd. H_2O_2 .

Dasselbe wurde von Schönbein im Harne nachgewiesen.

Der Nachweis ist schwierig, da die für H_2O_2 gebräuchlichen Reaktionen durch andere im Harne vorhandene Stoffe gestört werden; zudem ist das Wasserstoffsuperoxyd nur in unendlich geringen Mengen vorhanden.

16. Gase im normalen Harn.

Nach Untersuchungen von Plana und Morin sind die beim Kochen von Harn entweichenden Gasmengen hauptsächlich Kohlensäure und beträgt die innerhalb 24 Stunden im Harne ausgeschiedene Menge zwischen 50—200 ccm. In geringer Menge befinden sich auch Sauerstoff und Stickstoff im Harn. Nach anstrengenden Gängen, durch Steigerung der Herz- und Atmungsthätigkeit nimmt der Gehalt an Kohlensäure zu.

In besonderen Fällen bei Pneumaturie ist das Gas als solches frei, nicht gelöst vorhanden und entweicht dasselbe beim Entleeren des Harnes mit hörbarem Geräusch; derartiges Entweichen von Gas wurde auch bei Diabetikern schon beobachtet; hier wird wohl der Zucker durch eine Gärung in der Blase zum Teil zersetzt worden sein.

Nachweis der Kohlensäure.

Dieselbe weist man dadurch nach, dass man durch Kalilauge getrocknete Luft durch den Harn leitet und diese Luft wieder durch klares Barytwasser, aus reinstem von NaOH freien Ätzbaryt hergestellt, streichen lässt. Eine Trübung des letzteren zeigt Kohlensäure an.

B. Organische Stoffe.

1. Aceton. Dimethylketon. $CH_3-CO-CH_3$.

Zu 0,01 g soll das Aceton in der Tagesmenge Urin von Gesunden ausgeschieden werden. Der Acetongehalt wird aber im Harne ganz beträchtlich vermehrt bei solchen Krankheiten, bei solchen pathologischen Prozessen, die einen vermehrten

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1896. 35. 677 und 1897. 36. 377.
Spaeth, Untersuchung des Harnes.

Zerfall des Eiweisses zur Folge haben, so dass also der nachweisbare Gehalt an Aceton im Harn meist auf einen pathologischen Harn schliessen lässt. Ungemein häufig ist diese Acetonausscheidung (Acetonurie) bei fieberhaften, akuten und chronischen Verdauungsstörungen der Kinder (febrile Acetonurie). Besonders in vorgeschrittenen Diabetesfällen und zumal nach reiner Eiweisskost ist stets Aceton in ziemlich reichlicher Menge vorhanden (diabetische Acetonurie), ebenso bei kachektischen und anämischen Zuständen, bei bestimmten Formen von Carcinomen, bei hungernden Krankheiten, nach Chloroformnarkose.

Ist der Harn reich an Aceton, so deutet schon darauf der charakteristische wein- bis obstartige Geruch hin. Was die Entstehung bzw. Bildung des Acetons betrifft, so ist nach vorhandenen Untersuchungen und Beobachtungen das Aceton als Zersetzungsprodukt des Eiweisses aufzufassen und wohl auch nur in diesen Fällen von physiologischer und pathologischer Bedeutung. Aceton ist häufig neben Acetessigsäure und auch β -Oxybuttersäure vorhanden und ist es sichergestellt, dass das Aceton aus der Acetessigsäure entsteht. Diese letztere entsteht nach neueren Untersuchungen aus der β -Oxybuttersäure durch eine Oxydation im Organismus und zerfällt dann weiter in Aceton und Kohlensäure.

Es ist darauf aufmerksam zu machen, dass nach Gebrauch von Salacetol im Harn Aceton vorhanden sein kann.

Darstellung und Gewinnung aus dem Harn.

Man unterwirft 100 ccm — von schwach acetonhaltigem Harn mehr —, nachdem man mit 2 ccm 50% Essigsäure — in dieser Menge zugesetzt, soll eine Ausscheidung von Phenol, die bei Anwendung grösserer Mengen Essigsäure, sowie anderer Säuren entsteht, vermieden werden — angesäuert hat, der Destillation und fängt das gut gekühlte Destillat in einer Vorlage — Erlenmeyerkolben — auf. Damit keine Acetondämpfe entweichen, ist die Vorlage mit einem doppeltdurchbohrten Kork versehen; in der einen Bohrung befindet sich der Vorstoss des Kühlers, in der anderen ein mit Wasser zur Hälfte angefüllter Kugelapparat. Man destilliert unter guter Kühlung zwei Drittel ab und stellt mit dem Destillate folgende Reaktionen an:

1. Eine Probe des Destillates mit etwas Jodjodkalium-

lösung versetzt giebt auf Zusatz von etwas Natronlauge eine gelbliche Fällung, Abscheidung von Jodoform, das schon in geringster Menge an seinem charakteristischen Geruche zu erkennen ist (Lieben'sche¹⁾ Probe).

Beurteilung.

Anwesenheit von Alkohol giebt auch die Lieben'sche Reaktion; bei Gegenwart von Alkohol wendet man nach Gunning²⁾ Le Nobel Ammoniak und Jodjodammonium an; man muss aber einige Zeit bis zum Verschwinden des schwarzen Niederschlages (Jodstickstoff) stehen lassen, um das abgeschiedene Jodoform zu erkennen. Alkohol lässt sich neben Aceton durch die Bildung des Benzoëssäureäthylesters nachweisen; man versetzt zu diesem Zwecke die Lösung mit einigen Tropfen Benzoylchlorid, erwärmt gelinde und giebt bis zur schwach alkalischen Reaktion Sodalösung hinzu. Bei Anwesenheit von Alkohol tritt der äusserst angenehme Geruch des Benzoëssäureäthylesters auf, der durch Ausschütteln der Lösung mit Äther von diesem aufgenommen wird und nach dem Verdunsten des Äthers an der Luft hinterbleibt.

2. Versetzt man einige Kubikcentimeter des Destillates mit einigen Tropfen frisch bereiteter gesättigter Nitroprussidnatriumlösung und macht darauf mit Natronlauge alkalisch, so färbt sich die Flüssigkeit rubinrot; auf Zusatz von Essigsäure entsteht eine karminrote bis purpurrote Färbung, welche nach längerer Zeit durch violett in blau übergeht (Unterschied nach Zusatz von Essigsäure von der Kreatininreaktion). (Legal'sche Probe).

Beurteilung.

Eine für die Praxis empfehlenswerte Methode.

Im Harndestillate stets vorhandenes Parakresol giebt mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge eine rotgelbe, nach Zusatz von Essigsäure rosa werdende Färbung.

3. Man macht Quecksilberchloridlösung mit alkoholischer Kalilauge stark alkalisch und schüttelt dann mit einer Probe des zu prüfenden Destillates; bei Gegenwart von Aceton ist die klar filtrierte Flüssigkeit quecksilberhaltig, da Aceton Quecksilberoxyd löst, und giebt mit Zinnchlorür oder Schwefelwasserstoff und Salzsäure eine Fällung (Reynold-Gunning).

Beurteilung.

Auch Aldehyd löst Quecksilberoxyd, ferner gehen Spuren von Quecksilber-

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. Suppl.-Band. 7. 236.

²⁾ Journ. Pharm. Chem. [5] 1881. 4. 30.

oxyd fast immer durch's Filter, so dass der positive Ausfall dieser Probe stets mit Vorsicht aufzunehmen und durch eine weitere Methode zu kontrollieren ist.

4. Man löst einige Kryställchen Orthonitrobenzaldehyd in heissem Wasser und giebt nach dem Erkalten von der zu prüfenden Flüssigkeit und Natronlauge hinzu; bei Acetongegenwart färbt sich die Flüssigkeit gelb, dann grün, dann blau (Abscheidung von Indigo); der Indigo geht beim Schütteln mit Chloroform in dieses über und kann weiter identifiziert werden (s. Indigo). Orthonitrobenzaldehyd giebt mit Aceton in alkalischer Lösung (Indigo). (Probe von Penzoldt).¹⁾

Wahl der Methode.

Für eine genaue Prüfung des Harnes auf Aceton ist dessen Isolierung, wie angegeben, nötig, und stellt man dann mit dem Destillate Probe 1, 2 und 4 an. Zur direkten Prüfung des Harnes auf Aceton, zumal wenn dieses in grösseren Mengen vorhanden ist, wendet man die Legal'sche und Penzoldt'sche Probe für die Vorprüfung an.

§ 67 Nr. 2

§ 68 Nr. 4

Quantitative Bestimmung.

Eine ganz genaue Methode existiert nicht. Von den empfohlenen sind immer noch die nachstehend mitgeteilten als die zweckentsprechendsten zu bezeichnen, deren Ausführung auch eine ziemlich einfache ist.

Die vorhandenen Bestimmungsmethoden basieren auf der Eigenschaft des Acetons, mit Jodjodkalium und Kali- oder Natronlauge Jodoform abzuscheiden, indem hierbei ein Molekül Aceton in 1 Molekül Jodoform und 1 Mol. Essigsäure sich zersetzt; nach dem einen Verfahren (Hilger²⁾ und Krämer³⁾ wird das abgeschiedene Jodoform gewogen, nach dem anderen (Messinger⁴⁾-Huppert) wird die Acetonmenge aus der zur Bildung des Jodoforms verbrauchten Jodmenge titrimetrisch bestimmt. Zu bemerken ist, dass jedoch auch die bei Acetongegenwart stets vorhandene Acetessigsäure (s. d.) mit als Aceton bestimmt wird.

Ausführung der Methode.

1. Wägen des Jodoforms.

Das bei der „Darstellung und Gewinnung aus dem Harn“ erhaltene Destillat wird in einem Becherglase mit Natronlauge und mit Jodjodkaliumlösung versetzt, der entstandene Niederschlag von Jodoform 24 Stunden unter der Flüssigkeit stehen gelassen, dann auf einem gewogenen über Schwefelsäure getrockneten Filter gesammelt, mit kaltem Wasser ausgewaschen und wieder über Schwefelsäure getrocknet. Man kann auch die

¹⁾ Archiv klin. Medic. 1883. 34. 132.

²⁾ Annal. Chem. 195. 316.

³⁾ Berl. Berichte. 13. 1002.

⁴⁾ Berl. Berichte. 21. 3366.

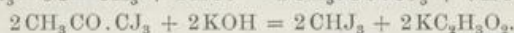
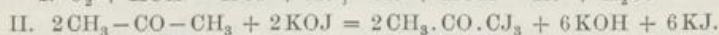
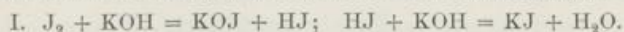
Herstellung des Jodoforms in einem Cylinder vornehmen; man giebt dann nach erfolgtem Absetzen des Jodoforms 20 ccm alkoholfreien Äther hinzu, schüttelt zur Lösung des Jodoforms tüchtig um und pipettiert von dem Äther 10 ccm ab, die man in einem gewogenen Trockengläschen verdunsten lässt. Nach dem Trocknen des Rückstandes über Schwefelsäure wird gewogen.

$$0,1 \text{ g Jodoform} = 0,0147 \text{ g Aceton.}$$

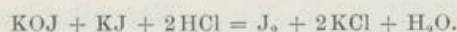
2. Titrimethode.

Prinzip.

Das Jod wirkt nicht als solches auf das Aceton ein, sondern als unterjodigsaures Salz, das sich aus dem Jod mit Alkalihydrat bildet.



Es werden 6 Mol. Jod für 1 Mol. Aceton verbraucht; säuert man nach erfolgter Zersetzung des Acetons an, so wird das überschüssige Jod frei und kann mittels Natriumthiosulfat titriert werden.



Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{10}$ -Normaljodlösung. 12,685 g resublimiertes über Schwefelsäure getrocknetes Jod werden mit Hilfe von 20 g Jodkalium in 1 Literkolben in ganz wenig Wasser (30—50 ccm) gelöst und nach vollkommener Lösung zur Marke aufgefüllt.

2. $\frac{1}{10}$ -Normalnatriumthiosulfat. Wegen des wechselnden Wassergehaltes des Natriumthiosulfats löst man 26 g davon zu 1000 ccm Wasser und stellt diese Lösung gegen die $\frac{1}{10}$ -Normaljodlösung ein.

3. Stärkelösung. 1 g Stärke wird mit wenig Wasser zum Brei verrieben, mit 250 ccm Wasser tüchtig gekocht und kochendheiss filtriert.

Die sicherste Titerstellung der $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung und indirekt der Jodlösung ist die Volhard'sche Probe mit Kaliumdichromat. Man löst 3,8740 g Kaliumdichromat in 1 l Wasser auf und lässt dann 20 ccm in eine Stöpselflasche fließen, in welche man vorher 10 ccm 10% Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure (20%) gebracht hat. Das ausgeschiedene Jod wird mit der Thiosulfatlösung und Stärkelösung titriert (Ende der Reaktion — Eintreten einer schönen grünen Färbung der Flüssigkeit). Jeder Kubikcentimeter der Bichromatlösung macht 0,01 g Jod frei, so dass 20 ccm 0,2 Jod ausscheiden; für dieses ausgeschiedene Jod müssten, wenn die Thiosulfatlösung genau $\frac{1}{10}$ -normal ist, 15,75 ccm Thiosulfatlösung verbraucht werden. Man kann sich durch die schon angegebene Berechnung (S. 29) die Lösung von Thiosulfat und von Jod ganz normal herstellen. Übrigens braucht man sich die Thiosulfatlösung nicht genau normal stellen; man weiss, dass das ausgeschiedene Jod bei Anwendung von 20 ccm Bichromat 0,2 g beträgt; man dividiert dann einfach mit der Anzahl der verbrauchten Kubikcentimeter Thiosulfatlösung in 0,2, um den Wirkungswert für 1 ccm der Thiosulfatlösung an Jod kennen zu lernen.

Wären z. B. für die 20 ccm Dichromat 15 ccm Thiosulfatlösung verbraucht worden, so würde 1 ccm Thiosulfatlösung 0,01333 g Jod ent-

sprechen. Man stellt weiter mit der Thiosulfatlösung das Jod ein; für 10 ccm Jodlösung werden verbraucht 9,75 ccm Thiosulfatlösung; da nun 1 ccm der letzteren 0,01333 g Jod entspricht, so ist in den 10 ccm Jodlösung $9,75 \cdot 0,01333 = 0,12996$ Jod enthalten.

Da die Dichromatlösung sich beliebig lange Zeit unverändert aufbewahren lässt und stets zur Kontrolle des Titors der Hyposulfatlösung vorrätig ist, so ist die umständliche Reindarstellung und das jedesmalige Trocknen und Wägen des Jodes erspart.

Ausführung der Bestimmung.

Das wie oben S. 66 angegeben gewonnene Destillat wird erst zur Entfernung von Ammoniak, das leicht darin enthalten sein kann, da mit dem Auftreten von Aceton, Acetessigsäure auch die Ammoniakmengen auf Kosten des Harnstoffes entsprechend vermehrt werden, nach Zusatz von 1 ccm 8 fach verdünnter Schwefelsäure nochmals destilliert. Ferner ist dafür zu sorgen, dass salpetrige Säure nicht im Harn enthalten ist; dieselbe (Nachweis S. 64) lässt sich leicht durch Zusatz von etwas Harnstoff zu dem ersten Destillat entfernen. Das zweite Destillat giebt man in eine 250 ccm fassende Flasche mit gut eingeriebenem Stöpsel, giebt 30 ccm Normalkalilauge und dann aus einer Bürette 20—30 ccm $\frac{1}{10}$ -Jodlösung hinzu und schüttelt $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Minute gut um, bis die Lösung klar erscheint. Nun säuert man mit soviel Kubikcentimetern Salzsäure (1,025) an, als man Kalilauge gebrauchte, wobei eine Braunfärbung eintreten muss; bleibt dieselbe aus, so war zu wenig Jod zugesetzt worden und man beginnt den Versuch ganz von neuem. Das ausgeschiedene Jod titriert man mit Natriumthiosulfat bis zur Gelbfärbung, setzt dann Stärkelösung hinzu und titriert, bis die Blaufärbung eben verschwindet.

Da normaler Harn nur 0,001 Aceton in 100 Teilen enthält, so verwendet man $\frac{1}{2}$ l Harn, wovon man 200 ccm abdestilliert; aus diesen destilliert man unter Zusatz von Schwefelsäure 50 ccm ab. Bei Fieberharn genügen 100 ccm.

Gefundene Jodmenge (d. i. für die Bildung von Jodoform verbrauchtes Jod) $\times 0,07612 \left(\text{aus } \frac{55 \text{ (Aceton)}}{762 (6 \times 127 \text{ Jod})} \right) = \text{Aceton.}$

Eigenschaften des Acetons.

Das Aceton ist eine obstähnlich riechende Flüssigkeit, die bei 56—57° siedet; es mischt sich mit Wasser, Alkohol und Äther, löst bei Gegenwart von Alkali frisch gefälltes Quecksilberoxyd, vereinigt sich mit sauren schwefligsauren Alkalien

zu krystallinischen Verbindungen, wird leicht oxydiert zu Essigsäure und Ameisensäure, giebt mit Jod und Alkali Jodoform und färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure dunkelrot (Ehrlich'sche Reaktion).

2. *Flüchtige Fettsäuren.*

Flüchtige Fettsäuren und zwar vorwiegend Essigsäure, etwas Ameisensäure und Buttersäure sind in geringen Mengen in jedem normalen Harn enthalten; diese wurden auch im Harne der Tiere vorgefunden. Im normalen Harn beträgt der Gehalt an diesen Fettsäuren in der Tagesmenge (1500 g) im Durchschnitt 0,05 g. Eine Steigerung dieser eben genannten Menge wurde beobachtet nach ausschliesslicher Ernährung mit Mehlspeisen. Unter pathologischen Verhältnissen — Lipacidurie — kommen Fettsäuren vor bei hohem kontinuierlichem Fieber (besonders Essigsäure, Buttersäure, auch Ameisensäure) und scheinen Fieberhöhe und Lipacidurie in einem bestimmten genauen Verhältnis zu stehen, ferner bei Leberstörungen mit Destruktion des Lebergewebes (Leberkrebs, Lebersyphilis), in seltenen Fällen bei Diabetes mellitus (neben Ameisensäure und Essigsäure auch Buttersäure und Propionsäure). Bei der ammoniakalischen Gärung des Harnes bilden sich grosse Mengen flüchtiger Fettsäuren, so dass solche Harne bis 15 mal soviel flüchtige Fettsäuren enthalten als frischer Harn.

Da nach Versuchen pathologischer Harn nach der Behandlung mit oxydierenden Stoffen nicht mehr Fettsäuren liefert als der normale ebenso behandelte Harn, der bei der direkten Bestimmung ohne Einwirkung dieser oxydierenden Stoffe viel weniger Fettsäuren enthielt als der pathologische Harn, so müssen wohl die bei der Oxydation Fettsäuren liefernden Stoffe im normalen Harn vorhanden sein. Das Material zur Bildung der Fettsäuren scheint vorzugsweise das Eiweiss zu sein, da bei der Oxydation desselben solche Fettsäuren entstehen; dann sind an der Bildung dieser Säuren die Kohlehydrate beteiligt, indem wahrscheinlich Kohlehydrate durch Vergärung oder durch Bakterien in diese flüchtigen Säuren umgewandelt werden; ja man hat gefunden, dass bei Diabetikern durch bakterielle Einwirkung infolge eines infektiösen Blasenkatarrhes der Harnzucker bereits in der Blase in Milchsäure und namentlich Buttersäure umgewandelt worden war.

Da die niederen Fettsäuren toxische Wirkung besitzen, so ist es noch nicht ganz von der Hand zu weisen, ob nicht die beim diabetischen Harn beobachteten Erscheinungen teilweise auf diese zurückzuführen sind.

Darstellung und Nachweis.

Man entfernt aus einer möglichst grossen abgemessenen Menge Harn durch Einleitung von Wasserdämpfen die flüchtigen Säuren und fängt das Destillat auf. Man giebt in einen geräumigen Rundkolben den mit Phosphorsäure oder verdünnter Schwefelsäure genügend angesäuerten Harn und lässt durch den Kolbeninhalt die in einem anderen Rundkolben entwickelten Wasserdämpfe streichen, die die flüchtigen Fettsäuren mitnehmen und abgekühlt in die Vorlage bringen. Man destilliert, bis das Übergehende nicht mehr sauer reagiert, neutralisiert das Destillat mit kohlensaurem Natron, verdampft zur Trockne und zieht den Salzurückstand wiederholt in der Wärme mit absolutem Alkohol aus. Fettsaures Natron geht in Lösung. Diese wird verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und nun unter Zusatz von Säure abermals wie angegeben destilliert.

Vom Destillate prüft man eine kleine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat oder Quecksilberchlorid auf Ameisensäure. Ist diese vorhanden (s. Eigenschaften), so zerstört man diese in dem Destillate durch Kochen mit Quecksilberoxyd, sättigt dann mit kohlensaurem Natron, filtriert, konzentriert und lässt zum Auskrystallisieren stehen; ist Essigsäure vorhanden, so scheidet sich essigsaures Natron aus, das als solches leicht durch die später angegebenen Reaktionen zu erkennen ist. Die Mutterlauge von der Ausscheidung des essigsauren Natrons säuert man mit Phosphorsäure an und destilliert wieder, giebt dann zum Destillat Barytwasser im Überschuss, leitet Kohlensäure bis zur neutralen Reaktion ein, erhitzt zum Kochen behufs Zerlegung allenfalls gebildeten zweifach kohlensauren Baryts, filtriert und konzentriert auf ein kleines Volumen. Zuerst scheidet sich das buttersaure Salz, weiter das propionsaure Barytsalz aus. Zur genauen und quantitativen Trennung der höheren Säuren giebt die Analyse des erhaltenen Baryt- oder Silbersalzes Auskunft, die man durch fraktionierte Fällung herstellt. Hierzu dürften wohl aber kaum die im

Harne vorhandenen Fettsäuren, auch wenn grosse Mengen Harn verwendet werden, ausreichen.

Es soll nur bemerkt werden, dass die Barytsalze für die Wägung über 150° ohne Nachteil zur Trocknung erhitzt werden können, Silbersalze nicht über 100° . Den Silbergehalt erhält man durch Glühen einer gewogenen Quantität des Salzes im Porzellantiegel, den Barytgehalt nach Veraschung durch Lösen mit Salzsäure, Fällung mit Schwefelsäure und Glühen des schwefelsauren Baryts.

Man kann sich in den meisten Fällen wohl begnügen, das Destillat, das die durch die Wasserdämpfe übergetriebenen flüchtigen Fettsäuren enthält, mit $\frac{1}{10}$ -Normallauge zu titrieren und den Verbrauch der hierzu nötigen Kubikcentimeter anzugeben. In diesem neutralisierten Destillate prüft man, wie angegeben, auf die einzelnen Säuren.

Eigenschaften und charakteristische Reaktionen.

Ameisensäure. $\text{H}-\text{COOH}$.

Riecht stechend, siedet bei 99° .

Der Nachweis derselben beruht auf der reduzierenden Wirkung, welche dieselbe auf Verbindungen edler Metalle ausübt.

1. Erwärmt man die wässrige Lösung der Ameisensäure oder eines ihrer Salze mit Quecksilberchlorid, so entsteht eine weisse Trübung von Quecksilberchlorür, die nach weiterem Erwärmen in metallisches Quecksilber (graue Abscheidung) übergeht.
2. Mit Silbernitratlösung versetzt, tritt schon in der Kälte, beim Erwärmen sofort, vollständige Reduktion des Silbers ein.
3. Mit fein verteiltem Quecksilberoxyd erwärmt, findet unter Kohlensäureentwicklung Abscheidung von metallischem Quecksilber statt.

1 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalkalilauge = 0,0046 g CH_2O_2 .

Essigsäure. $\text{CH}_3\text{.COOH}$.

Riecht stechend sauer, siedet bei 118° . Natronsalz krystallisiert leicht; essigsaures Silber ist in heissem Wasser löslich und krystallisiert beim Erkalten in dünnen glänzenden Nadeln wieder aus.

1. Mit konzentrierter Schwefelsäure und etwas Alkohol gelinde erwärmt entwickelt sich der charakteristische Geruch nach Essigäther.

2. Eisenchlorid färbt, wie aber auch die Ameisensäure, tief rot.
3. Erhitzt man ein essigsaures Salz mit Arsenigsäureanhydrid trocken in einem Reagensglase, so entsteht Kakodyloxyd, eine Substanz von furchtbarem Geruche.

1 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalkalilauge = 0,0060 g $C_2H_3O_2$.

Das Barytsalz enthält 53,8 % Barium.

Das Silbersalz „ 64,67 % Silber.

Propionsäure. $CH_3 \cdot CH_2 \cdot COOH$.

Riecht ähnlich wie Essigsäure, liefert mit Eisenchlorid, Arsenigsäureanhydrid ähnliche Reaktionen wie die Essigsäure. Das Silbersalz krystallisiert in weissen Nadeln, das Barytsalz in rhombischen Prismen oder glänzenden Nadeln.

Barytsalz enthält 48,41 % Barium,

Silbersalz „ 59,67 % Silber.

Buttersäure. $C_3H_7 \cdot COOH$.

Farblose, unangenehm ranzig riechende Flüssigkeit, die bei -19° zu einer perlmutterglänzenden Masse erstarrt. Siedet bei 163° .

Charakteristisch ist das Silbersalz, ein weissgelblicher krystallinischer Niederschlag.

Barytsalz enthält 44,05 % Barium,

Silbersalz „ 55,38 % Silber.

Baldriansäure. $C_4H_9 \cdot COOH$.

Riecht nach Baldrian oder faulem Käse, siedet bei $175^\circ C$; die Salze krystallisieren leicht.

Barytsalz enthält 40,41 % Barium,

Silbersalz „ 51,67 % Silber.

3. Fett.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen wird in einem normalen menschlichen Harn Fett nicht gefunden; dasselbe kommt nur unter pathologischen Verhältnissen vor und zwar werden besonders in zwei Fällen solche Ausscheidungen beobachtet, bei Chylurie und Lipurie.

Bei ersterer Krankheit, die vorwiegend in tropischen Ländern beobachtet wird, und die wohl teils auf einer chylösen Blut-

mischung, teils auf einer eigentümlichen Durchlässigkeit der Nierenkapillaren beruht, werden mit dem Harn die Bestandteile des Chylus, Fett, Lymphzellen, Blutkörperchen, gelöstes Eiweiss entleert, und kann der Harn in diesen Fällen sein normales Aussehen verlieren und milchigweiss werden; hier ist das Fett stets innig mit Eiweiss gemischt. Von Eiweisskörpern sind Hemialbumose und Peptone nachgewiesen worden, ausserdem noch Cholesterin und Lecithin.

Eine leichte Beimengung von Blut kann chylösem Harne eine rötliche Färbung erteilen und ein rotes Sediment veranlassen, auch kann sich der Harn nur durch einen schwachen Uringeruch, schwach saure oder alkalische Reaktion und leichte Zersetzlichkeit auszeichnen.

Bei Lipurie, die als eine Folge teils grober anatomischer Veränderungen der Harnorgane, teils Veränderungen des secernierenden Apparates der Nieren (Fettentartung dieser) aufzufassen ist, wird im Harne Fett ohne Blut und ohne Eiweiss ausgeschieden. Anlass zu Lipurie und zu den groben Veränderungen des Harnapparates geben Fettdegenerationen der Nieren nach Morb. Brightii, Phosphorvergiftungen; auch im Harne von Schwangeren, bei denen auch der Fettgehalt des Blutes ein höherer ist, findet sich nicht selten Fett. Bei den Nierenerkrankungen finden sich dann im Sedimente neben dem Fette in Tröpfchen stets Epithelien und Harncylinder.

Der Harn enthält das Fett also in zweierlei Form, in Form einer Emulsion (bei Chylurie) und in Form von Fetttröpfchen, Fettaggen, die auf dem Harne schwimmen oder im Harne fein verteilt sind; seltener findet sich im Sedimente das Fett in krystallisierter Form, Nadeln, vor (Fettentartung der Nieren und bei septischen Prozessen).

Gewinnung und Nachweis des Fettes, auch quantitative Bestimmung.

Ein fetthaltiger Harn ist trüb und wird durch Schütteln mit Äther heller.

1. Man schüttelt eine Probe (100 ccm oder mehr) in einem Scheidetrichter mit 50 ccm (oder entsprechend der angewendeten Menge) Äther tüchtig aus, lässt absitzen und die wässrige Flüssigkeit ablaufen und schüttelt letztere nochmals mit Äther aus. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden in demselben Scheide-

trichter mit einer sehr verdünnten wässerigen Kalilauge durchschüttelt, die wässerige Lösung von der ätherischen getrennt, letztere noch mit Wasser gewaschen, auch dieses entfernt, und die durch ein kleines Filter filtrierten ätherischen Lösungen (das Filter wäscht man mit etwas Äther nach) in einem Kolben durch Abdestillieren zum grössten Teile vom Äther befreit. Die Lösung im Kolben giebt man in eine gewogene Glasschale oder in ein gewogenes Kölbchen, lässt den Äther verdunsten, trocknet den Rückstand bei 110—115° und wägt.

2. Man kann auch das Fett dadurch gewinnen, dass man Harn unter Zusatz von gebranntem Gips in einer Schale zur Trockne verdampft und den zerriebenen Rückstand in einer Papierpatrone im Soxhlet'schen Extraktionsapparat mit Äther auszieht. Man verdunstet die ätherische Lösung und trocknet den Kolben mit Inhalt, worauf man wiegt. Das Fett enthält geringe Mengen von Cholesterin und Lecithin, die stets im fetthaltigen Harne vorkommen.
3. Mikroskopisch erscheint das Fett in kreisrunden, verschieden grossen Tropfen mit glatten Konturen; im auffallenden Lichte sind die Tropfen weiss und silberglänzend und lösen sich in Äther, Unterschied von Leucin (s. d.), das ähnlich unter dem Mikroskope aussieht.

Eigenschaften.

Das Fett löst sich in Äther, Petroläther, Benzol, schwer in Alkohol, nicht in Wasser. Beim starken Erhitzen auf einem Platinblech tritt der Geruch nach Acrolein auf; auf Papier entsteht ein Fettfleck.

Bevor man eine Untersuchung auf Fett vornimmt, hat man sich erst zu vergewissern, dass nicht Fett durch zufällige Verunreinigungen — von unreinen öl- oder fetthaltigen Geschirren, Kathedern — in den Harn gelangt ist.

4. *Acetessigsäure.* $C_4H_6O_3$ oder $CH_3.CO.CH_2.COOH$.

Acetylessigsäure oder Acetessigsäure kommt im Harn und fast stets oder häufig von Aceton und β -Oxybuttersäure begleitet unter den gleichen Bedingungen vor wie das Aceton, also im Harne von Diabetikern (in schweren Fällen), im Fieber; das reichliche Auftreten von Acetylessigsäure — Diaceturie — ist stets nur eine pathologische Erscheinung.

Mit dem Auftreten dieser Säure und der β -Oxybuttersäure werden auch die Ammoniakmengen auf Kosten des Harnstoffs entsprechend vermehrt.

Nachweis und Eigenschaften.

Die Acetessigsäure verschwindet rasch und zerfällt in Kohlensäure und Aceton; man muss daher den möglichst frischen Harn sogleich untersuchen.

Versetzt man den angesäuerten und filtrierten Harn mit einer mässig konzentrierten Lösung von Eisenchlorid, filtriert den Niederschlag vom Eisenphosphat ab und fügt noch etwas Eisenchlorid hinzu, so ist das Filtrat bei Anwesenheit von Acetessigsäure bordeauxrot.

Gerhardt hat auch im diabetischen Harn mit Eisenchlorid öfters eine solche Reaktion erhalten.

Beurteilung.

Diese oder eine doch ganz ähnliche Reaktion entsteht aber auch im Harne nach Genuss von Antipyrin, Kairin, Thallin, Salicylsäure; doch verschwindet bei Anwesenheit von Acetessigsäure die Reaktion nach 24—48 Stunden, schneller in der Wärme, während sie mit den genannten Mitteln anhält.

Man wiederholt daher die Probe mit gekochtem Harn; die Reaktion mit Eisenchlorid muss ausbleiben, wenn die Färbung von Acetessigsäure, die durch das Kochen zersetzt ist, herrührte.

Säuert man ferner den Harn mit Schwefelsäure an und schüttelt mit Äther, so enthält die abgehobene Ätherschicht die Acetessigsäure; mit einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung geschüttelt, wird letztere violettrot gefärbt; ein weiterer Eisenchloridzusatz bewirkt bordeauxrote Färbung. Vorhandene Salicylsäure könnte dem angesäuerten Harn durch Benzol oder Chloroform entzogen werden; in diesen Lösungsmitteln ist die Acetessigsäure unlöslich.

Sonst bildet die Acetessigsäure eine dickliche farblose, stark saure Flüssigkeit, die alle Reaktionen des Acetons giebt und leicht in Aceton und Kohlensäure zerfällt.

5. *Milchsäure. Oxypropionsäure.* $C_3H_6O_3$ oder $CH_3.CH.OH.CO.OH$.

Oxypropionsäure kommt im Tierkörper in 2 Formen vor, als Gärungsmilchsäure und als Fleischmilchsäure.

Im normalen Harne fehlt die Milchsäure fast stets; dieselbe wird in der Leber zerstört und scheint sich aus den Kohlehydraten oder Eiweisskörpern zu bilden. Das Vorkommen der Milchsäure im Harn wird auf eine mangelhafte Oxydation des milchsauren Ammons in der Leber zurückzuführen sein, die ihre Funktion infolge Erkrankung ganz oder teilweise eingestellt hat.

Die Fleischmilchsäure wurde bei akuter Phosphorvergiftung und akuter gelber Leberatrophie, überhaupt bei besonders schweren Leberkrankheiten, dann im Harn von Epileptikern nach einem Anfall nachgewiesen.

Die Gärungsmilchsäure soll im gärenden diabetischen Harne vorkommen.

Darstellung und Nachweis.

Der Harn wird im Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit 95% Alkohol wiederholt in der Wärme ausgezogen. Aus der alkoholischen Lösung destilliert man den Alkohol ab, säuert den Syrup mit Phosphorsäure stark an und schüttelt wiederholt mit Äther aus. Der nach dem Abdestillieren des Äthers verbleibende Rückstand wird mit Barytwasser neutralisiert, diese Lösung filtriert, auf ein kleines Volumen eingedunstet und das Bariumsulfat mit absolutem Alkohol ausgefällt. Das Laktat wird gesammelt, mit absolutem Alkohol ausgewaschen, getrocknet, hierauf mit einer entsprechenden Menge Phosphorsäure digeriert und von neuem mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. Die nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibende Milchsäure wird mit Wasser aufgenommen, Zinkkarbonat hinzugegeben, digeriert und das Filtrat verdunstet. Die Krystallform, der Metallgehalt geben Anhaltspunkte zur Identifizierung als Milchsäure. Das milchsaure Zink bildet beiderseits abgestumpfte Keile. Die fleischmilchsauren Salze drehen links.

Es empfiehlt sich, um sich nicht durch andere Säuren (aromatische Oxy Säuren) etwa Milchsäureanwesenheit vortäuschen zu lassen, das Krystallwasser des Zinksalzes zu bestimmen; dieses krystallisiert mit 2 Mol. Krystallwasser, die bei 105° entweichen; es muss das Salz bei dieser Temperatur einige Stunden getrocknet genau 12,9% seines Gewichtes verlieren.

Eigenschaften.

Ein in Wasser, Alkohol, Äther löslicher Sirup, verflüchtigt sich in geringen Mengen mit Wasserdämpfen. Das Zinksalz krystallisiert in glänzenden Prismen mit 2 Mol. Krystallwasser. Die Fleischmilchsäure giebt die Lieben'sche Jodoformprobe nicht, wie die Gärungsmilchsäure.

6. *Cystin*. $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ oder $S_2 \begin{matrix} \diagup C(CH_3)(NH)_2COOH \\ \diagdown C(CH_3)(NH)_2COOH \end{matrix}$

Cystin, wahrscheinlich Dithiodiamidodimilchsäure, wird in seltenen Fällen als einziger oder hauptsächlichster Bestandteil von Blasen- und Nierensteinen bei Menschen und Hunden gefunden und liegt seine Hauptbedeutung mehr in der Bildung von Harnkonkrementen als in den Störungen des allgemeinen Befindens. Tritt in einzelnen Fällen Cystin als Hauptbestandteil auf, so scheidet es sich beim Stehen des Harnes, der zwar in Bezug auf Farbe, Reaktion und Geruch normale Beschaffenheit zeigen kann, hinwieder aber nicht selten einen eigentümlichen Geruch und grüngelbe Farbe aufweisen soll, als krystallinischer Niederschlag von grauweisser Farbe aus.

Mitunter ist der Harn mit Blut vermennt (durch schleimhautreizende Blasensteine bedingt); mit Albuminurie verbindet sich die Cystinausscheidung äusserst selten, dagegen scheiden sich bei Cystinurie im Harn bestimmte Diamine, die im kranken Organismus entstanden sind, aus; dieselbe Ursache, welche die Cystinurie verursacht, ist auch die der Ausscheidung von Diaminen, die Diaminurie (s. diese).

Als regelmässige Begleiter des Cystins im Harn sind das Kadaverin und das Putrescin zu nennen. Es scheinen Mikroorganismen die Eiweissfäulnis im Darm in der Weise zu beeinflussen, dass die Diamine und das Cystin entstehen.

Die Ausscheidung des Cystins ist im Bezug auf ihre Menge grossen Schwankungen unterworfen, kann aber bis 0,5 g und mehr im Tage betragen. Die Cystinurie, die als selbständige Krankheit, aber auch als Begleiterin verschiedener Krankheiten auftreten kann, findet sich beim männlichen Geschlechte häufiger als beim weiblichen und häufiger in der Jugend als im Alter. Reichliche Cystinausscheidung hat man nach Phosphorvergiftungen beobachtet. Bei der Fäulnis der Cystinharn bildet sich als Zersetzungsprodukt des schwefelhaltigen Körpers, der jedenfalls aus dem Eiweisschwefel entsteht, Schwefelwasserstoff.

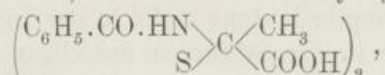
Über Cystinsteine und Cystinsedimente s. unter diesen Namen.

Was die Entstehung betrifft, so ist unter allen Umständen das Cystin als ein Umwandlungsprodukt der Eiweisskörper zu betrachten.

Darstellung, Nachweis und Bestimmung.

Hierzu bedient man sich der Methode von Baumann und Goldmann.¹⁾

1. Schüttelt man eine Cystinlösung in Natronlauge mit Benzoylchlorid, so entsteht Benzoylcystin



das sich in Äther löst.

Man schüttelt zum Nachweise 1000 ccm Harn mit 10 ccm Benzoylchlorid und 120 ccm 10% Natronlauge, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist, filtriert vom Niederschlage ab, säuert das Filtrat mit 10 ccm 25% Schwefelsäure an und schüttelt 3 mal mit Äther aus. Den beim Verdunsten des Äthers hinterbleibenden Rückstand, der das Benzoylcystin — dieses krystallisiert aus Alkohol in feinen, drusenförmigen Nadeln, die bei ca. 157° schmelzen — enthält, erwärmt man mit Natronlauge mehrere Stunden auf dem Wasserbade, wobei das Benzoylcystin unter Bildung von Schwefelalkali zersetzt wird, das man mit einigen Tropfen Bleiacetat an der Bildung von Schwefelblei nachweist; auch auf einer Silbermünze kann man diese Reaktion ausführen, indem man etwas von dem Rückstande mit Natronlauge auf der Münze erwärmt (schwarzbrauner Fleck — Schwefelsilber).

Durch Sammeln des entstandenen Schwefelbleies unter den nötigen Vorsichtsmaassregeln kann man das Cystin annähernd quantitativ bestimmen.

303 T. Bleisulfat = 120 Teile Cystin.

Beurteilung.

Zu dieser Bestimmung ist zu bemerken, dass der Harn frei sein muss von Eiweiss und Schwefelwasserstoff.

2. Löbisch²⁾ lässt zur Bestimmung des Cystins 500 ccm Harn, nachdem 20 ccm 20% Essigsäure zugesetzt sind, an einem kalten Orte stehen und sammelt ein nach 24 Stunden entstandenes Sediment, das aus Cystinkrystallen, dann auch aus etwas Harnsäure, oxalsaurem Kalk bestehen kann, mit Anwendung einer Saugvor-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1888. 12. 254.

²⁾ Liebig's Annal. 182. 231.

vorrichtung auf einem Filter; nach dem Auswaschen mit verdünnter Essigsäure — bei Anwesenheit von harnsaurem Natron im Sedimente auch mit heissem Wasser — wird das Filter getrocknet und gewogen. Das gewogene Filter wird wieder auf den Trichter gebracht, mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure das Cystin gelöst und nun wieder getrocknet und gewogen. Die Differenz aus beiden Wägungen — Cystin.

Beurteilung.

Genaue Resultate werden selbstverständlich mit beiden Methoden nicht erhalten.

3. Auf die Gegenwart von Cystin wird man aufmerksam gemacht, wenn sich im Harnsedimente farblose rechteckige Tafeln vorfinden. Zur Unterscheidung von der Harnsäure unter dem Mikroskope lässt man vorsichtig vom Rande des Deckglases einen Tropfen Ammoniak zufließen; sofort lösen sich die Cystinkrystalle, während Harnsäure ohne Erwärmen sich nicht ändert; nach dem Verdampfen des Ammoniaks krystallisiert das Cystin wieder aus, dessen Ausscheidung durch Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zur ammoniakalischen Lösung beschleunigt werden kann; auch durch Salzsäure und Oxalsäurelösung wird das Cystin gelöst, Harnsäure nicht; Cystin giebt die Murexidprobe nicht.

Von den Erdphosphaten unterscheidet sich das Cystin dadurch, dass letzteres von Essigsäure nicht gelöst wird; erhitzt man ein Sediment mit Essigsäure, so wird der ungelöst zurückbleibende Teil unter dem Mikroskope die sechsseitigen Tafeln zeigen, die mit Ammoniak und Salzsäure, wie angegeben behandelt werden (zur Unterscheidung und Trennung von Harnsäure).

4. Cystin unter schwachem Erwärmen in Kalilauge gelöst, giebt nach dem Erkalten und Verdünnen mit Wasser auf Zusatz von Nitroprussidnatrium eine violette Färbung.
5. Cystin verbrennt auf dem Platinblech mit blaugrüner Farbe und Geruch nach Blausäure.

Eigenschaften.

Das Cystin krystallisiert in schönen farblosen sechsseitigen

Täfelchen (s. Sedimente) oder auch Prismen, ist in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, in Ammoniak und den einfach und doppeltkohlensaurigen Alkalien und Alkalihydroxyden löslich; Lösungen des Cystins drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links, doch ist cystinhaltiger Harn nur schwach linksdrehend (einige Minuten) wie der normale Harn. Beim Behandeln des Cystins mit Zinn und Salzsäure wird es in Cystein verwandelt, das durch die schwächsten Oxydationsmittel wieder in Cystin zurückverwandelt wird.

Cystein giebt in schwach salzsaurer Lösung mit etwas verdünnter Eisenchloridlösung und Ammoniak eine rotviolette Färbung.

7. β -Oxybuttersäure. $C_4H_8O_3$ oder $CH_3-CH(OH)-CH_2-COOH$.

Diese Säure, ein Produkt von zerfallenen Eiweissstoffen des Organismus, findet sich besonders in schweren Fällen von Diabetes und ist für den Arzt deshalb wichtig, weil nach Ansicht einiger Forscher in dieser Säure das Coma diabeticum zu suchen sein dürfte, das auf einer Säureintoxikation des Blutes mit der übermässig gebildeten Oxybuttersäure beruhen soll, da der Diabetiker die zur Neutralisation dieser Säure nötige Ammoniakmenge nicht mehr produzieren kann, so dass die fixen Alkalien des Blutes angegriffen werden. Nach anderer Ansicht sind es Toxine, die bei einer solchen schweren Krankheit, wie schwerer Diabetes, im Blute sich anreichern und eine vermehrte Eiweisszersetzung bei reichlicher Säureproduktion bewirken. Gleichzeitig treten mit der Oxybuttersäure grössere Mengen von Ammoniak auf. Weiterhin hat die β -Oxybuttersäure auch noch deshalb Interesse, weil sie die Ebene des polarisierten Lichtes nach links dreht (spez. Drehung im Mittel $(\alpha)D = -23,4^\circ$) und die quantitative Bestimmung des Harnzuckers durch Polarisation beeinträchtigen und unmöglich machen kann. In der 24 stündigen Harnmenge von Diabetikern wurden von Külz 19—50 g, von Wolpe 15—16 g nachgewiesen.

Die Oxybuttersäure wird stets von Acetessigsäure begleitet.

Darstellung und Nachweis.

Man untersucht den Harn zunächst auf Acetessigsäure (mit Eisenchlorid); nur in solchen Harnen, die Acetessigsäure enthalten, kann man auf die Gegenwart von β -Oxybuttersäure rechnen.

1. Nach Stadelmann¹⁾ vergärt man diabetischen Harn, kocht zur Entfernung des Harnstoffes mit frisch gelöschtem Kalk, bis sich kein Ammoniak mehr entwickelt, dampft ein und zieht den Rückstand mit Alkohol aus. Aus dem Verdunstungsrückstande, den man mit Schwefelsäure ansäuert, wird die β -Oxybuttersäure mit Äther ausgeschüttelt, der Rückstand der verdampften ätherischen Lösung in Wasser gelöst und mit kohlensaurem Zink auf dem Wasserbade erwärmt. Man filtriert und konzentriert auf dem Wasserbade; das Zinksalz krystallisiert gut, ist in absolutem Alkohol schwer löslich und bildet Nadeln. Aus dem Zinksalz erhält man durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die freie Säure, deren Lösung im Polarisationsapparate links dreht.
2. Külz²⁾ stellt aus dem Ätherrückstande das Bleisalz der Säure her (vorsichtiger Zusatz von basisch essigsaurem Blei), zersetzt dieses mit Schwefelwasserstoff und führt die im Verdampfungsrückstande vorhandene Säure in das Barytsalz und dann durch Silbersulfat in das Silbersalz über, das durch Umkrystallisieren gereinigt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Beim Abdampfen des Filtrates hinterbleibt die Säure als farbloser Sirup.
3. Auch kann man nach Külz den Harn nach der Vergärung mit essigsaurem Blei und Ammoniak fällen und das Filtrat im Polarisationsapparate prüfen; Linksdrehung lässt die Anwesenheit der Säure vermuten.
4. Ein weiterer Nachweis beruht auf der Bildung von α -Krotonsäure aus β -Oxybuttersäure. Man dampft nach Külz den Harn — nach dem Vergären des vorhandenen Zuckers — zum Sirup ein und destilliert den mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure vermischten Rückstand; das Destillat fängt man ohne jede Kühlung in einem Reagensglase auf; durch starkes Abkühlen des Destillates kann die α -Krotonsäure krystallinisch erhalten werden. Man presst die Säure ab und bestimmt den Schmelzpunkt (70—72°), oder man schüttelt das Destillat mit Äther aus und lässt verdunsten.

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 23. 457.

²⁾ Zeitschr. Biolog. 23. 329.

Eigenschaften.

Farb- und geruchloser Sirup, dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; mit Schwefelsäure oder schon mit Wasser erhitzt, bildet sich α -Krotonsäure; durch Oxydation liefert die Oxybuttersäure Aceton.

8. *Leucin, α -Amidocaprinsäure.* $C_6H_{13}NO_2$ oder $\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \rangle CH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$.

9. *Tyrosin, Para-Oxyphenyl- α -Amidocaprinsäure, Oxyphenylalanin.*

$C_9H_{11}NO_3$ oder $C_6H_4 \begin{matrix} OH \\ \diagdown \end{matrix} CH_2-CH(NH_2)-COOH$.

Beide Stoffe pflegen gewöhnlich gemeinsam im pathologischen Harne vorzukommen; im normalen Harne fehlen dieselben.

Sie kommen vor bei akuter gelber Leberatrophie und auch bei anderen Leberkrankheiten, so bei akuter Phosphorvergiftung; bei schwerem Typhus, bei Pocken können dieselben auch im Harne auftreten.

Was die Entstehung oder Bildung dieser Produkte anbelangt, so sind dieselben konstante Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper; das Leucin wird aus den Proteinkörpern gebildet und stellt eine Vorstufe des Harnstoffes dar; es ist deshalb mit dem Auftreten des Leucins stets eine Verminderung des Harnstoffgehaltes bemerkt worden. Tyrosin ist ein Produkt der Pankreasverdauung. Beide Stoffe finden sich im Harne meist in Lösung, doch können sie sich auch im Sediment abscheiden; Leucin findet sich dann im Sedimente in Form von Kugeln, Tyrosin in Form feinsten Nadelbüschel (s. Sedimente).

Darstellung und Nachweis.

Zum sicheren Nachweise dieser Stoffe im Harne ist es nötig, dieselben wenigstens einigermaassen von anderen zu isolieren, da z. B. das im Harn gelöste Tyrosin die Hoffmann'sche Probe ebenso giebt, wie auch noch andere im Harne vorhandene Stoffe (Oxysäuren).

Nach Frerichs, Staedeler, Schotten.¹⁾

Der eiweissfreie Harn (250—500 ccm, eventuell grössere Mengen) wird mit Bleiessig ausgefällt, hierauf filtriert und das

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1883. 7. 33.

Filtrat vom überschüssigen Blei durch Einleiten von Schwefelwasserstoff befreit. Man konzentriert das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag möglichst stark und zieht den Rückstand zur Entfernung des Harnstoffs mit kleinen Mengen absoluten Alkohols aus; der ungelöste Rückstand wird mit schwächerem ammoniakalischem Alkohol ausgezogen, die Flüssigkeit eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Entfernung des grössten Theiles des Harnstoffes und die der Oxysäuren und Phenole wird auch erreicht dadurch, dass man das auf etwa 50 ccm gebrachte Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag mit etwas Salzsäure aufkocht, erkalten lässt und 1—2 mal mit alkoholhaltigem Äther ausschüttelt. Die wässrige Lösung wird auf dem Wasserbade eingedampft, der sirupartige Rückstand mit 10—20 ccm Wasser aufgenommen und dann zur Krystallisation stehen gelassen. Die eventuell ausgeschiedenen Krystalle untersucht man chemisch wie mikroskopisch auf Tyrosin und Leucin.

Bemerkt sei noch, dass man die beiden Körper zweckmässig durch wenig Alkohol trennen kann, in welchem sich das Leucin leichter löst, als das Tyrosin. Sollte das Tyrosin stark gefärbt sein, so löst man es in heissem, mit viel Ammoniak versetztem Alkohol, wobei die färbenden Substanzen in Lösung bleiben, und beim Konzentrieren der Lösung im Wasserbade das Tyrosin in fast reinen Krystallen sich ausscheidet.

Nachweis des Leucins.

1. Eine kleine Probe des möglichst gereinigten Leucins (Umkrystallisieren aus Alkohol) verdampft man vorsichtig auf dem Platinbleche mit Salpetersäure, wobei ein fast ungefärbter und unsichtbarer Rückstand bleibt. Beim Erwärmen des Rückstandes löst sich derselbe je nach dem Grade seiner Reinheit zu einer gar nicht oder mehr oder weniger gefärbten Flüssigkeit, die sich beim vorsichtigen Erwärmen auf dem Platinblech über der Flamme zu einem ölartigen dem Platinblech nicht adhärierenden herumrollenden Tropfen zusammenzieht (Scherer).
2. Im Reagensglase über der Flamme erhitzt, sublimiert das Leucin zum Teil in weissen, wolkigen Flocken, die sich an der Glaswandung niederschlagen unter Entwicklung eines Geruches nach Amylamin.
3. Die Leucinkrystalle lösen sich in Ätzkali, nicht in

Äther (Unterschied von Fett, womit sie verwechselt werden können).

Eigenschaften des Leucins.

Das Leucin krystallisiert in farblosen, zarten, glänzenden Blättchen, in Drusen, oder übereinandergeschichtet; in der unreinen Form im Harne zeigt es mehr oder weniger tingierte Kugeln, die das Aussehen eines grossen Fetttropfens haben, von schwach strahliger Beschaffenheit oder Knollen, in denen sich keine Kontur wahrnehmen lässt (s. Sedimente).

Leucin löst sich schwer in kaltem Wasser, noch schwerer aber in Alkohol, dagegen leicht in Säuren und Laugen. Bei schwachem Erhitzen (170°) sublimiert das Leucin zu wolligen flockigen Massen unter Verbreitung eines eigentümlichen Geruches (Amylamin).

Nachweis des Tyrosins.

1. Eine heiss bereitete Tyrosinlösung giebt mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kali einen roten Niederschlag, die überstehende Flüssigkeit ist rosen- bis purpurrot (Hoffmann's Methode).
2. Eine siedende wässrige Tyrosinlösung färbt sich mit 1% Essigsäure, dann tropfenweise mit Natriumnitrit versetzt, schön rot (Wurster).
3. Eine heisse wässrige Lösung mit etwas trockenem Chinon versetzt giebt gleichfalls rubinrote Fällung (Wurster).
4. Erwärmt man Tyrosin mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, setzt dann Wasser zu und kocht mit Bariumkarbonat, so erhält man ein farbloses Filtrat, das in der Kälte auf Zusatz von verdünnter säurefreier Eisenchloridlösung schön violett wird (Piria).
5. Sedimente, Tyrosin krystallisiert enthaltend, werden mit Wasser gewaschen, dann in Ammoniak unter Zusatz von kohlensaurem Ammon gelöst und das Filtrat verdunsten lassen; aus ammoniakalischer Lösung krystallisiert das Tyrosin in Büscheln deutlicher Prismen als Ammonverbindung.

Eigenschaften.

Das Tyrosin krystallisiert aus wässriger Lösung in farblosen, seidenglänzenden, feinen mikroskopischen Krystall-

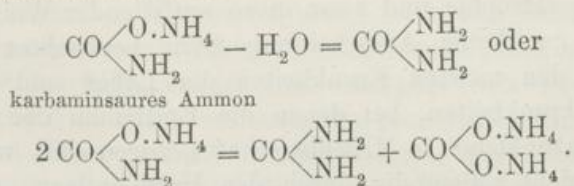
nädelchen, die zum Teil garbenartige Gebilde vorstellen, von denen je 2 Garben in Kreuzform übereinander liegen können; sie fließen nie zu Kugeln zusammen (Unterschied von Leucin). Aus ammoniakalischem Alkohol scheidet es sich als Ammonsalz in deutlichen büschelförmigen Prismen aus.

In Wasser (kaltem) und Alkohol ist es schwer, in Äther unlöslich, leicht in Säuren und kohlensauen Alkalien, auch in ammoniak- oder salzsäurehaltigem Alkohol. Beim Eindampfen mit Salpetersäure entsteht neben Oxalsäure gelbes salpetersaures Nitrotyrosin, das sich mit Kali oder Ammoniak rotbraun bis schwarzbraun färbt.

10. Der Harnstoff. CON_2H_4 oder $\text{CO} \begin{smallmatrix} \text{NH}_2 \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix}$.

Der Harnstoff — Karbamid —, der in weitaus am reichlichsten im Harn vorkommende organische Stoff, muss als das wichtigste stickstoffhaltige Endprodukt der Zersetzung von Eiweissstoffen im Organismus betrachtet werden, wenngleich hier hervorgehoben werden muss, dass nach den Untersuchungen von Pflüger und Bohland bis 16% des im Harn entleerten Stickstoffgehaltes nicht als Harnstoff enthalten sind, so dass dieser Stoff nicht als ausschliessliches Maass für die stattgehabte Eiweisszersetzung betrachtet werden kann.

Was die Entstehung des Harnstoffes betrifft, so ist es nach den Forschungen von Schmiedeberg sehr wahrscheinlich, wenn nicht sicher, dass der Harnstoff aus Amidosäuren, Zersetzungsprodukten des Eiweissmoleküls, sich bildet. Bei der Oxydation werden diese Amidosäuren in Wasser, Kohlensäure und Ammoniak umgesetzt; aus den beiden letzteren entsteht in statu nascendi das karbaminsaure Ammon, aus dem sich der Harnstoff unter Wasseraustritt oder Zersetzung in Harnstoff und Ammonkarbonat bildet.



Mit der im vorstehenden genannten Ansicht würde auch diejenige von E. Drechsel im Einklange stehen, der die Entstehung des Harnstoffes aus Eiweiss durch Hydrolyse ohne

direkte Oxydation annimmt. Auch die Bildung von milchsaurem Ammon bei dem Eiweisszerfall ist erwiesen und könnte auch aus diesem in der Leber kohlensaures Ammon und daraus wieder Harnstoff gebildet werden.

Am reichlichsten kommt der Harnstoff im Harne der Menschen und der Carnivoren vor; im Harne der Amphibien und Vögel tritt die Harnsäure in den Vordergrund und nimmt die Stelle des Harnstoffes ein.

Die Menge des im normalen Menschenharn vorkommenden Harnstoffes ist eine wesentlich verschiedene und hängt hauptsächlich von der Nahrung ab. Im allgemeinen nimmt man an, dass der gesunde Mensch in 24 Stunden 25—35 g Harnstoff ausscheidet; die Frau scheidet etwas weniger aus.

Absolut geringer ist die Harnstoffausscheidung bei Kindern, dagegen ist sie auf das Körpergewicht bezogen relativ viel grösser; so scheiden z. B. Kinder zwischen 3—6 Jahren in 24 Stunden 1 g Harnstoff aus, während Erwachsene nur 0,37—0,60 g in genannter Zeit ausscheiden.

In pathologischen Fällen kann sowohl eine Vermehrung oder Verminderung der Harnstoffproduktion eintreten, ja die Sekretion kann sogar ganz aufhören.

Eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung findet statt bei fieberhaften Krankheiten (Typhus, akute Infektionskrankheiten), durch welche ein Zerfall des Organeiweisses bedeutend gesteigert wird; die grösste Vermehrung des Harnstoffes findet man bei Diabetes mellitus, und kann hier die absolute Menge das Vier- bis Fünffache der normalen Menge betragen (bis über 100 g täglich). Medikamente (Kaffee, Koffein, Chinin, Natrium salicylicum) bewirken gleichfalls eine mehr oder weniger vermehrte Ausscheidung.

Verminderung des Harnstoffes tritt ein bei der akuten gelben Leberatrophie und zwar in so auffällender Weise, dass überhaupt gar keine Ausscheidung mehr beobachtet wurde, ferner bei den meisten Krankheiten der Leber und Nieren; bei Nierenkrankheiten, bei denen die Epithelien der gewundenen Harnkanälchen in Mitleidenschaft gezogen sind, wird der Harnstoff nicht vollständig durch den Harn entleert, sondern teilweise im Körper im Blute zurückgehalten und auf anormalem Wege (Haut, Sputum, Erbrechen) entleert (Urämische Erscheinungen). Nach Landois soll die urämische Erscheinung

in einer toxischen Einwirkung solcher Substanzen auf das Gehirn zu suchen sein, die normalerweise durch den Harn entleert werden sollten.

Nach den Versuchen v. Schroeder's beteiligt sich an der Harnstoffbildung hauptsächlich die Leber, wenn auch andere Organe daran beteiligt sein dürften und die Leber, wie Nencki und Pawlow gefunden haben, nicht als ausschliesslicher Ort der Harnstoffbildung anzusehen ist. Als Ausscheidungsorgane müssen die Nieren betrachtet werden.

Darstellung aus dem Harn.

Man dampft eine Menge Harn bis zum leichten Sirup auf dem Wasserbade ein, versetzt den Rückstand in der Kälte mit überschüssiger reiner Salpetersäure und trennt den entstandenen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff von der Mutterlauge durch Absaugen auf einem Filter und Pressen zwischen Filtrierpapier. Den in etwas Wasser gelösten salpetersauren Harnstoff zerlegt man mit kohlensaurem Baryt und zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mittelst absolutem Alkohol aus. Man entfärbt die alkoholische Lösung mit Tierkohle und filtriert warm. Aus dem Filtrate krystallisiert dann der Harnstoff beim Erkalten in meistens farblosen Nadeln aus, die durch Auflösen in Alkoholäther eventuell noch weiter gereinigt werden können.

Eigenschaften.

Der Harnstoff krystallisiert in langen, wasserhellen, vierseitigen Prismen, die durch ein oder zwei schiefe Endflächen geschlossen sind. Der Harnstoff ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther und besitzt einen bitterlichen kühlen, salpeterähnlichen Geschmack. Sein Schmelzpunkt liegt bei 130—132°.

Als basischer Körper verbindet sich der Harnstoff mit Säuren und liefert mit ihnen krystallisierende Salze, von denen besonders das salpetersaure und oxalsaure Salz wegen ihrer Schwerlöslichkeit zum Nachweise des Harnstoffes wichtig sind. Mit Salzen (Chlornatrium, Chlorammonium, den Chloriden der Schwermetalle) vereinigt sich der Harnstoff zu krystallisierenden Verbindungen, von denen besonders die mit salpetersaurem Quecksilberoxyd für die quantitative Bestimmung des Harnstoffes von Bedeutung ist; salpetersaures Quecksilberoxyd giebt

mit Harnstofflösungen einen weissen, flockigen Niederschlag, der je nach der Konzentration der Flüssigkeit 1, 2 und 3 Äquivalente Quecksilberoxyd auf ein Äquivalent Harnstoff enthält.

Qualitativer Nachweis.

Hat man eine qualitative Prüfung auf Harnstoff vorzunehmen oder die Frage zu entscheiden, ob irgend eine Flüssigkeit Harn ist oder nicht (Identifizierung als Harn), so benutzt man folgende Reaktionen.

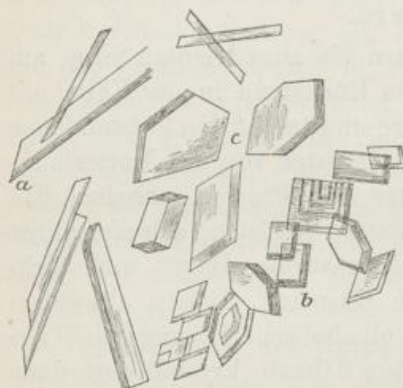


Fig. 17.

a Harnstoff.
b Salpetersaurer } Harnstoff.
c Oxalsaurer

1. Hat man nur wenig Flüssigkeit, so bringt man einige Tropfen auf einen Objektträger, setzt einen Tropfen Salpetersäure zu, erwärmt den Objektträger vorsichtig über einer Spiritus- oder Gasflamme und stellt zur Krystallisation bei Seite. Unter dem Mikroskope sieht man dann entweder einzelne rhombische Tafeln (Fig. 17), oft auch solche, deren stumpfe Winkel durch Flächen in hexagonale Tafeln umgewandelt werden, oder der Harnstoff scheidet sich in

sechseckigen Täfelchen aus, deren Ränder sich dachziegelartig decken.

2. Wird konzentrierte Harnstofflösung oder konzentrierter Harn mit gesättigter Oxalsäurelösung zusammengebracht, so scheidet sich oxalsaurer Harnstoff in Krystallen aus, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind; meist findet man in mikroskopischen Präparaten die prismatische Form (Fig. 17).
3. Eine charakteristische Reaktion ist die Biuretreaktion. Man erhitzt zu dieser Reaktion einige Kryställchen des wie oben angegeben hergestellten Harnstoffes in einem trockenen Reagensglas gelinde, bis sie in ihrer ganzen Masse geschmolzen sind und kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist; hierbei entsteht zunächst Ammoniak und Biuret, das Amid der Allophansäure. Der Rück-

stand wird in wenig Wasser gelöst, etwas verdünnte Natronlauge oder Kalilauge und einige Tropfen einer Kupfersulfatlösung zugesetzt; die Lösung färbt sich anfangs rosa, dann je weiter man mit dem Zusatz des Kupfersalzes fortschreitet, rotviolett und endlich blauviolett.

4. Übergiesst man in einem Porzellanschälchen eine geringe Menge Harnstoff mit einem Tropfen einer fast konzentrierten frisch bereiteten Furfurollösung und fügt sogleich einen Tropfen Salzsäure von 1,10 spezifischem Gewicht zu, so tritt rasch eine gelbe, dann grüne, blaue und endlich violett werdende Färbung auf, die nach wenigen Minuten in ein gesättigtes Purpurviolett sich umwandelt (Schiff).

Beurteilung.

Die angeführten Reaktionen sind für den Nachweis äusserst charakteristisch und genügend.

Quantitative Bestimmung.

Hierzu sind eine Reihe von Methoden empfohlen, die sich in ihrem Prinzipie sowohl, als auch durch die gewonnenen Resultate sehr von einander unterscheiden. Vor allem scheiden sich die Methoden nach 2 Richtungen:

- I. In solche Methoden, durch welche die Gesamtmenge des im Harn vorhandenen Stickstoffes bestimmt und in Harnstoff ausgedrückt wird.
- II. In die Methoden, welche eine gesonderte Bestimmung des Harnstoffes, also eine Trennung des Harnstoffes von den anderen vorhandenen stickstoffhaltigen Bestandteilen bezwecken.

Bei Stoffwechseluntersuchung, Messung der Eiweissumsetzung und zur Bestimmung des Nutzungs- und Nährwertes einer Nahrung kommt es hauptsächlich auf die Ermittlung des Gesamtstickstoffgehaltes an, da wie eingangs erwähnt, der Harnstoff durchaus nicht als ausschliessliches Endprodukt der Zersetzung von Eiweissstoffen im Organismus betrachtet werden kann, weil bis zu 16 % des im Harn vorhandenen Gesamtstickstoffes nicht im Harnstoff enthalten sind. Aus diesem Grunde dürfte zur Entscheidung der Frage des Nutzungswertes einer Nahrung und dergleichen die Ermittlung des Gesamtstickstoffgehaltes nach einer der in I. genannten Methoden den richtigen

Aufschluss geben dürfen. Wenn ferner auch die Zunahme und Abnahme des Harnstoffes in den meisten Fällen Hand in Hand geht mit der Gesamtstickstoffausscheidung, so muss gleichwohl bemerkt werden, dass in einigen Fällen (bei Leberkrankheiten, bei denen die Leber durch degenerative Prozesse in ihrer Funktion beschränkt wird) der Harnstoff vermindert, die Ausscheidung des Ammoniaks vermehrt wird. Es wird deshalb in gewissen Fällen für den Arzt von Vorteil sein, sowohl die Ausscheidungs menge des Harnstoffes, als den Gesamtstickstoffgehalt, auch Ammoniak, kennen zu lernen.

Zu den in I. genannten Methoden (Gesamtstickstoffbestimmung) zählen

1. die Kjeldahl'sche Stickstoffbestimmung.

Hier wird der Harnstoff durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure in Kohlensäure und Ammoniak übergeführt und das Ammoniak aus der mit Natronlauge alkalisch gemachten Flüssigkeit abdestilliert und titrimetrisch bestimmt.

2. Die Liebig'sche Methode.

Diese beruht auf der Eigenschaft des Harnstoffes mit salpetersaurem Quecksilberoxyd eine unlösliche Verbindung zu geben. Das Ende der Fällung wird erkannt, wenn ein herausgenommener Tropfen der Mischung mit doppeltkohlensaurem Natron zusammengebracht gelb gefärbt wird (Überschuss von Quecksilberniträt).

3. Die Methoden von Will und Varentrap (Erhitzen mit Natronkalk und Auffangen des entwickelten Ammoniaks in titrierter Säure) und die von Dumas (Verbrennung des eingedampften Harnes mit Kupferoxyd und Messung des ausgeschiedenen Stickstoffes) werden, seitdem die Kjeldahl'sche Bestimmungsmethode bekannt ist, wohl kaum mehr angewendet.

1. Die Kjeldahl'sche¹⁾ Stickstoffbestimmung ist wohl als die einfachste und sicherste Methode zu bezeichnen, die die Ausführung einer grossen Anzahl von solchen Bestimmungen ermöglicht und nur eine geringe Überwachung der Arbeit erfordert. In einem eingerichteten Laboratorium wird man nur diese Methode zu Rate ziehen, im anderen Falle die von Liebig empfohlene und für klinische Zwecke hinreichend genaue von Pflüger modifizierte Methode.

Erforderliche Lösungen zur Kjeldahl'schen Bestimmung.

1. Eine Schwefelsäure, bestehend aus 3 Vol. reiner konzentrierter Schwefelsäure und 2 Vol. rauchender Schwefelsäure oder auch eine Auflösung von 200 g Phosphorsäureanhydrid in 1 l reiner konzentrierter Schwefelsäure.

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1883. 22. 366.

2. Salpetersäurefreie Natronlauge von 1,35 spez. Gew. (270 g NaOH im Liter).
3. Schwefelkaliumlösung (40 Teile Kalium sulfuratum in 1 Liter).
4. $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure. S. 29.
5. $\frac{1}{10}$ -Normalkalilauge. S. 28.
6. Metallisches Quecksilber.

Ausführung.

Je nach der Konzentration des Harnes werden 5 oder 6 ccm desselben in einem ungefähr 200—300 ccm fassenden Kölbchen (Fig. 18) mit rundem Boden mit 20 ccm der Schwefel-

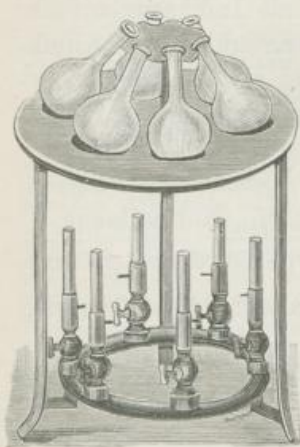


Fig. 18.

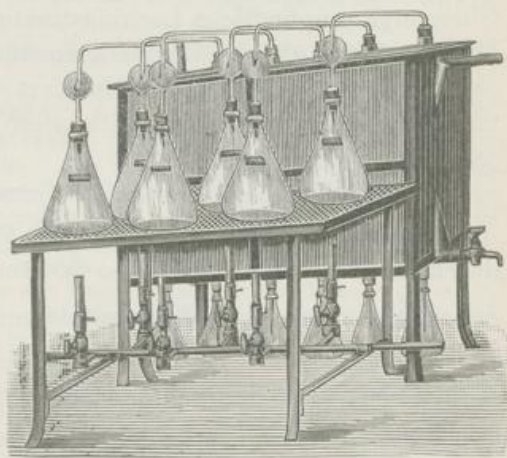


Fig. 19.

säuremischung unter Zusatz eines Tropfens von metallischem Quecksilber versetzt, und die Mischung in dem schief gestellten Kölbchen auf einem Drahtnetze mit einer anfangs kleineren, später grösseren Flamme so lange erhitzt, bis die Flüssigkeit ganz farblos geworden ist. Das Kölbchen ist mit einer gestielten Glaskugel verschlossen. Nach dem Abkühlen spült man den Inhalt des Kölbchens mit wenig Wasser in den ca. 750 ccm fassenden Destillierkolben (Erlenmeyer), spült das Kölbchen möglichst oft aus, damit ja nichts zurückbleibt, verdünnt noch bis ca. 250 ccm und setzt nach dem Erkalten oder Abkühlen rasch 80 ccm der Natronlauge, 25 ccm Schwefelkaliumlösung bzw. soviel, dass alles Quecksilber als Schwefelquecksilber ausgefällt ist und die Flüssigkeit schwarz erscheint, dann einige dünne Stückchen Zink zur Vermeidung allenfallsigen Stossens zu und verbindet rasch mit dem Destillationsrohr (Fig. 19). Letzteres taucht

in einen 250—300 ccm fassenden Erlenmeyerkolben, welcher 50—100 ccm $\frac{1}{10}$ -Schwefelsäure enthält; die Spitze des Destillationsrohres lässt man etwas in die Flüssigkeit eintauchen. Sobald wie deutlich Wasserdämpfe übergehen, braucht das Destillationsrohr nicht mehr in die Flüssigkeit zu tauchen; man stellt daher das Glas mit der Schwefelsäure tiefer. Nachdem etwa 100 ccm Flüssigkeit abdestilliert sind, spritzt man das in die Säure anfangs getauchte Rohr mit destilliertem Wasser ab und titriert die überschüssige Schwefelsäure mit $\frac{1}{10}$ -Normallauge unter Zusatz von Cochenilletinktur (ich verwende mit viel sicherem Übergange empfindliche Lackmustinktur) als Indikator zurück. Die durch das überdestillierte Ammoniak neutralisierten Kubikcentimeter Schwefelsäure multipliziert man mit 1,4, um zu erfahren, wie viel Milligramm Stickstoff die angewandten Kubikcentimeter Harn enthielten.

Z. B.: Vorgelegt wurden 100 ccm $\frac{1}{10}$ -Schwefelsäure, zum Rücktitrieren verbraucht 45 ccm $\frac{1}{10}$ Normallauge, durch das Ammoniak sind also 55 ccm $\frac{1}{10}$ -Säure neutralisiert, die angewendeten 5 ccm Harn enthielten daher $55 \cdot 1,4 = 77 \text{ mg N.}$,
 $100 \text{ ccm} = 1,540 \text{ N.}$

Multipliziert man den gefundenen N. mit 2,142, so erhält man die Menge Harnstoff.

2. Die Liebig'sche¹⁾ Titriermethode.

Dieselbe wird überall, wo eine besondere Einrichtung mangelt, ausgeführt werden, und zwar geschieht die Bestimmung in der nachstehend angegebenen von Pflüger²⁾ modifizierten Methode.

Beschaffenheit des Harns für die Harnstoffbestimmung.

1. Der Harn, welcher titriert werden soll, muss vorher von der Phosphorsäure, Schwefelsäure und der Salzsäure befreit werden, da die Phosphate mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gleichfalls einen Niederschlag geben, und eine neutrale chloridhaltige Harnstofflösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd erst dann einen Niederschlag giebt, wenn man soviel Quecksilberniträt zugesetzt hat, dass alles Chlorid in Quecksilberchlorid übergeführt ist; man verbraucht also bei Gegenwart von Chloriden mehr salpetersaures Quecksilberoxyd, als der Harnstoff allein erfordert. Pflüger lässt daher die Chloride entfernen, doch darf kein Überschuss von Silbernitrat vorhanden sein, da dieses wieder die Endreaktion beeinträchtigt.

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 1883. 85. 289.

²⁾ Pflüger's Archiv. 1880. 21. 248.

2. Der Harn darf kein Eiweiss enthalten; im Falle solches vorhanden ist, ist dasselbe nach S. 20 zu koagulieren und abzufiltrieren; auch Leucin und Tyrosin darf nicht zugegen sein.
3. Der Harn darf nicht in starker alkalischer Gärung sein und viel Ammoniak enthalten.
4. Die verwendete Lösung soll 2% Harnstoff enthalten; ist der Harnstoffgehalt zu hoch, über 2%, so verdünnt man entsprechend mit Wasser (Hundeharn muss stets erst verdünnt werden); liegt der Harnstoffgehalt unter $\frac{1}{3}$ %, so setzt man der Flüssigkeit ein abgemessenes Volumen Harnstofflösung von 2% zu und zieht bei der Berechnung den hinzugefügten Harnstoff ab.
5. Der Harn darf keine durch Arzneien in den Harn gelangte Substanzen enthalten, die Quecksilbersalz fällen.

Hippursäure, Benzoësäure sind erst durch salpetersaures Eisenoxyd auszufällen.

Sarkosin, Methylhydantoin, Salicylsäure sollen in wesentlichen Mengen nicht vorhanden sein.

Erforderliche Lösungen.

1. Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd.

77,2 g reines, getrocknetes, ohne Rückstand beim Erhitzen flüchtiges Quecksilberoxyd werden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade unter gelindem Erwärmen in möglichst wenig reiner Salpetersäure (150—160 g) gelöst, die überschüssige Salpetersäure verjagt, bis zur Sirupkonsistenz eingedampft, allmählich Wasser zugesetzt, umgerührt und schliesslich bis zu einem Liter aufgefüllt. Sollte sich beim Verdünnen mit Wasser etwas basisches Salz ausscheiden, so bringt man dasselbe durch Zusatz von wenigen Tropfen Salpetersäure wieder in Lösung. Man kann die Lösung auch aus metallischem Quecksilber herstellen. Man wiegt 71,48 g Quecksilber in ein Becherglas ab und erwärmt mit dem ca. 5fachen Gewichte reiner Salpetersäure (1,425 spec. Gew.) im Wasserbade bis zur Lösung des Quecksilbers. Man dampft ab, fügt zu der ganz farblos gewordenen Lösung einige Tropfen Salpetersäure hinzu, bis keine gelben Dämpfe mehr entweichen und kein Mercuronitrat vorhanden ist; letzteres erkennt man daran, wenn ein Tropfen der Lösung mit Chlornatriumlösung sich trübt; ist dieses noch vorhanden, dann setzt man noch einige Tropfen Salpetersäure hinzu. Man konzentriert die Flüssigkeit, bis sich eine Spur basisches Salz auszuschcheiden beginnt, dann füllt man die einen dicklichen Sirup darstellende Flüssigkeit genau zu 1 Liter mit Wasser auf.

Diese Lösung ist für eine 2% Harnstofflösung berechnet und zeigt ein Kubikcentimeter genau 0,01 g Harnstoff an; die Quecksilberlösung enthält statt 72 g 77,2 g, da für die Endreaktion etwas mehr Quecksilbersalz erforderlich ist, als für die Bildung der Harnstoffverbindung.

2. Barytmischung.

2 Volumina einer kalt gesättigten Lösung von Ätzbaryt werden mit 1 Volumen einer kalt gesättigten Lösung von salpetersaurem Baryt gemischt.

3. Normalsodalösung.

Man löst 53 g reines trockenes Natriumkarbonat (wie S. 27 hergestellt) in 1 Liter Wasser; die Lösung dient zur Neutralisation der beim Titrieren des Harnstoffs frei werdenden Salpetersäure.

4. 2% Harnstofflösung.

2 g reiner trockener (über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet) Harnstoff werden in 100 ccm Wasser gelöst.

Titerstellung.

10 ccm der Harnstofflösung werden in einem Becherglase solange mit der

Quecksilberlösung versetzt (aus einer Bürette), bis ein herausgenommener Tropfen beim Zusammenbringen mit aufgeschlammtem Natriumbikarbonat eine gelbe Färbung giebt; um die Endreaktion scharf zu erkennen, bedient man sich einer auf schwarzem Glanzpapier liegenden Glasplatte, auf welche man nebeneinander mehrere Tropfen von mit Wasser zu einem dicken Brei aufgeschwemmtem Natriumbikarbonat gebracht hat. Man fügt einen Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit derartig zu, dass er mit den Bikarbonattropfen zusammenfließt; beim Überschusse der Quecksilberlösung entsteht an der Berührungsstelle eine gelbe Zone; beim Eintreten dieser Reaktion stumpft man dann die entstandene freie Säure (Salpetersäure) in der Mischung durch Zusatz der Sodalösung aus einer Bürette soweit ab, dass nur noch eine sehr schwach saure Reaktion verbleibt und prüft dann von neuem mit Natriumbikarbonat. (Die nötige Menge der Sodalösung wird durch einen besonderen Versuch ermittelt (kein Überschuss!). Um zu wissen, wie viel Sodalösung der Quecksilberlösung behufs Neutralisation entspricht, fertigt man sich am besten eine Tabelle an, welche etwa von 10–35 ccm der Quecksilberlösung reicht). Gewöhnlich ist nach der Neutralisation noch der Zusatz einer kleinen Menge Quecksilberlösung zur Hervorrufung der Endreaktion erforderlich. Von einer richtig gestellten Quecksilberlösung sollen 20 ccm verbraucht werden, so dass im Anfange der Titration gleich 19 ccm der Lösung zugegeben werden können oder sogar müssen, da man nach Pflüger die Menge der Quecksilberlösung nicht in einzelnen Portionen, sondern auf einmal zufließen lassen muss. Ist die Quecksilberlösung noch zu konzentriert, werden z. B. nur 19,7 ccm statt 20 ccm verbraucht, dann muss die Lösung noch entsprechend verdünnt werden; es müssten hier z. B. 985 ccm der Lösung mit 15 ccm Wasser vermischt werden.

Bestimmung im Harn.

Aus dem spezifischen Gewichte des Harnes, wenn derselbe frei von Zucker und nicht sehr arm an Kochsalz (Fieberharn) ist, also kein pathologischer Harn ist, kann der Harnstoffgehalt annähernd geschätzt werden, was die Titrierung etwas erleichtert.

Harn mit 1,010 spez. Gew. hat circa 1%,

Harn mit 1,015–1,020 = 1,5–2% Harnstoff.

Mit der Zunahme des spezifischen Gewichtes steigt der Gehalt an Harnstoff rascher, so dass Harn mit 1,030 spez. Gewicht bereits circa 4% enthalten kann.

Zur Bestimmung des Harnstoffes nach der angegebenen Methode versetzt man 2 Vol. Harn (100 ccm) mit 1 Vol. der Barytmischung (50 ccm), schüttelt um und filtriert; das Filtrat prüft man, ob durch weiteren Zusatz der Barytmischung noch eine Fällung entsteht; sollte dies der Fall sein (z. B. beim Harn von Fieberkranken), so mischt man gleiche Volumina Harn und Barytmischung. In 15 ccm des Filtrates (= 10 ccm Harn) bestimmt man nach dem Ansäuern mit Salpetersäure das Chlor mit $\frac{1}{10}$ -Silberlösung und Rhodanlösung (Seite 44). Ein anderer Teil des Filtrates 60 ccm (= 40 ccm Harn) wird durch tropfenweisen Zusatz von verdünnter Salpetersäure, die aus einer Bürette zugegeben wird, neutralisiert (Prüfung mit Lackmuspapier), die zum Ausfällen des Chlors durch den Versuch ermittelte notwendige Menge Silberlösung zugesetzt (man ver-

wendet hier aber Normalsilberlösung) und wieder filtriert. Vom Filtrate verwendet man das 10 ccm Harn enthaltende mit der Bürette oder Messpipette abgemessene Volumen zur Harnstoffbestimmung.

Beispiel.

Für die 60 ccm Filtrat (Harn + Baryt) = 40 ccm Harn wurden verbraucht:

$$\begin{array}{r} 0,2 \text{ ccm Salpetersäure,} \\ 9,4 \text{ ccm Normalsilberlösung,} \\ \hline 69,6 \text{ ccm} = 40 \text{ ccm Harn,} \\ 17,4 \text{ ccm} = 10 \text{ ccm Harn.} \end{array}$$

Zu dieser abgemessenen Flüssigkeit (im Beispiel 17,4 ccm = 10 ccm Harn) setzt man in kontinuierlichem Strahl unter tüchtigem Umschütteln nicht ganz soviel Kubikcentimeter der Quecksilberlösung, als man nach der Bestimmung des spez. Gewichtes zugeben zu müssen glaubt; sodann giebt man von der Normalsodalösung soviel Kubikcentimeter hinzu, dass die Flüssigkeit ganz schwach sauer bleibt (man notiert sich die beim Einstellen der Lösung mit Harnstoff verbrauchte Menge der Sodalösung) und prüft, wie bei der Titerstellung angegeben, mit Natriumbikarbonat. Tritt die Endreaktion noch nicht ein, so lässt man noch 1 ccm der Quecksilberlösung und die entsprechende Menge Sodalösung hinzufliessen und wiederholt diese Zusätze bis zur Endreaktion. Zur endgültigen Bestimmung mischt man wieder soviel Harnfiltrat, wie beim Vorversuch ab, lässt die beim ersten Versuch verbrauchte Menge Quecksilberlösung in einem Strahle zufließen, schüttelt schnell um und giebt das berechnete notierte Volumen Normalsoda hinzu. Man setzt nun, wenn das Ende der Reaktion noch nicht eingetreten ist, successive 0,1 ccm Quecksilberlösung hinzu und auch die entsprechende Sodamenge, bis die Endreaktion eintritt. Bedarf es hierzu noch mehrerer $\frac{1}{10}$ ccm, dann muss man eine wiederholte Titrierung vornehmen, man lässt die ganze zuletzt verbrauchte Mercurinitratlösung in einem Strahle zufließen, giebt die entsprechende Menge Sodalösung hinzu und prüft mit dem Indikator. Es wird dann wohl nur mehr 0,1 ccm Mercurinitratlösung nötig sein zur Beendigung der Reaktion.

Bei der Berechnung des Harnstoffs ist, wenn die Lösung nicht genau 2% enthält, nach Pflüger eine Korrektur anzu-

bringen (enthält das titrierte Filtrat weniger als 2% Harnstoff, so verbraucht man bis zum Eintritt der Reaktion zuviel Quecksilberlösung, enthält es mehr, zu wenig), nach der Formel:

$$C = (V_1 - V_2) \cdot 0,08,$$

V_1 = Volumen der Harnstofflösung und Sodalösung,

V_2 = Volumen der verbrauchten Quecksilberlösung,

C = Anzahl Kubikcentimeter, die von der verbrauchten Quecksilberlösung abzuziehen sind.

Beispiel:

Angewendete Menge des Filtrates, S. 97,

$$= 17,4 \text{ ccm} = 10 \text{ ccm Harn}$$

Nötige Menge Soda = 13,8 ccm

$$\text{Summa } 31,2 \text{ ccm} = V_1$$

$$31,2 - 20,5 \text{ (verbrauchte Quecksilberlösung} = V_2)$$

$$= 10,7 \cdot 0,08 = 0,856 = C.$$

$$20,5 - 0,856 = 19,640 = 1,964\% \text{ Harnstoff, da}$$

$$1 \text{ ccm Quecksilberlösung} = 0,01 \text{ Harnstoff oder } 0,00467 \text{ Stickstoff.}$$

Man findet, wie schon erwähnt, nach diesem Verfahren nicht den wirklichen Harnstoffgehalt, sondern annähernd den vorhandenen Stickstoff.

Zu II, den Methoden, welche eine wirkliche Bestimmung des Harnstoffes allein bezwecken, zählen:

1. Die Methode von Bunsen,¹⁾ deren Prinzip folgendes ist:

Der Harn wird mit ammoniakalischer Chlorbariumlösung in einem zugeschmolzenen Glasrohr 3—4 Stunden auf 220—240° erhitzt und die gebildete im entstandenen kohlensauren Baryt enthaltene Kohlensäure bestimmt. Nach Pflüger und Bohland, die das Verfahren verbesserten, kann der Fehler bei der Bunsen'schen Methode bis 10% betragen.

Während Salkowski mit einer gesättigten im Liter 15—20 ccm einer 30% Natronlauge enthaltenden Chlorbariumlösung operierte und sowohl das gebildete Ammoniak, wie die Kohlensäure bestimmte, haben Pflüger, Bohland und Bleibtren²⁾ das Verfahren so verbessert, dass erst der Harn mit Phosphorwolframsäure ausgefällt wird, um alle Substanzen, die beim Erhitzen mit der alkalischen Chlorbariumlösung Kohlensäure und Ammoniak geben, zu entfernen; auf diese Weise liefert die Methode in der modifizierten Form wissenschaftlich brauchbare Resultate.

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 1848. 65. 375.

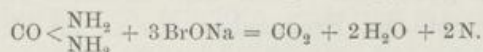
²⁾ Pflüger's Archiv. 1886. 38. 575.

K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist¹⁾ fanden nun wiederum, dass bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure unter Umständen auch Harnstoff mit ausgefällt werden kann und empfehlen eine Methode, bei welcher auch die gesonderte Bestimmung des präformierten Ammoniaks in Wegfall kommt.

2. Die Methode von Knop-Hüfner.

Prinzip.

Der Harnstoff zersetzt sich durch eine alkalische Lösung von unterbromigsaurem Natron in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser, von welchen die Kohlensäure vom Natron gebunden wird, während man den entwickelten Stickstoff in eigenen Apparaten misst.



3. Die Methode von E. Riegler.

Prinzip.

Diese schon von Gréhaut, Boymont versuchte Methode beruht darauf, dass der Harnstoff durch Millon's Reagens in gleiche Volumina Kohlensäureanhydrid und Stickstoff zerlegt wird; die Gase werden aufgefangen und aus deren Gesamtvolumen der Harnstoff bestimmt.

1. Die Methode von Bunsen in der Modifikation von Pflüger und Bleibtreu.

Erforderliche Lösungen.

Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäurelösung; 100 ccm Salzsäure von 1,124 spez. Gew. + 900 ccm Phosphorwolframsäure (1:10).

Ausführung.

Man versetzt vorerst, um die zum Ausfällen der Harnsäure etc. nötige Menge des Fällungsmittels kennen zu lernen, 1 Vol. Harn (vielleicht 5 ccm) mit der gleichen Menge der Phosphorwolframsäuremischung und prüft im Filtrate, ob der Zusatz ein genügender gewesen ist dadurch, dass man auf 1 ccm der filtrierten Lösung 3 Tropfen der Phosphorwolframsäure zusetzt; bleibt die Lösung klar, so war der Zusatz genügend, entsteht jedoch eine Trübung, dann wird man 5 ccm Harn mit 7,5 ccm der Lösung versetzen und wieder prüfen.

Man vermischt dann 100 ccm Harn mit dem bei der Vorprobe ermittelten Volumen der Phosphorwolframsäure, lässt 24 Stunden stehen, filtriert dann ab, vermischt das Filtrat mit Kalkhydratpulver bis zur alkalischen Reaktion und lässt bedeckt stehen, bis die blaue Farbe verschwunden ist. Von dem Filtrate verwendet man die 10 ccm des zu prüfenden Harnes

¹⁾ Skand. Archiv Physiol. 1891. 2. 438.

entsprechende Menge zur Ammoniakbestimmung nach Schlösing (S. 34). Die gleiche Menge des Filtrates (10 ccm ursprünglichen Harns entsprechend) wird zur Überführung des Harnstoffes in Ammoniak in einem Destillierkolben mit ungefähr 10 g krystallisierter Phosphorsäure oder der entsprechenden Menge konzentrierter flüssiger Phosphorsäure versetzt und 3 Stunden auf 230—260° erhitzt; der Harnstoff wird hierdurch in Kohlensäure und Ammoniak gespalten; letzteres wird an Phosphorsäure gebunden. Nach dem Erkalten verdünnt man mit Wasser, giebt zum Freimachen des an die Phosphorsäure gebundenen Ammoniaks 70 ccm 21 % Natronlauge hinein und destilliert in der bei der Bestimmung nach der Kjeldahl'schen Methode angegebenen Weise (S. 92). Das Destillat wird in $\frac{1}{10}$ Schwefelsäure aufgefangen und wie bei der Kjeldahl'schen Bestimmung titriert. Von der gefundenen und berechneten Stickstoffmenge ist die nach Schlösing gefundene in Abzug zu bringen; der Rest wird auf Harnstoff berechnet (S. 94).

2. Die Methode nach K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.

In einem Kolben werden 5 ccm Harn mit 5 ccm einer gesättigten Chlorbariumlösung, die 5 % Barythydrat aufgelöst enthält, zusammengebracht; ferner werden 100 ccm einer Mischung, aus 2 Teilen 96 % Weingeist und 1 Teil Äther bestehend, hinzugegeben, das Gefäß verschlossen und 12 Stunden stehen gelassen; nach dieser Zeit wäscht man den ausgeschiedenen und auf einem Filter gesammelten Niederschlag mit Alkoholäther aus, eventuell mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe; das Filtrat engt man in einer Schale bei einer nicht über 60° betragenden Temperatur auf dem Wasserbade auf ca. 20—25 ccm ein, giebt nun etwas Wasser und gebrannte Magnesia zu und dampft zur Entfernung des präformierten Ammoniaks so lange ein, bis die Dämpfe keine alkalische Reaktion mehr zeigen. Die eingeengte Flüssigkeit spült man mit Wasser in einen Rundkolben, wäscht die Schale wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nach, dampft auf dem Wasserbade ein und verfährt dann mit dem Rückstande ganz, wie bei der Kjeldahl'schen Stickstoffbestimmung angegeben ist. Man erhitzt also den Rückstand zuerst mit Schwefelsäure und einem Tropfen Quecksilber, bis er farblos geworden

ist, bringt diesen in den mit etwas Wasser angefüllten Erlenmeyerkolben, spült den Rundkolben aus, giebt Natronlauge und Schwefelkaliumlösung hinzu und destilliert.

$$1 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-Normalschwefelsäure} = 0,0014 \text{ g N} = 0,003 \text{ g Harnstoff.}$$

3. Die Methode von Knop-Hüfner.

Für die Ausführung dieser Methode sind die verschiedensten Modifikationen erfunden und eine grosse Anzahl von Apparaten (Ureometern, Azotometern) konstruiert worden, die im Prinzip nicht wesentlich von dem eigentlichen Hüfner'schen Apparate, der im nachstehenden eingehender betrachtet werden wird, verschieden sind. Eine Beschreibung dieser vielen verschiedenen Apparate kann natürlich nicht gegeben werden; dieselbe wird auch unnötig, da diesen Ureometern Gebrauchsanweisungen beigegeben sind.

Dagegen soll die Hüfner'sche Methode, deren Prinzip eigentlich grundlegend für alle anderen ähnlichen Methoden gewesen ist, eingehend besprochen werden.

Erforderliche Lösung.

Man stellt sich eine Natronlauge her, die in 500 ccm Wasser 200 g Natronhydrat aufgelöst enthält. Beim Gebrauche mischt man 175 g dieser Lauge unter Abkühlung — man stellt das Mischgefäss in Eiswasser — mit 12,5 ccm Brom.

Man muss die Mischung stets frisch darstellen, da sie sich nur wenige Tage hält.

Ausführung der Methode.

Bedingungen sind:

1. Man soll möglichst einen Harn verwenden, der circa 1% Harnstoff enthält; konzentriertere Harne verdünnt man nach dem Ausfall eines Vorversuches entsprechend.
2. Der Harnbehälter der Apparate muss vollkommen trocken sein; man trocknet nach dem Waschen mit Wasser durch Abspülen mit Alkohol und dann mit Äther.
3. Zum Füllen des Eudiometers, der Messröhre, verwendet man am zweckmässigsten und sichersten die schon gebrauchte Bromlauge.
4. Der Harn muss frei sein von Eiweiss und Zucker.

Man verwendet das Hüfner'sche Ureometer (Fig. 20).

Das ungefähr 100 ccm fassende bauchige Gefäss *B* steht mittels eines weit gebohrten Hahnes mit dem 5 ccm enthaltenden kolbenförmigen Ansatzstück *A* in Verbindung. Das Volumen des Gefässes *A* einschliesslich der Hahnbohrung muss man vorerst genau feststellen, was durch Aus-

messen mit einer Messpipette mit Wasser geschieht. Der Raum *A* inkl. der Hahnbohrung soll womöglich nicht über 6 ccm fassen.

Das obere etwas verjüngte Ende von *B* umschliesst mittelst eines Korkverschlusses der Hals einer Glasschale *C*, in welche das verjüngte Ende von *B* einige Centimeter hoch emporragt; auf dieses verjüngte Ende *B* wird das Eudiometer *D* zum Aufsammlen des entwickelten Stickstoffes gebracht; dieses Eudiometer, in einem Halter bei der Ausführung des Versuches leicht zu befestigen, fasst 50—100 ccm und ist in $\frac{1}{10}$ -Kubikcentimeter eingeteilt.

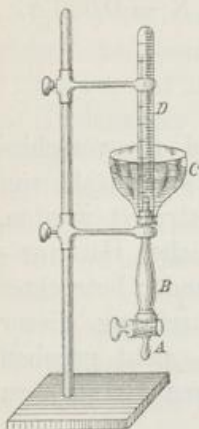


Fig. 20.

Mit Hilfe eines langhalsigen Trichters, dessen Spitze bis in die Hahnbohrung reicht, füllt man mit dem am zweckmässigsten zu gleichen Teilen mit Wasser verdünntem Harn das Gefäß *A* samt der Hahnbohrung genau an, schliesst dann den Hahn und reinigt durch Ausspülen mit Wasser das Gefäß *B* von etwa anhängenden Harntröpfchen. Nun füllt man das Gefäß *B* und grösstenteils die Schale *C* mit der Knop'schen Bromlauge, giebt das mit der gleichen oder einer schon gebrauchten Bromlauge vollkommen angefüllte Eudiometer — man verschliesst das gefüllte Messrohr mit dem Daumen und öffnet es erst unter der Flüssigkeit in der Schale — über das verjüngte Ende von *B* und schiebt das letztere 2—3 cm in die Röhre hinein. Das Eudiometerrohr befestigt man nun im Halter. Das Gefäß *B* darf keine Luftblasen mehr enthalten; man öffnet dann den Hahn, wodurch eine Vermischung des Harnes mit der Lauge und alsbald eine lebhafte Gasentwicklung stattfindet. Ist diese Gasentwicklung zu Ende, was nach 20—30 Minuten erfolgt ist, dann lässt man noch ca. $\frac{1}{4}$ Stunde stehen, zieht das verjüngte Ende von *B* zurück, hebt das Eudiometer mittelst eines Glaslöffels, oder indem man das untere Ende unter der Flüssigkeit mit dem Daumen verschliesst, heraus und bringt das Rohr in einen mit luftfreiem, ausgekochtem, erkaltetem Wasser gefüllten Cylinder, stellt es so, dass das Niveau der Flüssigkeit in der Röhre mit dem Niveau des Wassers im Cylinder zusammenfällt und liest nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen das Volumen des Gases ab.

Man bestimmt weiter die Lufttemperatur, notiert den Barometerstand und berechnet das Gewicht des Stickstoffs,

und daraus den Harnstoff. Das Gewicht des Stickstoffes bestimmt man nach folgender Formel:

$$g = \frac{V \cdot (b - b^1)}{760(1 + 0,003665 \cdot t)} \cdot 0,0012566, \text{ worin}$$

g = Gewicht des Stickstoffes in Gramm,

V = Volumen des entwickelten Stickstoffes in Kubikcentimetern,

t = Temperatur,

b = Barometerstand, reduziert auf 0° ,

b^1 = Tension des Wasserdampfes für die Temperatur t (s. Tabelle).

0,0012566 = Gewicht von 1 ccm Stickstoff bei 0° und 760 mm.

Tabelle der Tension des Wasserdampfes

in Millimetern Quecksilber für die Temperaturen von $10-30^\circ\text{C}$.

Grad Celsius	Tension mm	Grad Celsius	Tension mm	Grad Celsius	Tension mm	Grad Celsius	Tension mm
10	9,165	15,5	13,112	21,0	18,495	26,5	25,738
10,5	9,474	16,0	13,536	21,5	19,069	27,0	26,505
11,0	9,792	16,5	13,972	22,0	19,659	27,5	27,294
11,5	10,120	17,0	14,421	22,5	20,265	28,0	28,101
12,0	10,457	17,5	14,882	23,0	20,888	28,5	28,931
12,5	10,804	18,0	15,357	23,5	21,528	29,0	29,782
13,0	11,162	18,5	15,845	24,0	22,184	29,5	30,654
13,5	11,530	19,0	16,346	24,5	22,858	30,0	31,548
14,0	11,908	19,5	16,861	25,0	23,550		
14,5	12,298	20	17,391	25,5	24,261		
15,0	12,699	20,5	17,935	26,0	24,988		

Uebrigens lässt sich aus der Tabelle (S. 104—105) von Dietrich das Gewicht eines Kubikcentimeters Stickstoff direkt ablesen; man multipliziert das abgelesene Gasvolumen mit dem in der Tabelle gefundenen Gewichte von 1 ccm Stickstoff; diese Menge N mit 2,14 multipliziert giebt die entsprechende Harnstoffmenge, da man für 7 Teile (Gramm) Stickstoff 15 Teile Harnstoff zu nehmen hat, oder es sind von dem Volumen des Stickstoffes ausgehend 370 ccm N bei 0°C . und 760 mm Barometerstand = 1 g Harnstoff.

Dietrich's Tabelle für die Gewichte eines Kubikcentimeters Stickstoff

in Milligramm bei einem Drucke von 720—770 mm Quecksilber und bei den Temperaturen von 10—25° C.

Temp. n. Celsius	M i l l i m e t e r												
	720	722	724	726	728	730	732	734	736	738	740	742	744
10°	1,13380	1,13699	1,14018	1,14337	1,14656	1,14975	1,15294	1,15613	1,15932	1,16251	1,16570	1,16889	1,17208
11	1,12881	1,13199	1,13517	1,13835	1,14153	1,14471	1,14789	1,15107	1,15424	1,15742	1,16060	1,16378	1,16696
12	1,12376	1,12293	1,13010	1,13326	1,13643	1,13960	1,14277	1,14493	1,14910	1,15227	1,15543	1,15860	1,16177
13	1,11875	1,12191	1,12506	1,12822	1,13138	1,13454	1,13769	1,14085	1,14401	1,14716	1,15032	1,15348	1,15663
14	1,11360	1,11684	1,11990	1,12313	1,12628	1,12942	1,13257	1,13572	1,13886	1,14201	1,14515	1,14830	1,15145
15	1,10859	1,11172	1,11486	1,11799	1,12113	1,12426	1,12739	1,13053	1,13366	1,13680	1,13993	1,14306	1,14620
16	1,10346	1,10058	1,10971	1,11283	1,11596	1,11908	1,12220	1,12533	1,12845	1,13158	1,13470	1,13782	1,14099
17	1,09828	1,10139	1,10450	1,10761	1,11073	1,11384	1,11695	1,12006	1,12317	1,12629	1,12940	1,13251	1,13562
18	1,09304	1,09614	1,09924	1,10234	1,10544	1,10854	1,11165	1,11475	1,11785	1,12095	1,12405	1,12715	1,13025
19	1,08774	1,09083	1,09392	1,09702	1,10011	1,10320	1,10629	1,10938	1,11248	1,11557	1,11866	1,12175	1,12484
20	1,08246	1,08554	1,08862	1,09170	1,09478	1,09786	1,10094	1,10402	1,10710	1,11018	1,11327	1,11635	1,11943
21	1,07708	1,08015	1,08322	1,08629	1,08936	1,09243	1,09550	1,09857	1,10165	1,10472	1,10779	1,11086	1,11393
22	1,07166	1,07472	1,07778	1,08084	1,08390	1,08696	1,09002	1,09308	1,09614	1,09921	1,10227	1,10533	1,10839
23	1,06616	1,06921	1,07226	1,07531	1,07836	1,08141	1,08446	1,08751	1,09056	1,09361	1,09666	1,09971	1,10276
24	1,06061	1,06365	1,06669	1,06973	1,07277	1,07581	1,07885	1,08189	1,08493	1,08796	1,09100	1,09404	1,09708
25	1,05499	1,05801	1,06104	1,06407	1,06710	1,07013	1,07316	1,07619	1,07922	1,08225	1,08528	1,08831	1,09134

(Fortsetzung.)

Temp. n. Celsius	M i l l i m e t e r													770
	746	748	750	752	754	756	758	760	762	764	766	768		
10°	1,17527	1,17846	1,18165	1,18484	1,18803	1,19122	1,19441	1,19760	1,20079	1,20398	1,21717	1,21036	1,21355	
11	1,17014	1,17332	1,17650	1,17168	1,18286	1,18603	1,18921	1,19239	1,19557	1,19875	1,20193	1,20511	1,20829	
12	1,16433	1,16810	1,17127	1,17444	1,17760	1,18077	1,18394	1,18710	1,19027	1,19344	1,19660	1,19977	1,20294	
13	1,15979	1,16295	1,16611	1,16926	1,17242	1,17558	1,17873	1,18189	1,18505	1,18820	1,19136	1,19452	1,19768	
14	1,15459	1,15774	1,16088	1,16403	1,16718	1,17032	1,17347	1,17661	1,17976	1,18291	1,18605	1,18920	1,19234	
15	1,14933	1,15247	1,15560	1,15873	1,16187	1,16500	1,16814	1,17127	1,17440	1,17754	1,18067	1,18381	1,18694	
16	1,14407	1,14720	1,15032	1,15344	1,15657	1,15969	1,16282	1,16594	1,16906	1,17219	1,17531	1,17844	1,18156	
17	1,13873	1,14185	1,14496	1,14807	1,15118	1,15429	1,15741	1,16052	1,16363	1,16674	1,16985	1,17297	1,17608	
18	1,13335	1,13645	1,13955	1,14266	1,14576	1,14886	1,15196	1,15506	1,15816	1,16126	1,16436	1,16746	1,17056	
19	1,12794	1,13103	1,13412	1,13721	1,14030	1,14340	1,14649	1,14958	1,15267	1,15576	1,15886	1,16195	1,16504	
20	1,12251	1,12559	1,12867	1,13175	1,13483	1,13791	1,14099	1,14408	1,14716	1,15024	1,15332	1,15640	1,15948	
21	1,11700	1,12007	1,12314	1,12621	1,12928	1,13236	1,13543	1,13850	1,14157	1,14464	1,14771	1,15078	1,15385	
22	1,11145	1,11451	1,11757	1,12063	1,12369	1,12675	1,12982	1,13288	1,13594	1,13900	1,14206	1,14512	1,14818	
23	1,10581	1,10886	1,11191	1,11496	1,11801	1,12106	1,12411	1,12716	1,13021	1,13326	1,13631	1,13936	1,14241	
24	1,10012	1,10316	1,10620	1,10924	1,11228	1,11532	1,11835	1,12139	1,12443	1,12747	1,13051	1,13355	1,13659	
25	1,09437	1,09740	1,10043	1,10346	1,10649	1,10952	1,11255	1,11558	1,11861	1,12164	1,12467	1,12770	1,13073	

Zur Vornahme der Bestimmung kann man statt des Hüfner'schen Apparates auch das von Lunge¹⁾ konstruierte Ureometer (Fig. 21) benutzen. Dieser Apparat hat den grossen Vorteil, dass er das Messen des erhaltenen Gases sehr vereinfacht, dass man die Finger nicht mit der Lauge in Berührung zu bringen braucht und dass man sehr an Lauge spart, weil man nur zur Zersetzung in *B* eine geringe Menge frischer Lauge braucht.

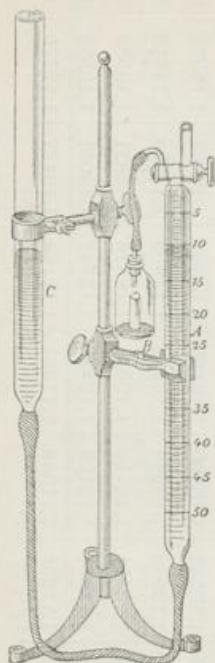


Fig. 21.

Entwicklungsgefässes das Ausfliessen des Harnes zur Bromlauge und somit die Gasentwicklung; der entwickelte Stickstoff tritt in die Messröhre ein; zuletzt veranlasst man durch vorsichtiges Bewegen ein Eintreten der Bromlauge in das innere Gefäss, um die letzten Reste Harn gar zu zersetzen. Nach dem Aufhören einer Gasentwicklung stellt man die Flüssigkeit in beiden Röhrenschenkeln gleich hoch und nimmt die Ablesung vor.

Berechnung wie beim Versuche nach Hüfner.

Beurteilung.

Führt man die Bestimmung in den Apparaten mit reiner Harnstofflösung aus, so erhält man nach Hüfner statt der 370 ccm Stickstoff (bei 760 mm Barometer bei 0° C.) nur 354,33 ccm N aus 1 g Harnstoff, so dass Hüfner diese letzte Zahl zur Korrektur empfahl.

Nach Versuchen von Pflüger und Bohland wird diese Korrektur unnötig, da wieder andere stickstoffhaltige Substanzen von ihrem Stickstoff abgeben und sich so die Fehler ausgleichen.

Bei der Bestimmung des Gehaltes einer reinen Harnstofflösung muss man den Stickstoffverlust allerdings in Betracht ziehen und zwar in der Weise, dass man mit einer Harnstofflösung von bekanntem Gehalte (1%) den Fehler für die Lauge und den Apparat feststellt und diesen bei dem Versuche in Rechnung bringt. Die Harnstofflösung von unbekanntem Gehalt wird man auch erst möglichst 1% herstellen (Vorversuche, ob und wie ungefähr zu verdünnen ist).

¹⁾ Berl. Berichte. 18. 2030; Zeitschr. angew. Chemie. 1890. 8.

Zur Ausführung der Bestimmung in einem der Apparate kann auch der von Harnsäure, Kreatinin etc. befreite Harn Verwendung finden. Nach Pflüger und Bohland wird der Harn wie bei der Prüfung nach Bunsen mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure ausgefällt und das Filtrat durch Kalkhydrat zur Entfernung der überschüssigen Phosphorwolframsäure alkalisch gemacht. Vom Filtrate, das 0,25—1% Harnstoff enthalten soll, giebt man in einen der Apparate die vorgeschriebene Menge und korrigiert hier das Resultat nach dem Fehler, der für den Apparat und die Lauge bei Verwendung reiner Harnstofflösung von bekanntem Gehalte ermittelt wurde.

Nach Knop-Hüfner kann man das Verfahren auch zu einer annähernden Bestimmung des Gesamtstickstoffes im Harn verwenden. Man erhält ziemlich mit der Kjeldahl'schen Bestimmung übereinstimmende Resultate, wenn man die im Harn nach Knop-Hüfner gefundene Stickstoffmenge ohne Anbringung der Korrektur für Apparat und Lauge mit dem Faktor 1,136 multipliziert. Für Fieberharn wurde der Faktor von Huppert zu 1,18 berechnet. Nach Camerer soll man zur Bestimmung des Gesamtstickstoffes den nach Knop-Hüfner erhaltenen Stickstoff bei Erwachsenen mit 1,16, bei Kindern mit 1,14 multiplizieren.

4. Methode von E. Riegler.¹⁾

Prinzip S. 99.

Erforderliche Lösung.

Millon's Reagens: 10 ccm Quecksilber werden in 130 ccm Salpetersäure von 1,4 spez. Gewicht ohne Erhitzen gelöst, dann 140 ccm destilliertes Wasser zugefügt und filtriert.

Riegler bedient sich zur Ausführung der Methode des neben abgebildeten Apparates²⁾ (Fig. 22). Man bringt 1 ccm Harn in das Reagensglas und stellt dieses, nachdem der Stopfen aufgesetzt und der Hahn des Scheidetrichters geöffnet ist, in Wasser von Zimmertemperatur. Nach 10 Minuten wird die Niveaugugel so gehoben, dass der Flüssigkeitsspiegel (als Sperrflüssigkeit dient ein Gemisch aus gleichen Teilen Wasser und Glycerin) in ihr und dem Messrohre in gleicher Höhe mit Marke 0 des Messrohres steht.

Man nimmt dann das Reagensrohr aus dem Wasser, klemmt es in das Stativ, füllt nach dem Schliessen des Hahnes das

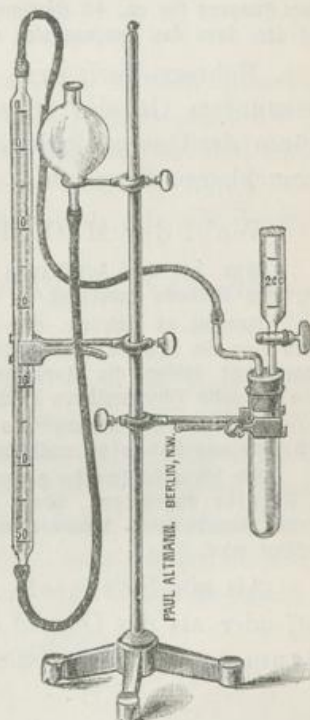


Fig. 22.

¹⁾ Apoth.-Ztg. 12. 89; Chem. Centrbl. 1897. 68. I. 559.

²⁾ Zu haben bei P. Altmann, Berlin, Luisenstrasse 59.

Trichterrohr bis zur oberen Marke mit Millon's Reagens und lässt dann das Reagens bis zur untersten Marke in das Reagensrohr einfließen. Der Hahn wird wieder geschlossen, die Flüssigkeit im Reagensglas mit kleiner Flamme mehrmals aufgekocht, dann gut durchgeschüttelt und das Reagensglas wie vor der Vornahme des Versuches in Wasser gestellt. Nach 10 Minuten langem Stehen wird die Flüssigkeit in Kugel und Messrohr auf gleiches Niveau gestellt und das Gasvolumen abgelesen.

Aus der dem Apparate beigegebenen Tabelle ist für das abgelesene Gasvolumen und die betreffende Temperatur die Menge des Harnstoffes zu ersehen.

Beurteilung.

Diese Methode ist als sichere und schnelle, sowie leicht ausführbare zu empfehlen; sie ist ferner viel billiger als die Hüfner'sche, da 100 ccm von dem Reagens für ca. 40 Bestimmungen ausreichen. Ein weiterer grosser Vorzug ist der, dass das Reagens sich unbegrenzt lange hält und nicht zersetzt.

Mehrere Verfahren, den Überschuss einer Bromlauge von bekanntem Gehalte oder Titer nach erfolgter Reaktion (Aufhören der Gasentwicklung) zurückzutitrieren, führen zu keinem brauchbaren Resultate.

Wahl der Methode.

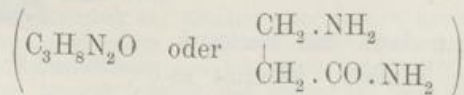
Was bei der Ausführung einer Harnstoffbestimmung die Wahl einer geeigneten Methode anbelangt, so ist folgendes zu erwähnen:

Handelt es sich um eine Bestimmung des Gesamtstickstoffes, dann wird man die Kjeldahl'sche Bestimmung, die die einfachste und genaueste ist, anwenden; fehlen die Apparate oder die Einrichtung, dann wird man die Liebig'sche Titriermethode in der angegebenen Modifikation zu Rate ziehen.

Bei der Bestimmung des Harnstoffes als solchen führt die von Mörner und Sjöqvist modifizierte Methode zum Ziele.

Für klinische Zwecke genaue und leicht ausführbare Methoden sind die von E. Riegler angegebene, sowie die Hüfner'sche Methode, die mit einem der vielen konstruierten Apparate nach der beigegebenen Gebrauchsanweisung ausgeführt wird.

Als ein Harnstoff, in dem CO durch CO—C₂H₄ ersetzt ist, oder als das Diamid der Fleischmilchsäure könnte der von Baumstark isolierte stickstoffhaltige Körper



aufgefasst werden.

Derselbe wurde im ikterischen und auch im normalen Harn gefunden.

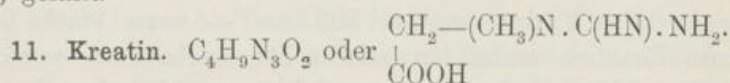
Darstellung.

Der eingedickte sirupartige Harn wird warm mit viel absolutem Alkohol vermischt, die Lösung filtriert und aus dem Verdunstungsrückstande dieses alkoholischen Auszuges nach dem Ansäuern mit Äther die Hippursäure durch Ausschütteln entfernt.

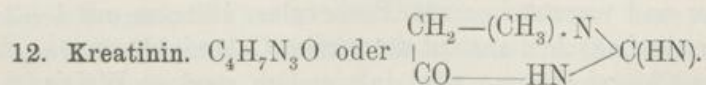
Den zurückbleibenden Sirap versetzt man mit überschüssigem Ammoniak und basisch-essigsaurem Blei, filtriert die Flüssigkeit vom Bleiniederschlag ab, entfernt das Blei im Filtrat durch Schwefelwasserstoff und dampft die vom Schwefelblei abfiltrierte Lösung ein. Neben Harnstoff bleiben Krystalle ausgeschieden, die in Alkohol unlöslich sind; diese werden durch Alkohol vom Harnstoff getrennt und aus heissem Wasser umkrystallisiert.

Eigenschaften.

Baumstark's Körper krystallisiert in weissen Säulen, über 250° schmelzend; er ist leicht löslich in heissem, schwer in kaltem Wasser und in Alkohol. In absolutem Alkohol und Äther ist derselbe unlöslich. Mit Säuren bildet er leicht lösliche Salze und wird durch Quecksilbernitrat, wie der Harnstoff, gefällt.



Kreatin — Methylguanidinessigsäure soll sich im Harn der Säugetiere neben Kreatinin finden; nach Ansicht anderer Forscher ist jedoch im Harne kein Kreatin vorhanden; zudem geht das Kreatin leicht in das Kreatinin über, besonders beim Erwärmen mit Mineralsäuren. Vom folgenden Kreatinin unterscheidet es sich, dass es nicht die Weyl'sche Reaktion und auch in der Kälte keinen Niederschlag mit Chlorzink giebt.



Glycolmethylguanidin, Methylglyocyamidin ist mit Sicherheit als konstanter Bestandteil des menschlichen Harnes und des Harnes einiger Säugetiere nachgewiesen (im Harne von 24 Stunden 0,6—1,5 g). Ob das im Harne vorhandene Kreatinin — das Anhydrit des Kreatins — aus dem Kreatin

der Muskeln, welches, bevor es den Körper verlässt, in Kreatinin umgewandelt wird, allein stammt, ist nicht sicher entschieden. Kreatin und das Anhydrit lassen sich in geringen Mengen in fast allen Geweben nachweisen. In pathologischen Fällen wurde im Fieber, bei akuten Krankheiten (Typhus, Pneumonie), eine Vermehrung, in der Rekonvaleszenz bei akuten Krankheiten, bei Schwächezuständen eine Verminderung konstatiert. Die Ausscheidung des Kreatinins läuft mit der des Harnstoffes parallel.

Darstellung, zugleich quantitativer Nachweis.

Zur quantitativen Bestimmung bedient man sich der Schwerlöslichkeit des Kreatininchlorzinks in Alkohol.

Zu bemerken ist, dass der Harn frei von Eiweiss und Zucker sein muss; ersteres wird durch Aufkochen, letzteres durch Vergären mit Hefe entfernt (man lässt 24 Stunden bei 30—35° C. vergären).

1. Verfahren nach Neubauer¹⁾-Salkowski.²⁾

480 ccm Harn werden in einem Messcylinder von 1 Liter Inhalt mit Kalkmilch bis zur alkalischen Reaktion versetzt und dann genau mit Chlorcalcium ausgefällt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man füllt auf 600 ccm auf, schüttelt durch und filtriert nach 15 Minuten. Vom schwach alkalisch reagierenden Filtrate werden 500 ccm — wenn starke alkalische Reaktion vorhanden sein sollte, giebt man vorsichtig zu den 500 ccm des Filtrates Salzsäure, bis schwach alkalische Reaktion erzielt ist — auf etwa 40 ccm durch Eindampfen auf dem Wasserbade konzentriert und mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols vermischt. Die Mischung giesst man in einen Messcylinder, spült mit Alkohol nach und füllt mit Alkohol auf 200 ccm auf. Man schüttelt gut um, lässt erkalten, füllt bis auf 200 ccm auf und lässt 12 Stunden stehen. Dann filtriert man durch ein trockenes Filter und versetzt in einem Becherglase 160 ccm mit 1—2 ccm einer alkoholischen absolut säurefreien Chlorzinklösung (— sirupdicke Chlorzinklösung wird in ziemlich starkem Weingeist gelöst, bis zur Dichte von 1,20 verdünnt und filtriert —), rührt längere Zeit stark um zur Beschleunigung der Ausscheidung

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 1861. 119. 33.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1886. 10. 113.

und lässt dann 3—4 Tage mit Uhrglas bedeckt in der Kälte stehen. Die nach dieser Zeit abgeschiedenen Krystalle bringt man auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter und benutzt zum Auswaschen immer wieder die abfiltrierte Flüssigkeit. Ist alles Chlorzink-Kreatinin auf das Filter gebracht, so wäscht man, wenn die Mutterlauge abgelaufen ist, mit kleinen Mengen Alkohol nach, bis alles Chlor ausgewaschen ist. Das Filter mit dem Niederschlag wird bei 100° getrocknet und dann gewogen.

Kreatininchlorzink $\cdot 0,6244 =$ Kreatinin.

Den Niederschlag prüft man noch mikroskopisch nach dem Befeuchten mit Alkohol auf eventuellen Chlornatriumgehalt (Würfel), das allerdings nicht vorhanden sein soll. Ist letzteres vorhanden, so muss man den Zinkgehalt des Niederschlages bestimmen und aus diesem den Gehalt an Kreatinin berechnen. Man trocknet den Rückstand mit Salpetersäure ein, glüht ihn, behandelt mit Wasser zur Lösung des Chlornatriums und sammelt das Zinkoxyd auf einem Filter; nach dem Glühen wird dasselbe gewogen.

Zinkoxyd $\cdot 0,224 =$ Kreatininchlorzink.

2. Bestimmung nach R. Kolisch.¹⁾

200 ccm Harn werden mit soviel Kalkmilch und Chlorkalcium, dass das Gesamtvolumen 220 ccm beträgt, ausgefällt. Man filtriert, säuert 200 ccm des Filtrates mit Essigsäure an, dampft bis zum Sirup ein und zieht den Rückstand heiss 4—5mal mit Alkohol aus. Die alkoholische Lösung bringt man in ein Kölbchen, das die Marken 100 und 110 ccm trägt, füllt bis 110 ccm auf und filtriert. Zu 100 ccm des Filtrates setzt man eine Lösung von 30 g Sublimat, 1,0 essigsaurem Natron und 3 Tropfen Eisessig in 125 ccm absolutem Alkohol solange hinzu, als noch Fällung eintritt. Den entstandenen Niederschlag filtriert man, wäscht ihn mit absolutem Alkohol, dem etwas Natriumacetat und Essigsäure zugesetzt sind, gut aus, bis das Filtrat beim Neutralisieren keine Trübung (von Harnstoffquecksilber) mehr zeigt und

¹⁾ Centrbl. innere Medic. 1895. Nr. 11; Zeitschr. analyt. Chem. 1896. 35. 483.

oxydiert Filter mit Rückstand in der S. 92 angegebenen Weise, worauf man nach Kjeldahl den Stickstoffgehalt bestimmt und aus diesem den Gehalt an Kreatinin berechnet. Der stattgehabten Verdünnung ist Rechnung zu tragen.

$$100 \text{ Teile Kreatinin} = 37,1 \text{ Stickstoff.}$$

Eigenschaften.

Das Kreatinin krystallisiert in farblosen Prismen, die sich in 12 Teilen kalten Wassers und in 102 Teilen absoluten Alkohols lösen. Das Kreatinin ist die stärkste im Tierorganismus normal vorkommende Base; es treibt Ammoniak aus seinen Salzen, vereinigt sich mit Säuren zu wohl charakterisierten Salzen und liefert mit Platinchlorid und Chlorzink Doppelsalze. Das letztere zur Erkennung und Bestimmung dienend, krystallisiert in feinen Nadeln, die konzentrisch gruppierte Rosetten bilden



Fig. 23.

Kreatininchlorzink.

Nach Ultzmann, Hoffmann.

oder Büschel, die sich kreuzen; auch haben die Krystalle manchmal das Aussehen von ineinander übergehenden Pinseln (Fig. 23). Silbernitrat scheidet einen aus feinen Nadeln bestehenden Niederschlag aus, Phosphorwolframsäure etc. erzeugen Fällungen. In Berührung mit Basen geht das Kreatinin in Kreatin über.

Qualitativer Nachweis.

1. Man löst einen Krystall der Chlorzinkverbindung in wenig heissem Wasser, lässt auf dem Objektträger verdunsten und betrachtet die Krystalle unter dem Mikroskope (Fig. 23).
2. Versetzt man eine Kreatininlösung oder Harn mit einigen Tropfen frisch bereiteter, sehr verdünnter Nitroprussidnatriumlösung und verdünnter Natronlauge, so färbt sich die Flüssigkeit rubinrot und geht allmählich in strohgelb über. Säuert man die gelb gewordene Flüssigkeit stark mit Essigsäure (Eisessig) an und erhitzt, so nimmt dieselbe zunächst eine grüne, dann

blaue Färbung an; bei längerem Stehen bildet sich ein blauer Niederschlag. (Reaktion Weil-Salkowsky) (Unterschied von Acetessigsäure.)

3. Fügt man zu einer Lösung oder zu Harn etwas wässrige Pikrinsäurelösung und einige Tropfen Natronlauge, so färbt sich die Lösung oder der Harn sofort intensiv rot (Jaffé). (Aceton zeigt nur rötlichgelbe, Kreatin eine gelbe, erst später in Rot übergehende Färbung.)

Um aus dem Kreatinin-Chlorzink reines Kreatinin darzustellen, löst man dasselbe in kochendem Wasser, zersetzt es durch Kochen mit fein vertheiltem Bleioxydhydrat und entfärbt das Filtrat mit wenig Tierkohle. Beim Verdunsten bleibt das Kreatinin gemischt mit etwas Kreatin zurück, von dem es durch Ausziehen mit heissem absolutem Alkohol, in welchem Kreatin unlöslich ist, getrennt werden kann.

Wahl der Methode.

Zum qualitativen Nachweis im Harn direkt wendet man Methode 2, auch 3 an, für die quantitative Bestimmung eine der genannten Methoden.

13. Oxalsäure. $C_2H_2O_4$ oder $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{COOH} \end{array}$

Auch die Oxalsäure ist ein nie fehlender Bestandteil des Harns Gesunder, wenngleich nur geringe Mengen derselben nachzuweisen sind (bis 0,02 g in 24 Stunden). In Form des oxalsauren Kalkes findet sich dieselbe im Sedimente des alkalischen, häufig auch in dem des sauren Harnes, dann in den Harnsteinen.

Was die Ursache des Auftretens von Oxalsäure und oxalsaurem Kalk betrifft, so ist dieses in erster Linie abhängig von den dem Organismus zugeführten Speisen, von denen eine grosse Reihe Oxalsäure oder oxalsauren Kalk fertig gebildet enthalten, welche ganz oder zum Teil als Kalkoxalat ausgeschieden werden. Solche Speisen sind Endivien, Tomaten, grüne Bohnen, Spargel, Kohl, Trauben, Äpfel, Honig etc., auch oxalsäurehaltige Arzneimittel, wie Oxalsäure selbst, dann Rheum, Scilla, Senna, Baldrian etc. erzeugen reichlicheres Auftreten von oxalsaurem Kalk im Harn. Ein anderer Teil der Oxalsäure wird erst im Körper aus Eiweiss oder aus Kohlehydraten gebildet, wobei dieselben zum Teil in Oxalate übergehen, statt sich vollkommen in Karbonate umzuwandeln; so wird nach

dem Genusse von kohlenensäurereichen Getränken (Champagner, Selterswasser), nach übermässigem Zuckergenuss ein reichlicheres Auftreten von Oxalsäure — oxalsaurem Kalk — beobachtet.

In pathologischen Fällen tritt eine vermehrte Ausscheidung des oxalsauren Kalkes öfters ein, so besonders bei der Verlangsamung des Stoffwechsels in einer bestimmten Richtung, bei Störungen der Verdauungsorgane, bei nervösen Störungen, bei Ikterus. Vollkommen sicher gestellt ist eine vermehrte Oxalsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, indem hier die stickstofffreien Substanzen sowohl unverbrannt als Zucker und unvollkommen oxydiert als Oxalsäure in den Harn übergehen können. Diese vermehrte Ausscheidung bezeichnet man als „Oxalurie“, wenngleich man diese Ausscheidung wohl nicht als eine selbständige, sondern nur als eine begleitende Krankheitserscheinung einer andern Krankheit aufzufassen haben wird.

Eine lange andauernde Ausscheidung des Kalkoxalates kann auch in den Störungen des Harnapparates und in Störungen der übrigen Systeme zu suchen sein, und kann die übermässige Produktion zur Bildung von Harnkonkretionen führen; auch in den sogenannten Nierensteinen ist diese Säure häufig enthalten.

Im Harnsedimente (s. d.) ist oxalsaurer Kalk ein häufiger Bestandteil, und kann sich sogar im normalen Harn bei geringem Säuregrad desselben etwas Kalkoxalat beim Stehen ausscheiden; auch ein nach Genuss der oben erwähnten Stoffe auftretender reichlicher Gehalt an diesen Krystallen ist ohne Bedeutung.

Darstellung und quantitativer Nachweis.

1. Man versetzt nach Neubauer¹⁾ 500 ccm Harn mit Chlorcalciumlösung (1:10), macht mit Ammoniak alkalisch, filtriert und behandelt den Niederschlag mit Essigsäure unter Vermeidung eines zu grossen Überschusses. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag, der stets auch Harnsäure enthält, abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen, worauf man denselben auf dem Filter in wenig Salzsäure löst (hierbei bleibt die Harnsäure zurück), mit wenig Wasser nachwäscht

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 8. 521.

und das Filtrat mit Ammoniak übersättigt. Man lässt den Niederschlag von Kalkoxalat absetzen, sammelt ihn nach 12 Stunden auf einem kleinen aschefreien Filter, trocknet und glüht im Platintiegel über dem Gebläse. Nach dem Erkalten wird gewogen. Das gefundene CaO mit 1,6071 multipliziert ergibt die vorhandene Menge Oxalsäure.

Beurteilung.

Nach Fürbringer bleibt bei Befolgung der angeführten Methode Calciumoxalat in Lösung und kann der Ausfall bis 25% betragen. Nach dem von Schultzen angegebenen folgenden Verfahren wird die Oxalsäure jedoch vollkommen abgeschieden.

2. Verfahren nach Schultzen.

Erforderliche Lösungen:

1. Kaliumpermanganatlösung 1:1000.
2. $\frac{1}{10}$ -Oxalsäurelösung (S. 27).
3. Schwefelsäure 1:4.

Titerstellung.

10 ccm der Oxalsäurelösung werden im Becherglas oder Erlenmeyerkolben mit Wasser verdünnt, 5—10 ccm der Schwefelsäure hinzugegeben, erhitzt und nun mit der Kaliumpermanganatlösung versetzt, bis eine schwach rosenrote Färbung entsteht.

Die verbrauchten Kubikcentimeter Permanganatlösung entsprechen dann der in den angewendeten 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Oxalsäurelösung vorhandenen Menge Oxalsäure, also 0,063. Man braucht daher nur mit den verbrauchten Kubikcentimetern Permanganatlösung in 0,063 zu dividieren, um die Menge Oxalsäure zu erfahren, der 1 ccm der Permanganatlösung entspricht.

Ausführung.

Man versetzt den mit Ammoniak alkalisch gemachten Harn ebenfalls mit Chlorcalcium im Überschusse, verdampft aber auf ein kleines Volumen. Man setzt starken Weingeist hinzu und filtriert nach 12stündigem Stehen den aus schwefelsaurem, harnsaurem, phosphorsaurem und oxalsaurem Kalk bestehenden Niederschlag ab; man wäscht denselben mit Weingeist, dann etwas Äther aus, behandelt ihn auf dem Filter zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Essigsäure, spritzt den auf dem Filter befindlichen Niederschlag von oxalsaurem Kalk in ein Becherglas, zersetzt mit der Schwefelsäure und titriert die frei gemachte Oxalsäure, wie bei der Titerstellung angegeben, mit Kaliumpermanganat bis zur Rosafärbung. Die Berechnung erfolgt gleichfalls in der angegebenen Weise.

Eigenschaften der Oxalsäure.

Dieselbe krystallisiert mit 2 Mol. Krystallwasser in monoklinen Säulen, ist löslich in Wasser und Alkohol, lässt sich bei langsamen Erhitzen ohne Zersetzung auf 150° erhitzen, zerfällt aber, rasch und stärker erhitzt, in Kohlensäure, Kohlenoxyd und Wasser. Das charakteristische Salz, das Kalksalz, krystallisiert in zwei verschiedenen Krystallsystemen (monoklin und tetragonal) je nach der Darstellung. Beim langsamen Ausscheiden aus Lösungen (Harn) bestehen die Krystalle aus zierlichen, glänzenden und das Licht stark brechenden Quadratoktoedern, die mit Briefkouverten Ähnlichkeit haben. (S. Sedimente.)



Auch die Bernsteinsäure, Aethylendicarbonsäure, soll ein normaler Bestandteil des Harnes sein. Innerlich genommen geht dieselbe unverändert in den Harn über. Die in den gegorenen Getränken in geringen Mengen vorkommende Bernsteinsäure dürfte die Ursache für das Vorkommen dieser Säure im Harn bilden; nach reichlichem Spargelgenuss wurden grosse Mengen von Bernsteinsäure neben Ammoniak (aus dem Asparagin stammend) im Harn vorgefunden.

Darstellung.

Man gewinnt die Bernsteinsäure aus dem Harn, indem man denselben mit Baryt fällt, den Überschuss von Baryt durch Schwefelsäure entfernt und dann eindampft. Die konzentrierte Lösung wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Äther mehrmals ausgeschüttelt. Den Ätherrückstand reinigt man mit Salpetersäure, welche die Bernsteinsäure nicht angreift; der mit Wasser verdünnte braune Ätherextrakt wird zum Kochen erhitzt und während des Siedens tropfenweise so lange reine Salpetersäure hinzugesetzt, bis die Flüssigkeit nur noch gelb gefärbt ist. Aus der durch Eindampfen konzentrierten Lösung krystallisiert die Bernsteinsäure leicht aus.

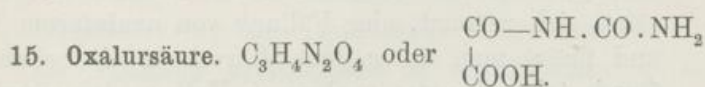
Nachweis.

1. Erhitzt man die reine Säure oder das Natronsalz mit saurem schwefelsaurem Kali im Reagenscylinder, so sublimiert die Bernsteinsäure in weissen, zum Husten reizenden Dämpfen.

2. Eisenchlorid bewirkt in Lösungen blassrote Niederschläge; neutrales essigsaures Blei erzeugt einen weissen in überschüssiger Bernsteinsäure, Essigsäure und neutralem Bleiacetat löslichen Niederschlag.

Eigenschaften.

Bildet farblose, monokline Prismen, bei 180° schmelzend. In kaltem Wasser, heissem Alkohol ist sie löslich, wenig löslich in Äther; doch wird die Bernsteinsäure von Äther aus wässerigen Lösungen aufgenommen.



Kommt als Oxydationsprodukt der Harnsäure in minimalen Mengen als oxalursaures Ammon im Harn vor und ist als Oxalsäure aufzufassen, in welcher die eine Hydroxylgruppe durch den Harnstoffrest ersetzt ist; unter Einwirkung von Säuren zerfällt sie leicht in Oxalsäure und Harnstoff.

Darstellung.

Man filtrirt 20—50 Liter Harn durch eine relativ kleine Menge Tierkohle, die sich in einer pipettenartig geformten Glasröhre von ca. 300 ccm Inhalt befindet, und zwar regelt man die Filtration so, dass in 24 Stunden etwa 20 Liter Harn durch die Kohle filtrieren. Die Tierkohle, die zum Sammeln von organisierten Stoffen (Schleim, Epithelien) mit etwas Watte bedeckt wird, die man hier und da erneuert, nimmt oxalursaures Ammon auf. Die Kohle, die man auch ab und zu durch neue ersetzt, wird mit destilliertem Wasser bis zur vollständigen Entfernung der Salzsäure und Phosphorsäure gewaschen, getrocknet und dann mit Alkohol ausgekocht. Den Verdampfungsrückstand nimmt man mit heissem Wasser auf, filtrirt und konzentriert die Lösung, worauf sich in der Kälte oxalursaures Ammon krystallinisch ausscheidet; den krystallinischen Rückstand reinigt man durch mehrmaliges Waschen mit Alkohol und Umkrystallisieren aus der wässerigen Lösung.

Qualitativer Nachweis.

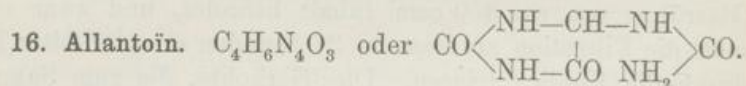
1. Charakteristisch ist das Ammonsalz, das in seiden-glänzenden, langen, an den Enden zugespitzten Pris-

men, in schönen Doppelbüscheln oder Rosetten angeordnet, krystallisiert, ferner das oxalursaure Silber, aus zierlichen, haarfeinen Nadeln zusammengesetzten Sternen und Rosetten bestehend und das oxalursaure Blei, aus wohl ausgebildeten, vierseitigen Prismen mit sechs Endflächen.

2. Beim Vermischen einer verdünnten wässerigen Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak entsteht erst nach dem Erwärmen der Mischung, wobei die Oxalursäure in Harnstoff und Oxalsäure sich zersetzt, eine Fällung von oxalsaurem Kalk und findet man unter dem Mikroskope die bekannten Quadratoktoeder des oxalsauren Kalkes, der allerdings nur aus verdünnten Lösungen schön krystallisiert erhalten wird. Aus konz. Lösungen scheidet sich oxalsaurer Kalk amorph aus.

Eigenschaften.

Die freie Oxalursäure ist ein weisses Krystallpulver, in Wasser schwer löslich; charakteristisch sind die angegebenen Salze. Beim Kochen mit Wasser, verdünnten Säuren oder Alkalien zerfällt sie in Harnstoff und Oxalsäure.



Allantoin, das Diurëid der Glyoxalsäure, ein Oxydationsprodukt der Harnsäure, findet sich im Harne noch säugender Kälber, im menschlichen Harne nach dem Genusse grosser Mengen Gerbsäure, im leukämischen Blute, in der Allantoisflüssigkeit der Kühe, im Harne der neugeborenen Kinder, im Harne von Schwangeren, im Kindswasser. Im normalen menschlichen Harne soll es in geringen Mengen vorkommen, reichlicher im Harne der Schwangeren.

Darstellung.

Der Harn wird nach Meissner¹⁾ mit Barytwasser ausgefällt, aus dem Filtrate durch Schwefelsäure der überschüssige Baryt entfernt (ja kein Überschuss von Schwefelsäure!) und das

¹⁾ Zeitschr. rat. Med. [3] 31. 304.

alkalische Filtrat so lange mit einer Quecksilberchloridlösung versetzt, bis kein Niederschlag (*A*) mehr entsteht, dann abfiltriert. Das sauer gewordene Filtrat wird mit Kali oder Natronlauge genau neutralisiert und dann abwechselnd mit Quecksilberchlorid und Alkali versetzt, bis bei neutraler Reaktion kein Niederschlag (*B*) mehr entsteht. (Die Flüssigkeit darf nicht alkalisch werden.) Die beiden Niederschläge (*A* und *B*) werden in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, heiss filtriert und eingedampft; aus dem eingedampften Filtrate scheidet sich das Allantoin krystallisiert aus.

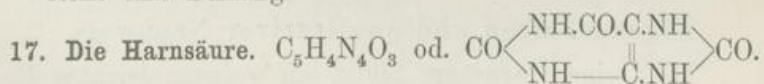
Eigenschaften und qualitativer Nachweis

Das Allantoin krystallisiert in wasserhellen, in kaltem Wasser wenig löslichen glänzenden Prismen, in unreinem Zustande in Warzen und Körnern; es verbindet sich mit Säuren und Basen zu Salzen, von denen namentlich die mit Quecksilberoxyd und Silberoxyd wichtig sind.

Das Allantoin giebt wie der Harnstoff die Schiff'sche Furfurolreaktion, dagegen nicht die Murexidprobe.

Nachweis.

1. Ein Teil der Lösung wird mit salpetersaurem Silber und dann sehr vorsichtig mit Ammoniak versetzt; bei Anwesenheit von Allantoin entsteht ein weisser glitzernder, oder flockiger, aus kleinen mikroskopischen Tröpfchen bestehender Niederschlag.
2. Mit einigen Kryställchen stellt man die Schiff'sche Reaktion an (S. 91).
3. Auch durch salpetersaures Quecksilberoxyd entsteht eine Fällung.



Die Harnsäure ist nach dem Harnstoff der wichtigste stickstoffhaltige, regelmässige Bestandteil des Harnes, der sich auch in verschiedenen anderen Organen (Lunge, Milz, Leber, Blut etc.) vorfindet. Im Harn der Vögel, Reptilien nimmt die Harnsäure diejenige Stelle ein, wie der Harnstoff im Harn der Säugetiere; sie ist hier das Endprodukt des Stoffwechsels.

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt von der Menge der zu-

geführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen verläuft die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffs, und ist das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff im Durchschnitt 1:45; nach Salkowski ist 1:40 die Grenze des Normalen. Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden nur bei Leukämie und akuten, kritisch endenden Krankheiten. Die Ansicht, dass im Fieber die Harnsäure zunimmt, scheint widerlegt zu sein; ebenso haben neuere Untersuchungen festgestellt, dass im Harne von Gichtleidenden weder eine Vermehrung noch Verminderung der Harnsäure eintritt. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natron) wird eine Vermehrung beobachtet. Vermindert wird die Harnsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, nach Genuss verschiedener Medikamente, wie Chinin, Koffein, Antipyrin, Eisen, Blei. Nach den bis jetzt gemachten Beobachtungen scheint die Harnsäurebildung durch die Milz betätigt zu werden und zwar aus den Nucleinen, so dass diese als Muttersubstanz der Xanthinbasen und der Harnsäure zu betrachten sind.

Darstellung.

Man gewinnt die Harnsäure am besten nach der beim quantitativen Nachweise angegebenen Methode von Salkowski-Ludwig.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die reine Harnsäure bildet ein weisses, leichtes Pulver, aus rhombischen, durchsichtigen Täfelchen bestehend; aus sauerem Harne, ebenso beim Stehenlassen von Harn mit Säuren krystallisiert sie in verschiedenen, stets gelbgefärbten Formen aus (Fig. 24). Die Grundform ist die Wetzsteinform, rhombisches Vertikalprisma; gewöhnlich findet man unter dem Mikroskope grosse Doppelwetzsteine in Kreuzform, ferner viele mit einander verwachsene, dünnere und längere Wetzsteinformen und Nadeln; häufig findet sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne und die Hantelform (Fig. 24).

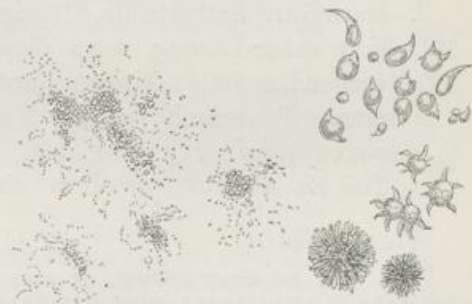
Die Harnsäure ist ausserordentlich schwer löslich in Wasser; im Harne wird sie durch das Dinatriumphosphat in das leicht lösliche Dinatriumurat umgewandelt; als zweibasische Säure bildet sie neutrale und saure Salze; erstere sind in Wasser leicht, letztere schwer löslich. Im normalen Harne ist die Harnsäure stets an Basen gebunden (Natrium, Ammonium) in Form der beiden Salze (neutrale und saure). Unlöslich ist die Harnsäure ferner in kaltem und heissem Alkohol, auch in Äther; reichlicher löst sie sich in Glycerin und in Salzlösungen (Borax, Kohlensäure, phosphorsaure und essigsaure Alkalien, Lithiumsalze).



Fig. 24. Harnsäure in verschiedenen Formen.

Aus sauerem Harne sondern sich beim Stehen gerne saure harnsaure Sedimente ab; ja bei der sauren Gärung fällt sogar Harnsäure aus. Saures

harnsaures Kali oder Natron finden sich bei rheumatischen und katarrhalischen Affektionen, bei Fiebern, überhaupt in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen, in Sedimenten, die gewöhnlich durch das Uroerythrin noch ziegelrot gefärbt erscheinen, manchmal auch als gelbes, selten weisses Sediment und bilden unter dem Mikroskope moosförmig gruppierte, kleine amorphe Körnchen, bisweilen auch Kugeln und Biskuitformen (Fig. 25.)



Harnsaures Natron.

Harnsaures Ammon.

Fig. 25.

Die aus den harnsauren Salzen bestehenden Sedimente lösen sich beim schwachen Erwärmen leicht, fallen aber beim Erkalten wieder aus. Das saure harnsaure Ammon findet sich im Sediment von alkalischem Harn in Form gelb gefärbter kugelig, auch mit Stacheln besetzter Massen; dieses Salz kommt in Phosphatsteinen und Blasenkonkrementen vor (Fig. 25).

Der Nachweis der Harnsäure ist ein leichter und sehr charakteristischer.

1. Befeuchtet man eine Spur von Harnsäure oder von einer Harnsäure enthaltenden Salzmasse mit etwas Salpetersäure oder Chlorwasser und lässt — am besten in einem kleinen flachen Porzellanschälchen — auf dem Wasserbade eintrocknen, so bleibt meistens schon ein rotgefärbter Rückstand, der auf Zusatz von wenig Ammoniak — man bläst am besten Ammoniakdämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, welche auf Zusatz von Natron oder Kalilauge in violett umschlägt. Beim Erwärmen verschwindet die violette Farbe rasch — Unterschied von Xanthinkörpern. Der purpurfarbene Körper ist Murexid oder purpursaures Ammonium, der durch Kalilauge erzeugte Körper ist purpursaures Kali.
2. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehling'scher Lösung, wenn dieselbe nicht im Überschuss vorhanden ist, weisses harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschuss von der Fehling'schen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoin oxydiert wird.

Beurteilung.

Man muss bei dieser Prüfung, da auch Zucker reduziert, vorsichtig sein; alkalische Wismutlösung wird mit Harnsäure nicht schwarz, also nicht reduziert, wie bei Anwesenheit von Zucker.

Auch die Schiff'sche Probe (man benetzt einen Streifen Papier mit Silbernitrat und spritzt auf die feuchte Stelle verdünnte Sodalösung; betupft man das so gebildete kohlensaure Silber mit einer Lösung von Harnsäure oder harnsaurem Natron, so entsteht ein schwarzer Fleck) ist mit Vorsicht aufzunehmen, da diese Reaktionen durch eine Reihe anderer Stoffe auch hervorgebracht werden können.

3. Prüfung unter dem Mikroskop (Fig. 24).

Die quantitative Bestimmung der Harnsäure. Bedingungen.

Eiweisshaltiger Harn muss erst von diesem befreit werden. S. S. 20.

Von sehr verdünntem Harn verwendet man 400 ccm und dampft denselben auf die Hälfte ein; von Harn mit einem spez. Gew. von 1,020 genügen 200 ccm, von noch konzentrierterem 100 ccm. Hat sich im Harn, worauf vom Beginne jeder Bestimmung besonders zu achten ist, ein Harnsäure enthaltendes Sediment abgesetzt, so ist dieses durch Einstellen der Flasche etc. in heisses Wasser wieder in Lösung zu bringen; nach dem Abkühlen des Harnes auf die gewöhnliche Temperatur misst man erst ab.

1. Methode nach Heintz-Schwanert.¹⁾

200 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 5 ccm verdünnter Salzsäure versetzt, mit einem Glasstabe umgerührt, 36—48 Stunden an einem kühlen Ort stehen gelassen und die ausgeschiedenen Krystalle auf einem bei 100° getrockneten und gewogenen Filter gesammelt; nach Auswaschen mit kaltem Wasser — man soll möglichst wenig Wasser verwenden — bis zur Entfernung der Salzsäure wird das Filter mit Inhalt getrocknet und gewogen. Für je 100 ccm Filtrat und Waschwasser müssen 0,0048 g Harnsäure der gefundenen zugezählt werden, da diese Menge nach den gemachten Versuchen in Wasser gelöst bleibt.

Beurteilung.

Diese Methode liefert, wie schon aus dem Verfahren zu ersehen ist, keine sicheren Resultate, da die Ausscheidung der Harnsäure keine vollständige ist, und die Menge der gelöst bleibenden Harnsäure je nach der Beschaffenheit (Konzentration) des Harnes wechselt.

An Stelle der Papierfilter kann man für das Sammeln der Harnsäure, wie anderer grobkörniger und flockiger Niederschläge das Glaswollfilter (Fig. 26) von E. Ludwig verwenden; man füllt das konische Ende bis gegen die verengte Stelle mit einem Bausch feinster Glaswolle oder mit gereinigtem Asbest genügend dicht gestopft; man spült das Filter mit Wasser durch, dann mit Alkohol und Äther und trocknet bei 110°. Die Niederschläge können unter Anwendung der Saugpumpe gesammelt und gewaschen werden; dieselben trocknen viel leichter, wie diejenigen auf den Filtern und dann können auch hygroskopische Substanzen im Glaswollfilter gewogen werden, da dasselbe mit einem eingeschliffenen Glasstopfen fest verschlossen werden kann. Die Glaswollfilter sind sehr zu empfehlen, zumal auch Papierfilter in denselben getrocknet werden können. Feine Niederschläge werden jedoch nicht vollständig zurückgehalten.



Fig. 26.

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 130. 179.

2. Methode von Salkowski-Ludwig.¹⁾

Prinzip.

Es wird die Harnsäure als Silbermagnesiumsalz ausgefällt und die aus der Silberfällung freigemachte Säure gewogen.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung.

Man löst 26 g Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser, giebt Ammoniak hinzu, bis der entstehende Niederschlag wieder gelöst wird und füllt mit Wasser bis zur Marke auf.

2. Magnesiamischung.

100 g krystallisiertes Chlormagnesium löst man in einem Literkolben in der genügenden Menge Wasser, setzt Ammoniak hinzu, dass die Mischung stark darnach riecht, und dann soviel kalt gesättigte Chlorammoniumlösung, bis der entstandene Niederschlag von Magnesiahydrat wieder gelöst wird; man füllt endlich bis zur Marke auf.

3. Schwefelalkalilösung.

15 g Ätzkali oder 10 g Ätznatron, welche frei von Salpetersäure und salpetriger Säure sein müssen, werden in 1 l Wasser gelöst. Von der gut umgeschüttelten Lösung wird die Hälfte mit Schwefelwasserstoff gesättigt, dann mit der anderen Hälfte vereinigt.

Ausführung.

Zu 200 ccm Harn giesst man unter Umrühren 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, welche vorher in einem Becherglase gemischt und mit soviel Ammoniak versetzt waren, dass das ausgeschiedene Chlorsilber sich wieder löste, und lässt $\frac{1}{2}$ —1 Stunde ruhig stehen. Dann wird der die Harnsäure enthaltende Niederschlag mit Hilfe eines Saugfilters abfiltriert, wobei der der Becherglaswandung anhaftende Niederschlag nicht auf das Filter gebracht zu werden braucht, 2—3mal mit ammoniakhaltigem Wasser gewaschen und der Filtrückstand mit Hilfe der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurückgebracht, wobei man das Filter nicht verletzen darf. Nun werden 10 ccm der Schwefelalkalilösung mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, zum Sieden erhitzt und diese Lösung durch das bereits benützte Filter in das Becherglas mit dem Niederschlag filtriert. Man wäscht mit heissem Wasser nach, erwärmt dann das Becherglas mit Inhalt auf dem Wasserbade — zu langes und starkes Erhitzen ist zu vermeiden, da die Harnsäure in alkalischer Lösung bei Zutritt von Luft teilweise zu Uroxansäure oxydiert wird — und filtriert nach dem Erkalten durch das gleiche Filter in eine

¹⁾ Wien. med. Jahrb. 1884. 597.

Krystallisierschale; das Filter wäscht man mit Wasser nach, säuert das Natriumurat enthaltende Filtrat mit etwas Salzsäure an, dampft auf etwa 15 ccm ein und lässt nach weiterem Zusatze einiger Tropfen Salzsäure 12—24 Stunden stehen. Die dann auskrystallisierte Harnsäure wird auf einem gewogenen Filter (Glaswollfilter) gesammelt, mit Wasser, dann Alkohol, Äther und Schwefelkohlenstoff (um noch vorhandenen Schwefel zu entfernen) und wieder mit Äther gewaschen und bei 100° getrocknet. Nach dem Erkalten wird gewogen. Das stark salzsaure Filtrat enthält die in Salzsäure löslichen Xanthinkörper; dampft man das Filtrat mit Magnesia bis zur Vertreibung alles vorhandenen Ammoniaks ein und ermittelt nach der von Kjeldahl angegebenen Methode (S. 92) im Rückstand den Stickstoffgehalt, so lässt sich aus diesem der Gehalt der Alloxurkörper (Xanthin) berechnen. (Malfatti.¹⁾)

Ist die Harnsäure stark gefärbt oder scheidet sich noch Schwefelsilber ab, so löst man sie in heissem Wasser unter Zusatz von reiner Kali- oder Natronlauge, filtriert, wäscht aus, säuert das Filtrat mit Salzsäure an, dampft auf ein kleines Volumen ein und lässt die Harnsäure abscheiden, die, wie angegeben, gesammelt wird.

Beurteilung.

Dieses Verfahren giebt von allen bestehenden noch die sichersten Resultate.

3. Die Methode von Fokker, der die Schwerlöslichkeit des harnsauren Ammons zur Bestimmung der Harnsäure benutzt, ist umständlicher als 1. und weniger genau als 2.

4. Titrimetrische Methode von Haykraft.²⁾

Prinzip.

Reine Harnsäure wird in Gegenwart von Magnesiasalz durch ammoniakalische Silberlösung gefällt — auf 1 Mol. Harnsäure 1 At. Silber. In der salpetersauren Lösung des Niederschlages wird das Silber mit Rhodanmon zurücktitriert und aus der gefundenen Silbermenge die Harnsäuremenge berechnet.

Ausführung in der von Herrmann³⁾ modifizierten Form.

50 ccm Harn versetzt man mit je 5 ccm der bei der Methode 2 beschriebenen Magnesiamischung und Silberlösung,

¹⁾ Centrbl. innere Med. 18. 1—6.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 25. 165.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1888. 12. 496.

filtriert nach dem Absetzen des Niederschlages erst die Flüssigkeit durch das Filter, verteilt dann 4 g doppeltkohlensaures Natron in groben Stücken auf der Filterfläche und bringt den Niederschlag quantitativ auf dasselbe. Dann wird der Filterrückstand gut mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen, bis derselbe chlor- und silberfrei ist, und der Niederschlag auf dem Filter durch Übergießen mit 20—30 % Salpetersäure gelöst. Man wäscht mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrate vom gelösten Filterrückstande die Menge des Silbers in der S. 44 angegebenen Weise nach der Volhard'schen Methode. Nur titriert man hier mit $\frac{1}{50}$ oder $\frac{1}{100}$ Normalrhodanammonium, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

1 ccm $\frac{1}{50}$ -Normalrhodanammon = 0,00336 Harnsäure

1 ccm $\frac{1}{100}$ - „ „ = 0,00168 Harnsäure.

Eiweiss muss entfernt werden; andere Bestandteile, Xanthin etc., schaden nicht, da deren Silberverbindungen entweder in Ammoniak löslich oder in verdünnter Salpetersäure unlöslich sind.

5. Das Verfahren von Czapek unterscheidet sich von dem Haycraft's dadurch, dass dieser das im Niederschlag enthaltene, Czapek das in Lösung gebliebene Silber titriert.

6. Titrimetrische Bestimmung der Harnsäure nach Hopkins, modifiziert von G. v. Ritter.¹⁾

Die Methode der Harnsäurebestimmung von Hopkins besteht darin, dass 20 ccm Harn mit Chlorammonium gesättigt werden; der entstandene Niederschlag von Ammonurat wird entweder durch Salzsäure zersetzt, worauf die Harnsäure gewogen wird, oder mit Ammonsulfat chlorfrei gewaschen, in Schwefelsäure gelöst und mit einer Permanganatlösung von bekanntem Titer titriert.

Ritter hat das Verfahren modifiziert. Es werden 100 ccm Harn mit Chlorammonium gesättigt, der Niederschlag mit gesättigter eisenoxydulfreier Ammonsulfatlösung gewaschen, der ausgeschiedene Niederschlag in ein Kölbchen mit Wasser gespült und vor dem Zusetzen von 20 ccm konz. Schwefelsäure erst mit chlorfreiem Natriumkarbonat gelöst. Zum Titrieren wird eine $\frac{1}{20}$ -normale Permanganatlösung (1,6:1000), die mit einer $\frac{1}{10}$ -Oxalsäure eingestellt wird (S. 115), verwendet. 1 ccm dieser

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 21. 288; Chem. Centrbl. 1896. 67. 331.

Lösung, wenn genau $\frac{1}{20}$ -normal, entspricht 0,00361 g Harnsäure.

Beurteilung und Wahl der Methode.

Die titrimetrischen Verfahren 4 und 5 sind zwar einfacher in der Ausführung und können in verhältnismässig kurzer Zeit erledigt werden, die Resultate fallen aber etwas zu hoch aus, da der Harnsäuresilbermagnesianiederschlag nach Salkowski keinen konstanten Gehalt an Silber hat; doch sind dieselben nach A. Herrmann für klinische Zwecke verwertbar. Für genaue Bestimmungen empfiehlt sich die Anwendung der 2. Methode; auch die Methode von Hopkins-Ritter (Nr. 6) soll gute brauchbare Resultate ergeben.

18. Xanthinbasen.

Im menschlichen Harne sind bis jetzt acht Xanthinbasen aufgefunden worden; diese stehen in naher Beziehung zur Harnsäure und sind gleich dieser als Produkte des regressiven Stoffwechsels, als Umwandlungsprodukte des Nucleins, im tierischen Organismus zu betrachten.

Xanthin, $C_5H_4N_4O_2$,

Heteroxanthin (Methylxanthin), $C_6H_6N_4O_2$,

Paraxanthin (Urotheobromin, Dimethylxanthin), $C_7H_8N_4O_2$,

Hypoxanthin (Sarkin), $C_5H_4N_4O$,

Episarkin, $C_4H_6N_3O$,

Adenin, $C_5H_5N_5 + 3H_2O$,

Carnin, $C_7H_8N_4O_3 + H_2O$,

Guanin, $C_5H_5N_5O$.

Die genannten Basen kommen im Harne nur in sehr geringer Menge vor; Xanthin allerdings in etwas reichlicher, vielleicht der doppelten Menge, wie die anderen, von denen in 1000 Liter Harn ungefähr je 1 g enthalten ist. Vermehrt finden sich die Xanthinbasen im Harne Nephritischer und Leukämischer, und zwar kann der Gehalt um das zehnfache gesteigert werden. Xanthin tritt auch als Bestandteil von Blasensteinen und zuweilen in Sedimenten auf.

Darstellung nach Salkowski¹⁾-Salomon.²⁾

Zur Abscheidung der Basen im Harne müssen selbstverständlich grosse Mengen Harn Verwendung finden; beabsichtigt man grössere Mengen der Basen darzustellen, so hat man mit grossen Quantitäten (100 Liter) Harn zu arbeiten. Man ver-

¹⁾ Virchow's Archiv 50. 193.

²⁾ Berl. Berichte 1883. 16. 195.

setzt den Harn zuerst mit Ammoniak im Überschusse, filtriert nach 24stündigem Stehen den entstandenen Niederschlag, der aus Phosphaten der alkalischen Erden und Guanin besteht, ab und versetzt das Filtrat mit einer Silberlösung, wozu 0,5—0,6 g Silbernitrat auf das Liter Harn genügen. Aus dem Ammoniakniederschlag isoliert man das vorhandene Guanin in der Weise, dass man den Niederschlag in Salzsäure löst, die Lösung annähernd neutralisiert und dann mit Natriumpikratlösung versetzt, worauf sich Guanin in gelben Krystallkugeln mit Seidenglanz ausscheidet. Die durch Silber gefällten Niederschläge werden durch wiederholtes Dekantieren, dann auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen, vom Wasser durch Absaugen möglichst befreit und in möglichst wenig heisser Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,1 unter Zusatz von Harnstoff zur Beseitigung der salpetrigen Säure gelöst. Das heisse nicht zu verdünnte Filtrat scheidet beim Erkalten innerhalb 12 Stunden als Silberverbindungen aus Hypoxanthin, Guanin und Adenin (*A*), während Xanthin-, Paraxanthin- und Heteroxanthinsilbernitrat in Lösung verbleiben (*B*). Die Lösung (*B*) übersättigt man mit Ammoniak, wobei Xanthin, Paraxanthin und Heteroxanthin sich in der Silberverbindung abscheiden. Nach dem Auswaschen des Niederschlages wird derselbe in Wasser suspendiert, erhitzt und dann durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die heiss filtrierte Lösung dampft man auf ein kleines Volumen (50—100 ccm) ein, versetzt mit Ammoniak und lässt 12—24 Stunden stehen, wobei die letzten Reste von Erdphosphaten sich abscheiden. Nach wiederholtem Filtrieren wird bis zur beginnenden Trübung eingedampft; nach 12stündigem Stehen haben sich Xanthin und Heteroxanthin abgeschieden. Bei der weiteren Konzentration des Filtrates scheidet sich zunächst noch etwas amorphes Xanthin und schliesslich krystallinisches Paraxanthin aus. Der Xanthin und Heteroxanthin enthaltende Niederschlag wird mit ziemlich viel ammoniakhaltigem Wasser behandelt, filtriert und mässig eingedampft; nach 24 Stunden scheiden sich blätterige Krusten von Heteroxanthin ab; die darüber stehende Flüssigkeit wird etwas weiter abgedampft, wieder stehen gelassen, bis zuletzt die ausfallende Substanz keine Reaktion gegen Natronlauge mehr giebt. Die Lösung enthält das Xanthin. Die vereinigten Ausscheidungen werden

in wenig heissem Wasser unter Zusatz von Natronlauge gelöst; nach 24 Stunden hat sich der grösste Teil des Heteroxanthins als Natriumverbindung ausgeschieden, während ein geringer Rest und Xanthin in Lösung bleiben.

Der Niederschlag der Silberausscheidung (A), Hypoxanthin, Guanin und Adenin enthaltend, wird durch Absaugen vom Wasser möglichst befreit, mit etwas Salpetersäure von 1,1 spez. Gewicht nachgewaschen, hierauf in Wasser verteilt, siedend heiss mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Flüssigkeit heiss filtriert. Das Filtrat wird eingedampft, mit Ammoniak übersättigt und längere Zeit auf dem Wasserbade digeriert; Guanin scheidet sich aus, die anderen beiden bleiben in Lösung. Den Filtrerrückstand (Schwefelsilberniederschlag) muss man noch mit verdünnter Salzsäure auswaschen, da Guanin von dem Schwefelsilber zurückgehalten wird und das Filtrat mit Ammoniak sättigen; nach einiger Zeit fällt das Guanin völlig aus. Aus dem Filtrate vom Guanin scheidet sich beim Erkalten bez. bei weiterem Verdunsten zunächst das Adenin aus; das in Lösung verbleibende Hypoxanthin fällt beim Neutralisieren derselben mit Ammoniak aus.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die Xanthinbasen lösen sich entweder nicht oder nur schwer in Wasser, verbinden sich mit Basen, Säuren und Salzen. In saurer Lösung werden alle Xanthinbasen mit Einschluss des Carnins durch Phosphorwolframsäure gefällt. Guanin und Paraxanthin geben in salzsaurer Lösung mit Pikrinsäure schwer lösliche, gelbe, krystallinische Niederschläge. Wie die Harnsäure werden alle Xanthinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt; von ihnen unterscheidet sich die Harnsäure durch die Schwerlöslichkeit in Salzsäure; beim Glühen entwickeln die Xanthinbasen den Geruch nach Blausäure oder Isonitril.

Carnin wird allein durch essigsaures Blei gefällt, die übrigen erst nach Zusatz von Ammoniak; Paraxanthin besitzt in seinen farblosen glasglänzenden, meist sechsseitigen Tafeln allein eine charakteristische Eigenschaft; die Nadeln des Adenins werden bei 53° plötzlich getrübt.

Nachweis.

1. Xanthin und seine beiden Homologen, sowie Carnin geben die Weidel'sche Reaktion. Wird nämlich ein

wenig Substanz mit einigen Tropfen Chlorwasser und Salpetersäure eingedampft, und der Rückstand unter einer Glasglocke der Einwirkung von Ammoniakdampf ausgesetzt, so färbt sich derselbe schön rosenrot (Weidel).

Beurteilung.

Diese Reaktion giebt auch die Harnsäure.

2. Das Xanthin und das Guanin (dieses weniger schön) geben die Probe mit Salpetersäure; löst man eine kleine Menge in heisser Salpetersäure und verdampft im Wasserbade zur Trockene, so hinterbleibt ein citronengelber Fleck, der sich in Natron- oder Kalilauge mit orangegelber Farbe löst; dampft man die Lösung ein, so färbt sie sich violettrot und lässt einen dunkelpurpurnen Rückstand zurück (Unterschied von Harnsäure).
3. Mit Zink und Salzsäure reduziert nimmt eine Lösung von Hypoxanthin und Adenin auf Zusatz überschüssiger Natronlauge an der Luft eine rote, dann braunrote Färbung an.

Quantitative Bestimmung der Xanthinbasen.

Der Harn muss frei sein von Eiweiss.

1. Eine abgemessene Menge Harn wird nach Hoffmeister¹⁾ abwechselnd mit soviel Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert, mit verdünnter Schwefelsäure (5:100) ausgewaschen, dann mit überschüssigem Bariumhydroxyd in der Wärme zersetzt und das Filtrat durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschuss von Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, die nun frei von Harnsäure ist, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der alle Xanthinbasen enthaltende Niederschlag gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und im Porzellantiegel verascht und geglüht. Das gewonnene Silber wird gewogen und daraus die Xanthinbasen und zwar als Xanthin be-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1881. 5. 67.

rechnet; in Verbindung mit Silber scheidet sich Xanthin als Xanthinsilberoxyd $C_5H_2Ag_2N_4O_2 \cdot H_2O$ aus.

$$2Ag : \text{Xanthin} = \text{gef. Ag} : x.$$

$$216 : 152$$

Den Silberniederschlag könnte man auch nach dem Auswaschen (vollständiges Entfernen des Ammoniaks!) nach Kjeldahl zerstören und den Gehalt an Stickstoff bestimmen.

$$100 \text{ Teile Xanthin} = 36,84 \text{ N.}$$

2. Siehe S. 125 bei der Bestimmung der Harnsäure.

3. Methode von M. Krüger und C. Wulff.¹⁾

Diese haben zur quantitativen Bestimmung der Xanthinkörper im Harn eine Methode empfohlen, die auf dem Prinzip beruht, dass durch Kupfersulfat mit Natriumbisulfit aus Harn nur Harnsäure und die Xanthinbasen gefällt werden. Man bestimmt deshalb in einem Teile des Harnes den Stickstoffgehalt der Harnsäure und der Alloxurbasen durch Füllen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit und in einem zweiten Teile den Harnsäurestickstoff allein nach der S. 124 angegebenen Methode von Salkowsky-Ludwig.

Ausführung.

100 ccm des eiweissfreien Harnes werden in einem Becherglase zum Sieden erhitzt, 10 ccm Natriumbisulfit- (in 100 ccm = 50 g Salz enthaltend) und unmittelbar darauf 10 ccm 13 % Kupfersulfatlösung hinzugegeben und nochmals zum Sieden erhitzt. Man giebt nun noch 5 ccm 10 % Chlorbariumlösung hinzu, um durch das entstandene Bariumsulfat den Niederschlag von Kupferoxydul zum schnelleren Absitzen zu bringen und die Filtration zu erleichtern. Nach 2stündigem Stehen wird der Niederschlag durch ein kleines Faltenfilter filtriert und mit ausgekochtem, auf 60° abgekühltem Wasser vollständig ausgewaschen. Das noch feuchte Filter mit Inhalt wird im Rundkolben in der S. 93 angegebenen Weise nach der Kjeldahl'schen Methode zerstört und die Stickstoffbestimmung ausgeführt. Der gefundene Stickstoff ist die Summe des Stickstoffes der Harnsäure und der Alloxurbasen.

In einem anderen Teile des Harnes wird der Harnsäurestickstoff nach der Methode Salkowsky-Ludwig bestimmt.

$$100 \text{ Teile Harnsäure} = 33,3 \text{ N.}$$

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1894. 20. 176; Chem. Ztg. Rep. 1895. 19. 4.

Der Harnsäurestickstoff von dem gefundenen Stickstoff aus Harnsäure und Alloxurbasen bestehend in Abzug gebracht, ergibt als Rest den Alloxurbasen-Stickstoff.

Nach den Versuchen der Verf. beträgt die absolute Menge des mit 100 ccm normalen Harnes ausgeschiedenen Alloxurbasen-Stickstoffes 2—6—8 mg Stickstoff, im Mittel 4,53 mg; das Verhältnis von Harnsäurestickstoff zu Xanthinbasen-Stickstoff schwankt zwischen 2,1:1—7,6:1.

Beurteilung.

B. Laquer, Huppert, Salkowski haben mit dieser Methode keine befriedigenden Resultate erhalten. H. Malfatti fand, dass das Krüger-Wulff'sche Verfahren nicht bloss für klinische Zwecke ausreichend genaue Resultate liefert. Nach Malfatti ist darauf zu achten, dass der zu untersuchende Harn nicht zu konzentriert ist und dass man für den Fall, dass das Reaktionsgemisch sehr sauer reagiert, z. B. bei Anwendung sehr saurer Bisulfittlösung, die saure Reaktion durch Zusatz von Kalilauge abstumpft; dem Waschwasser soll man etwas Bisulfittlösung zusetzen.

Wahl der Methode.

Sollte eine quantitative Bestimmung der Xanthinbasen nötig werden, so kann eine der 3 erwähnten Methoden, die alle keine absolut genauen Resultate geben, in Anwendung kommen; einfach in der Ausführung ist die Methode 1, die auch recht brauchbare Resultate liefert.

19. Glykuronsäure. $C_6H_{10}O_7$ oder $CHO(CH.OH)_4COOH$.

Die Glykuronsäure, eine Tetraoxyaldehydsäure kommt als solche im Harn nicht oder nur in Spuren vor; infolge der Einverleibung verschiedener Arzneimittel, als welche besonders Chloral, Chloroform, Phenol, Kresol, Thymol, Guajacol, Hydrochinon, Resorcin, Brenzkatechin, Orcin, Terpentinöl, Kampher, Acetanilid, Kairin, Morphin etc. zu nennen sind, ferner infolge der Entstehung gewisser aromatischer Körper durch Fäulnis im Darmkanal (Phenole, Indol) können im Harn Produkte auftreten, welche als äther- oder glycosidartige Verbindungen verschiedener fester Alkohole und Phenole mit der Glykuronsäure aufzufassen sind — gepaarte Glykuronsäuren — und welche Verbindungen bei der Behandlung mit verdünnten Säuren unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glykuronsäure und die zugehörigen Alkohole gespalten werden.

So werden von den am häufigsten vorkommenden und bekannten gepaarten Glykuronsäuren die Camphoglukuronsäure (nach Genuss von Camphor) in Champhaol und Glykuronsäure, die Urochloralsäure (nach Einnehmen von Chloral),

in Trichloräthylalkohol und Glykuronsäure zersetzt; die Phenolglykuronsäure erscheint nach Phenoleinnahme neben Phenylschwefelsäure im Harn, ebenso wie nach Thymoleingabe Thymolschwefelsäure neben Thymolglykuronsäure entsteht. Terpentinöl giebt Terpenglykuronsäure. Die gepaarten Glykuronsäuren, die im normalen Harn zunächst vorhanden sein können, sind die Indoxyl-, Skatoxyl- und Phenolglykuronsäure.

Was von besonderer Wichtigkeit ist und bei verschiedenen Reaktionen (Zuckernachweis) sehr ins Gewicht fallen kann, ist die bei allen bis jetzt bekannten gepaarten Glykuronsäuren beobachtete Eigenschaft, die Ebene des polarisierten Lichtes nach links zu drehen; die aus diesen Verbindungen, soweit die Darstellung geglückt ist, gewonnene freie Glykuronsäure besitzt rechtsseitige Drehung; auch der linksdrehende Harn wird rechtsdrehend, wenn man den Harn mit verdünnter Säure (Schwefelsäure) kocht, weil dadurch die Glykuronsäure frei wird; ferner reduzieren einige, nicht alle, auch wie Zucker alkalische Metalloxydlösungen (Fehling etc.). Dagegen ist zu erwähnen, dass durch Fällungen mit Bleiessig die linksdrehende Substanz im Niederschlag enthalten ist.

Nachweis und Darstellung.

Was den Nachweis betrifft, so bilden die blosse Reduktionsfähigkeit und die Linksdrehung des Harnes keine sicheren Beweise für die Anwesenheit gepaarter Glykuronsäuren; mit mehr Sicherheit lässt sich auf die Gegenwart der gepaarten Glykuronsäuren schliessen, wenn zu der beobachteten Drehung auch noch der Nachweis von Phenol und phenolartigen Substanzen neben Ätherschwefelsäure zu erbringen ist.

Zur Darstellung gepaarter Glykuronsäuren kann man in folgender Weise verfahren:

Man dampft den Tagesharn zum Sirup ein und schüttelt diesen nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure mit Alkohol-Äther (1 : 2) einige Male tüchtig aus. Der Verdunstungsrückstand der Alkohol-Ätherlösung wird mit Wasser aufgenommen, mit neutralem Bleiacetat gefällt und filtriert. Aus dem Filtrate fällt man die Glykuronsäureverbindungen mit Bleiessig; der Bleiniederschlag wird nach dem Abfiltrieren in Wasser verteilt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das

Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag nach dem Entfernen des Schwefelwasserstoffes mit Barytwasser neutralisiert. Man dampft auf ein kleines Volumen ein, zerlegt das Barytsalz durch die nötige Menge verdünnter Schwefelsäure und engt das Filtrat vom Bariumsulfat auf dem Wasserbade, zuletzt im Vakuum ein. Die gepaarten Glykuronsäuren, die meist schön krystallisieren, scheiden sich beim Eindampfen aus.

Man kocht die Krystallmassen mehrmals mit Äther aus und verdunstet die ätherischen Lösungen. Auf diese Weise stellt man die Urochloralsäure dar, deren Krystalle bei 142° schmelzen.

Eigenschaften.

Die Glykuronsäure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Sirup, dreht rechts und geht beim Erwärmen in das Lakton (Glykuron) über, das in farblosen bei 169° schmelzenden Tafeln krystallisiert. Glykuronsäure bildet mit Barythydrat ein schwer lösliches Salz, durch Bleiessig, nicht durch Bleizucker wird sie gefällt. Gegen Fehling'sche Lösung ist das Reduktionsvermögen des Anhydrits ebenso gross, wie das der Dextrose. Alkalische Kupfer- und Wismutoxydlösungen werden reduziert. Mit Phenylhydrazin bildet die Glykuronsäure eine in gelben Nadeln krystallisierende Verbindung, die sich aus Alkohol amorph ausscheidet. (Schmelzpunkt $114-115^{\circ}$.)

20. Kohlehydrate.

Auch unter normalen Verhältnissen enthält jeder Harn ganz kleine Mengen von Kohlehydraten, tierisches Gummi (s. d.); der normale Gehalt beträgt $0,075-0,35\%$; nach den Resultaten der eingehend und sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen sind oder können im normalen Harne Spuren von Traubenzucker enthalten sein, jedoch in einer solchen Menge, dass sie sich dem chemischen Nachweis entziehen. Unter gewissen Verhältnissen können auch andere Zuckerarten im Harne gefunden werden, wie Milchzucker, Inosit (s. d.). Auch Maltose (Harmaltose) soll nach Beobachtungen einiger Forscher im Harne nachgewiesen worden sein. Nach K. Baisch¹⁾ findet sich ausser Spuren Glykose und tierischem Gummi ein drittes Kohlehydrat, das durch seine Nichtvergärbarkeit mit Hefe, seine Krystallform, durch den Schmelzpunkt seines Osazons etc.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1894. 20. 249.

jedenfalls identisch mit Isomaltose ist, die nach den Untersuchungen von Külz und Vogel, sowie Röhmann wahrscheinlicher Weise durch die Einwirkung verschiedener Fermente im Laufe der Stärkeverdauung auftritt.

Zum Nachweise der Kohlehydrate bedient man sich der allgemeinen Kohlehydrat-Reaktionen.

1. Beim Schütteln von Harn mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht ein Niederschlag in Gestalt eines schwach gelblichen Pulvers.

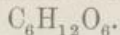
2. Furfurolreaktion.

Werden Kohlehydrate (Zucker etc.) mit Schwefelsäure vermischt, so bildet sich Furfurol, das durch α -Naphthol, oder Thymol, oder Xylidin nachgewiesen werden kann. Man wendet am besten die von Molisch-Udransky empfohlene Methode an.

Der Harn wird auf das zehnfache mit Wasser verdünnt. Man versetzt 0,5 ccm des Harnes mit einem Tropfen einer 10% Lösung von α -Naphthol in acetonfreiem Methylalkohol oder Amylalkohol, schüttelt um, lässt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm reiner konz. Schwefelsäure fließen und schüttelt wieder um. Es tritt eine violette bis himbeerrote Färbung ein; beim Verdünnen mit Wasser entsteht ein blauvioletter oder tiefblauer Niederschlag, in Alkohol und Äther mit gelblicher Farbe löslich. Thymol giebt unter gleichen Verhältnissen eine ähnliche Färbung; beim Verdünnen mit Wasser wird die Flüssigkeit karminrot.

3. Normaler Harn reduziert Fehling'sche und Knapp'sche Lösung; das Reduktionsvermögen des Harnes beträgt, auf Traubenzucker bezogen, soviel, als einer Traubenzuckerlösung von 0,08—0,4% entspricht. An der Reduktion beteiligen sich Harnsäure, Kreatinin, gepaarte Glykuronsäuren.

Zur Bestimmung der Gesamtkohlehydrate im Harn bedient man sich nach Udransky der angegebenen Furfurolreaktion im Vergleiche mit einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalte; die Bestimmung ist eine kolorimetrische. Doch entbehrt der quantitative Nachweis der Kohlehydrate im Harne einer praktischen Bedeutung.

21. **Harnzucker** (Traubenzucker, Glycose, Dextrose).

Nach den Resultaten der sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen können auch in einem normalen Harne Spuren von Traubenzucker enthalten sein, die jedoch höchstens 0,02%, gewöhnlich aber darunter betragen, so dass ein Vorhandensein von Zucker über der angegebenen Zahl stets auf einen pathologischen Harn hinweist.

Eine reichliche Zufuhr von zuckerhaltiger oder zuckererzeugender Nahrung kann eine rascher oder langsamer vorübergehende Zuckerausscheidung (Glykosurie, Meliturie, physiologische oder alimentäre Glykosurie) hervorrufen; dieselbe kann auch Folge sein von Milchwuckerausscheidungen bei Milchstauung der Schwangeren und Säugenden (Laktosurie). Verliert der Organismus die Fähigkeit, den in den Organismus eingeführten oder als Zerfallsprodukt von Nährstoffen entstehenden Traubenzucker in Kohlensäure und Wasser zu verbrennen, dann sammelt sich der Zucker im Blute an und wird durch den Harn wieder unverändert ausgeschieden; eine gesteigerte Ausscheidung zeigt einen pathologischen Zustand an. Das Vorkommen von Harnzucker kann die Folge sein von gewissen operativen Eingriffen, Störungen des Nervensystems, von Cholera, bei Herz- und Lungenkrankheiten, Gicht; ferner treten nach Intoxikationen mit Morphin, Chloral, Chloroform, Amylnitrit, Kohlenoxyd Zuckerausscheidungen auf. Eine dauernde, anfangs meist spärliche, später reichlicher werdende Ausscheidung von Zucker im Harn, die meist mit einer Anzahl Störungen im Gesamtorganismus verbunden ist, bezeichnet man im Gegensatz zu der zeitweiligen Ausscheidung (transitorische Glykosurie) als Zuckerharnruhr, Diabetes mellitus. Diese Zuckerausscheidung ist dann eine bleibende Erscheinung bei gemischter Nahrung, nimmt ab oder verschwindet bei Fleischkost und nimmt zu nach kohlehydratreicher Nahrung. Diese Krankheit ist in jedem Lebensalter beobachtet worden; es können oft ganz bedeutende Mengen Zucker, mitunter über 1 Kilogramm in 24 Stunden mit dem Harne ausgeschieden werden; im Durchschnitt werden in schweren Fällen täglich 200—300 g entleert und findet sich der Zucker dann in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen, während man in den leichteren Fällen sehr oft im Morgenharne keinen

Zucker findet, sondern erst im Mittag- oder Abendharn nach den grösseren Mahlzeiten oder nach dem Genusse von Kohlehydraten. Es muss deshalb diese Thatsache bei Untersuchungen wohl berücksichtigt werden. Ebenso wie der Gehalt des Zuckers, ist bei der Zuckerharnruhr auch die Menge des Harnwassers sehr verschieden; man findet oft eine ganz bedeutende Steigerung des Harnwassers (öfters bis 15 Liter und noch mehr im Tag). Abhängig ist der Gehalt des Harnes an Zucker von der Art der Nahrung; kohlehydrathaltige Nahrung hat eine Vermehrung, eiweisshaltige eine Verminderung des Zuckers im Gefolge; wenn auch bei strenger Diät, Vermeidung aller Zucker bildenden Nahrungsstoffe eine starke Verminderung des Zuckers herbeigeführt werden kann, so scheint eine völlige Heilung in den schweren Fällen doch ausgeschlossen zu sein.

Eigenschaften eines Zuckerharnes.

Die Farbe des diabetischen Harnes ist fast durchgehends abnorm blass; das spezifische Gewicht ist bei grösseren Zuckermengen ein hohes — 1,04—1,060 sogar — doch auch wieder normal. Sedimente scheidet diabetischer Harn im Beginne der Krankheit aus; durch die Zunahme des Zucker- und Wassergehaltes verschwinden sie und treten erst bei verminderter Harnmenge wieder auf. Harnstoff, Kreatin, Indikan, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlor und Alkalien sind mehr oder weniger erheblich vermehrt, die Harnsäure vermindert. Der Geruch ist meist fade, obstähnlich (Aceton), der Geschmack mehr oder weniger süsslich, die Reaktion sauer. Nach längerem Stehen finden sich im diabetischen Harn zahlreiche Hefezellen. Bisweilen in schweren Diabetesfällen enthält der Harn viel Aceton, bei schweren nervösen Störungen (Coma, Asthma) auch Acetessigsäure, β -Oxybuttersäure, Fettsäuren.

Öfters ist mit der Zuckerharnruhr auch Albuminurie verbunden.

Was die Bildung und den Ort der Entstehung des Zuckers betrifft, so gilt als ziemlich feststehende Thatsache, dass ein Hauptteil der übermässigen Zuckermengen, welche im arteriellen Blute der Diabetiker vorhanden sind und auch in den Harn übergehen, aus dem Leberglykogen, das durch Fermentwirkung in Zucker umgewandelt wird, gebildet wird, wobei auch die Muskulatur auf dessen Menge von Einfluss ist.

Über Ursache und Wesen der Zuckerkrankheit sind eine Reihe von Theorien aufgestellt worden.

Darstellung des Harnzuckers aus dem Harn.

Ein oder mehrere Liter Harn werden mit essigsaurem Blei gefällt, das Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von überschüssigem Blei befreit, dann im Wasserbade nach dem Abfiltrieren des Schwefelbleies zu einem dünnen Sirup eingedampft und dieser mit Alkohol übergossen der Krystallisation überlassen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden nach dem Zerreiben mit absolutem Alkohol, auch reinem wasserfreien Methylalkohol, ausgewaschen und am besten aus Methylalkohol umkrystallisiert. Oder man bedient sich, besonders bei Anwesenheit nur geringer Zuckermengen, der Fällbarkeit des Harnzuckers durch essigsaures Blei und Ammoniak; den Niederschlag verteilt man in Alkohol, leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtriert und dampft zum Sirup ein. Man löst den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilauge hinzu, bis ein Niederschlag entsteht. Man filtriert, löst den aus Traubenzucker-Kali bestehenden Niederschlag in wenig Wasser, leitet Kohlensäure bis zur Sättigung ein (man darf den Zucker nur ganz kurze Zeit mit Kali in Verbindung lassen, da sonst Zersetzung des Zuckers eintritt), fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtriert und verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur.

Eigenschaften des Harnzuckers.

Derselbe krystallisiert aus Wasser in weissen körnigkrystallinischen oder warzenförmigen Massen; wasserfrei krystallisiert er in kleinen durchsichtigen Prismen, aus Methylalkohol in monoklinen Zwillingskrystallen. Er ist in Wasser leicht, schwerer in Äthyl- und Methylalkohol löslich; letzterer löst in der Siedehitze reichlich Traubenzucker und scheidet beim Erkalten einen grossen Teil des gelösten wasserfrei ab, weswegen sich der Methylalkohol besonders zum Umkrystallisieren und Reinigen eignet.

Aus seinen Lösungen wird er vollständig durch basisches Bleiacetat und Ammoniak als basisches Bleisalz gefärbt. Man benutzt diese Eigenschaft zur Isolierung kleiner Zuckermengen aus Harn. Mit Chlornatrium liefert er verschiedene Verbindungen; eine solche $2(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6) \cdot \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ scheidet sich

aus diabetischem Harne in schönen sechsseitigen Doppelpyramiden oder in Rhomboëdern aus; auch Kalk und Baryt geben Verbindungen mit Traubenzucker. Traubenzuckerlösungen reduzieren in der Wärme alkalische Kupferoxyd-, Silberoxyd-, Quecksilberoxyd-Lösungen, wobei der Zucker zu Tartronsäure, Ameisensäure, Essigsäure und anderen Säuren oxydiert wird; es gründen sich auf dieses Verhalten bestimmte, sehr wichtige Zuckerreaktionen. Seine wässrige Lösung dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts und zwar beträgt die spezifische Drehung für das Anhydrit $+ 52,5^{\circ}$. Die frische Lösung zeigt Birotation, die durch Erwärmen der Lösung oder längeres Stehen derselben aufgehoben wird. Mit essigsaurem Phenylhydrazin liefert Glykose ein in feinen gelben Nadeln krystallisierendes Phenylglykosazon. In wässriger neutraler oder schwach saurer Lösung mit Bierhefe zusammengebracht, wird der Traubenzucker vergoren und zerfällt in Alkohol und Kohlensäure; am glattesten geht die Gärung bei 25° vor sich.

Beim Erwärmen der Traubenzuckerlösungen mit Kali oder Natron tritt eine Zersetzung des Zuckers ein (Bräunung).

Qualitativer Nachweis des Zuckers.

Der Nachweis des Zuckers im Harne gehört zu denjenigen Operationen in der Harnanalyse, die am häufigsten auszuführen sind; dieser Nachweis erfordert jedoch, so einfach derselbe zu sein scheint, Geduld und Vorsicht, wenn nur kleine Mengen Zucker vorhanden sind, oder wenn der Nachweis zu erbringen ist, dass Traubenzucker vollkommen fehlt. Vor allem muss schon vor Anführung der wichtigsten Methoden betont werden, dass man sich nie mit dem positiven Ausfall einer Probe begnügen darf, sondern dass man stets noch weitere bestätigende Proben ausführen muss, bevor ein endgültiges Urteil gefällt wird, was um so notwendiger erscheint, wenn man daran erinnert, dass einige der im Nachstehenden aufgeführten Reaktionen nicht allein dem Harnzucker, sondern auch anderen Körpern eigen sind und infolge davon Täuschungen vorkommen können; es soll bei Besprechung der Methoden und Reaktionen auf diese Thatsachen aufmerksam gemacht werden.

Ferner werden bei den in Anwendung kommenden Methoden deren grössere oder geringere Brauchbarkeit, Genauigkeit und

Sicherheit in Betracht gezogen und deren Fehlerquellen erörtert werden.

Vorbereitung des Harns zum Nachweis.

Vor der weiteren Prüfung auf Traubenzucker muss man zunächst die Abwesenheit von Eiweiss und Schwefelwasserstoff konstatieren; das Eiweiss scheidet man durch Kochen des Harns allein oder, wenn nötig, nach Zugabe einiger Tropfen Essigsäure ab und nimmt das Filtrat für die Reaktionen.

Bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff (S. 54) wird dieser durch Schütteln des Harns mit Bleiweiss entfernt und das Filtrat verwendet.

Für die Vornahme einer recht genauen Prüfung nimmt man den Harn nicht direkt; man giebt zu 50 ccm Harn 5 ccm neutrales Bleiacetat (Bleiessig nur bei saurer Reaktion des Harns; auch soll nachgewiesen worden sein, dass beim Klären von Harn mit Bleiessig Zucker zuweilen mit ausgefällt wird; es wurde besonders bei verunreinigten pathologischen Harnen die erwähnte Beobachtung gemacht; jedenfalls zeigten diese Harn alkalische Reaktion, waren ammoniakalisch), filtriert und entfernt aus dem Filtrate durch einige Kubikcentimeter einer gesättigten Lösung von Natriumphosphat das Blei. Das vollkommen helle, ungefärbte Filtrat verwendet man für die Reaktionen. Konzentrierte Harn verdünnt man selbstverständlich noch.

Auf diese Weise entfernt man Farbstoffe und weitere, die Reduktion beeinflussende oder selbst reduzierende Stoffe.

Der Anwendung von Tierkohle zur Entfärbung möchte ich, da eine, wenn auch minimale Absorption des Zuckers durch Kohle nun einmal konstatiert ist, nicht das Wort reden.

1. Methode Trommer.

Man versetzt in einem Reagensglase 5 ccm Harn mit etwa $\frac{1}{4}$ seines Volumens Kali- oder Natronlauge (der Pharmacopoe), schüttelt und fügt unter Umschütteln von einer 10 %-Kupfersulfatlösung so lange hinzu, bis eine kleine Menge von Kupferhydroxyd ungelöst bleibt. (Zucker hat wie Glycerin die Eigenschaft, Kupferhydroxyd zu lösen.) Nun erhitzt man die Mischung bis zum beginnenden Sieden, am besten bloss an der Oberfläche der Flüssigkeit. Bei zuckerhaltigem Harn bemerkt man dann eine gelbe, wolkige Trübung, die sich ohne weiteres Erwärmen über die ganze Flüssigkeit erstreckt und sich rasch als rötlich feinkörniger Niederschlag von Kupferoxydul absetzt.

Beurteilung.

Die Probe ist unsicher, ungenau.

In der angegebenen Weise verläuft dieselbe nur in ausgesprochenem diabetischem Harn. Ferner kommen im normalen Harn, wie im Fieberharn Substanzen vor (Harnsäure, Kreatinin, Harn- und Gallenfarbstoffe, Glycuronsäureverbindungen), die einerseits eine Reduktion veranlassen, andererseits Kupferoxydul in Lösung zu halten vermögen, so dass dasselbe nicht zur Abscheidung gelangt; es können im Harn sogar 0,5 % Zucker übersehen werden, wenn sich die reduzierenden und Kupferoxydul lösenden Substanzen gerade decken. Auch nach Einnehmen von Arzneimitteln (Salicylsäure, Chloralhydrat, Thallin, Salol, Benzoesol Saccharin, Arbutin besonders) treten Fällungen auf.

Auf blosse Gelbfärbung der Flüssigkeit, sowie auf einen erst beim Erkalten auftretenden Niederschlag ist nichts zu geben.

Aus diesen Gründen sollte man die alte Trommer'sche Probe nur in der viel verbesserten Form von

2. Worm-Müller¹⁾ in Anwendung bringen.

Erforderliche Lösungen.

1. 2,5% Kupfersulfatlösung.
2. Eine Lösung von 10 Tln. weinsaurem Kali-Natron (Seignettesalz) in 100 Tln. 4% Natronlauge.

Man mischt von diesen Lösungen 1,5 ccm Kupfersulfat- mit 2,5 ccm der Seignettesalzlösung unmittelbar vor dem Gebrauche, erhitzt bis auf 70—80° (nicht ganz zum Kochen); auf die gleiche Temperatur erwärmt man 5 ccm des eventuell verdünnten Harnes und bringt den letzteren in kleinen Portionen ohne Schütteln zur Kupferlösung. (Man kann auch den Inhalt der beiden Reagensgläser zum Kochen erhitzen, dieses gleichzeitig unterbrechen, die Gläser $\frac{1}{2}$ —1 Minute stehen lassen und dann vermischen.) Eine rasch eintretende gelbliche, bald rötlich werdende Trübung oder Fällung von Kupferoxydul deutet auf Zuckergehalt. Erhält man keine Reaktion, so muss, da bei geringem Zuckergehalt die Reaktion oft nur bei ganz bestimmter Menge stattfindet, die Probe mit steigenden Mengen von der Kupfersulfatlösung (2,5, 3,0, 3,5, 4,0 ccm) wiederholt werden, bis die Reaktion eintritt, oder bis die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, grün bleibt.

Am besten nimmt man diese Probe mit der eigentlichen Fehling'schen Lösung (S. 158) vor. Man erhitzt die erst aus gleichen Teilen Kupferlösung und Seignettesalzlösung zusammengemischte Flüssigkeit zum Kochen, wobei absolut keine Veränderung der Lösung (Trübung oder Reduktion) eintreten darf; dann giebt man den eventuell verdünnten Harn (bei stark konzentrierten, harnsäurereichen Harnen verdünnt man mit der gleichen Menge Wasser), den man gleichfalls erhitzt hat, zur Fehling'schen Lösung. Eine eintretende gelbliche bis gelblich-rötliche Färbung zeigt die Anwesenheit von Zucker an.

Beurteilung.

Diese Probe ist viel empfindlicher wie 1., ferner sollen bei den angegebenen Temperaturen die das Kupferoxyd bei Siedetemperatur reduzierenden Substanzen

¹⁾ Pflüger's Archiv 27. 107.

nur in ganz geringem Grade zur Wirkung kommen. Dies wird in der That erreicht, wenn man nach Vorschrift verfährt.

Gleichwohl können die bei 1. angegebenen Stoffe auch hier auf die Reaktion beeinflussend einwirken, und kann deshalb auch diese Probe nicht als stichhaltig bezeichnet werden.

3. Die Böttger¹⁾-Almén-Nylander'sche²⁾ Probe.

Diese beruht auf der Reduktion von basischem Wismutnitrat in alkalischer Lösung durch Glykose.

Die ursprünglich Böttger'sche Probe, die in der Weise vorgenommen wurde, dass man 5 ccm Harn mit einer Messerspitze voll Wismutsubnitrat und einer Messerspitze Soda schüttelte und einige Minuten kochte, wird nun in der weit genauere Resultate gebenden Modifikation von Nylander vorgenommen.

Das Nylander'sche Reagens, eine alkalische Lösung von Wismuttartrat, besteht aus 2 g Bismut. subnitric., die mit 4 g Seignettesalz verrieben und in 100 g 10 % Natronlauge bei gelinder Wärme gelöst werden; die Lösung wird filtriert. Das Reagens hält sich längere Zeit unverändert.

Man erhält 5 ccm Harn nach Zugabe von $\frac{1}{2}$ —1 ccm dieses Reagens im Kochen (2—5 Minuten). Bei Anwesenheit von Zucker tritt Braun-Schwarzfärbung auf. Das Reagens wird stets vor dem Gebrauch nach 10facher Verdünnung mit Wasser auf seine normale Beschaffenheit geprüft — gekocht; es darf keine bräunliche Abscheidung stattfinden.

Beurteilung.

Harnsäure und Kreatinin wirken nicht ein; dagegen Glykuronsäuren und weiters vermehrte Anwesenheit von Indoxylschwefelsäure, Indican, Uroerythrin; eiweisshaltiger Harn färbt sich unter Bildung von Schwefelwismut durch Zersetzung von Eiweiss braunrot, beim Stehen scheidet sich ein Niederschlag von Schwefelwismut ab.

Antipyrin, Senna, Rheum, Salol, Terpentinöl, Sulfonal, Trional, Arbutin wirken auch ein; doch ist diese Probe besonders als bequeme und sichere für den Arzt zu empfehlen; sie ist viel schärfer und sicherer als die vorhergehenden. Im übrigen kann man sich auch durch einige Reaktionen von dem Fehlen oder der Anwesenheit der genannten Stoffe leicht überzeugen. Besonders rheumhaltiger Harn wirkt störend und Zucker vortäuschend ein.

4. Das Verhalten von Harn im Polarisationsapparate (S. 148).

5. Die Gärungsprobe.

Dieselbe kann nach den drei verschiedenen Methoden oder besser gesagt, mit den verschiedenen Apparaten vorgenommen werden.

¹⁾ Journ. prakt. Chem. 70. 432.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1884. 8. 175.

Man verreibt ein etwa haselnussgrosses Stück Hefe (oder 0,5—1 g), die vollkommen zuckerfrei sein muss, in einem kleinen Mörser mit 1—2 ccm Wasser und fügt diesen Hefebrei zu etwa 25 ccm des mit 1 Tropfen Weinsäurelösung angesäuerten Harnes; alkalischer Harn wird bis zur sauren Reaktion mit Weinsäure versetzt. Mit diesem hefehaltigen Harn füllt man das nebenstehend abgebildete Gärgläschen (Fig. 27) (Einhorn) derart, dass das Rohr *a* vollkommen gefüllt ist, so zwar, dass sich beim Aufstellen des Apparates oben in der Röhre keine Spur von Luft zeigt. Der horizontale Teil der Röhre bei *b* kann sicherheits halber — es ist übrigens nicht nötig — durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden. Nun stellt man den Apparat an einen 25—30° warmen Ort 12—24 Stunden bei Seite. Bei Anwesenheit von Zucker wird sich schon im Verlaufe einiger Stunden in dem geschlossenen Rohre *a* Kohlensäure ansammeln, da der Zucker durch die Gärung in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird; nach 24 stündigem Stehen ist der Versuch beendet. Zur Prüfung der Reinheit und Wirksamkeit der Hefe beschickt man unmittelbar nach der Füllung des Röhrchens mit dem zu prüfenden Harn ein zweites Gärungsröhrchen mit durch Weinsäure angesäuertem Wasser und Hefe und ein drittes mit einer wieder angesäuerten ca. 0,5—1% Traubenzuckerlösung und Hefe. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen, wenn im zweiten Gärungsröhrchen sich kein Gas (Kohlensäure), im dritten aber solche in reichlicher Menge ansammelt.



Fig. 27.

Die Hefe ist jetzt leicht und überall in dem brauchbaren Zustande zu erhalten. Um etwaige vorhandene gärungsfähige Substanzen zu entfernen, verreibt man nach Schotten die Hefe in einer Schale mit Wasser, giebt mehr Wasser hinzu und rührt um. Nach dem Absetzen der Hefe giesst man das Wasser ab und wiederholt diese Prozedur nochmals. Man giebt schliesslich den Hefebrei auf ein Filterchen, wäscht mit Wasser etwas aus, lässt letzteres abtropfen und trocknet durch Pressen zwischen Fliesspapier die Hefe, die nun zum Gebrauche geeignet ist.

An Stelle dieser Gärapparätchen kann der von R. Fleischer¹⁾ konstruierte Apparat, den man bei der quantitativen Zuckerbestimmung mit ganz gutem Erfolge verwendet, auch bei der qualitativen Prüfung in Anwendung gezogen werden. Bei den quantitativen Prüfungsmethoden ist dieser Apparat genau beschrieben.

In Ermangelung dieser Apparate kann man sich der von F. Moritz²⁾ angegebenen Form (Fig. 28) eines Apparates bedienen, den man sich leicht selbst herstellen kann.

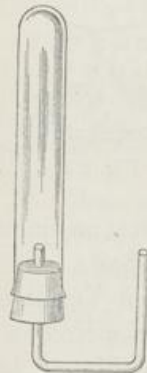


Fig. 28.

Das etwa 1 cm weite Reagensglas füllt man mit Harn-Hefengemisch (50 ccm Harn und 1 g zuckerfreie Hefe) vollständig an und verschliesst das Reagensglas mit einem Kautschuckstopfen, der mit einem engen U-förmig gebogenen Rohre versehen ist, derartig, dass keine Luft im Glase vorhanden ist und eindringt. Den Apparat stellt man in ein Becherglas in der in der Figur angegebenen Stellung und lässt bei 20—30° C. gären. Man stellt auch hier einen solchen Apparat mit Wasser und Hefe und einen anderen mit einer 0,2% Traubenzuckerlösung und Hefe zur Kontrolle auf.

Zum Nachweis, dass das entwickelte Gas Kohlensäure ist, füllt man den offenen Schenkel bis zum Überlaufen mit Kalilauge, verschliesst fest mit dem Daumen und schüttelt um; die Gasblasen verschwinden vollkommen, wenn sie aus Kohlensäure bestanden.

Will man das andere gebildete Gärungsprodukt, den Alkohol, nachweisen, so giebt man die Flüssigkeit im Apparate in ein Kölbchen, destilliert ca. 10 ccm ab und prüft das Destillat mit Jod in Jodkaliumlösung und Natronlauge; es bildet sich Jodoform, wenn Alkohol vorhanden ist.

Endlich ist noch empfohlen worden, den Harn vor dem Versuche, um ihn von absorbierter Luft zu befreien, 10 Minuten lang zu kochen. Diese Vorsichtsmaßregel ist unnötig.

Beurteilung.

Die Gärungsprobe ist entschieden die sicherste Probe und wird durch deren positiven Ausfall der nach einer der vorstehenden und folgenden Proben gewonnene positive Befund bestätigt, da sie eine Verwechslung mit irgend einem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandteil nicht gestattet. Höchstens könnte die äusserst selten vorkommende Fruktose, die langsam vergärt, in Betracht kommen, die aber durch ihre Linksdrehung sich unterscheidet.

Als einziger Nachteil dieser Probe wäre nur anzuführen, dass man die Frage, ob Zucker vorhanden ist, erst nach 12—18 Stunden, zumal wenn wenig Zucker zugegen ist, beantworten kann.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1887. 31.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1891. 1 u. 2.

6. Die Phenylhydrazinprobe von E. Fischer¹⁾ nach v. Jaksch.²⁾

50 ccm (eventuell grössere Mengen Harn) werden mit 2 g reinem, salzsaurem Phenylhydrazin und 4 g essigsaurem Natron $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang in einem Becherglase in einem kochenden Wasserbade erwärmt, dann in kaltes Wasser gestellt und einige Stunden stehen lassen, wobei sich das Phenylglykosazon krystallinisch oder mit amorphen Massen abscheidet. Man untersucht diesen Niederschlag mikroskopisch bei 200—300 facher Vergrösserung; es sind die charakteristischen Krystalle

leicht zu erkennen (Fig. 29). (Nadeln, Sterne, auch garbenförmige Krystalle.) A. Jolles lässt nach einstündigem Erhitzen der Mischung abkühlen und 12—14 Stunden zur Abscheidung der Krystalle stehen.

Einen amorphen Niederschlag filtriert man ab, löst ihn auf dem Filter mit heissem Alkohol, versetzt das Filtrat mit Wasser, entfernt den Alkohol durch Erhitzen, wobei man das Phenylglykosazon in den charakteristischen gelben, bei 204 bis 205° schmelzenden, oft büschelförmig vereinigten Nadeln gewinnen kann, die noch bei 0,05% Zucker im Harn entstehen.

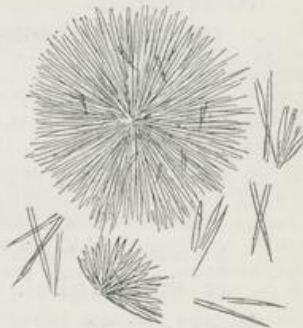


Fig. 29. Phenylglykosazon.

Beurteilung.

Über den Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten geteilt; man soll nach Rose aus jedem Harn dem Glykosazon ähnliche Krystalle erhalten, während nach anderer Ansicht in zweifelhaften Fällen die Phenylhydrazinprobe einen sicheren Anhaltspunkt giebt und die Empfindlichkeitsgrenze bei nicht concentrirten Harnen im Durchschnitt bei 0,03% liegt. Die Verbindung der Glykuronsäure mit Phenylhydrazin zeigt übrigens einen Schmelzpunkt bei 150° C. Der Niederschlag muss reichlich sein und mikroskopisch zum weitaus grössten Teile aus büschelförmig oder drusig angeordneten Nadeln sich zusammengesetzt erweisen. Ich halte diese Probe für eine sehr empfindliche und möchte deren Ausführung in zweifelhaften Fällen stets empfehlen.

¹⁾ Berl. Berichte 17. 579 u. 22. 90.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 14. 377.

Spaeth, Untersuchung des Harnes.

7. Probe von Penzoldt.¹⁾

Man versetzt stark alkalisch gemachten Harn mit der gleichen Menge einer frisch bereiteten schwach alkalisch gemachten Lösung von Diazobenzolsulfosäure (1:60). Zuckerhaltiger Harn wird zuerst gelbrot, dann bordeauxrot, bei starkem Zuckergehalt dunkelrot und undurchsichtig; die rote Färbung besitzt dabei einen bläulichen Ton; nach ungefähr $\frac{1}{4}$ stündigem Stehen giebt zuckerhaltiger Harn einen rötlichen Schaum, normaler einen gelben. Ein Streifen Papier färbt sich im Zuckerharn rosenrot, im normalen gelb.

Beurteilung.

Die Probe ist zuverlässig.

Da die Diazobenzolsulfosäure explosibel ist, so bewahrt man dieselbe unter Chloroform in einer dunklen Flasche auf; beim Gebrauch giesst man das Chloroform ab, wägt von der Säure ab und giebt den Rest mit Chloroform in die Flasche zurück.

8. Die Moore-Heller'sche Probe.

Der Harn wird mit Natron oder Kalilauge stark alkalisch gemacht und gekocht; bei Zuckergehalt färbt er sich dunkel.

Beurteilung.

Ist keine scharfe Reaktion: unter 0,5% Zuckergehalt erfolgt zudem keine deutliche Ausscheidung; mucinhaltiger Harn, teilweise auch normaler Harn färbt sich auch dunkel.

9. Probe von Rubner.

Man versetzt 10 ccm Harn (konz. Harn ist mit dem gleichen Volumen Wasser zu verdünnen) mit Bleizuckerlösung, bis keine Fällung mehr entsteht, filtriert und fügt bis zur bleibenden Fällung zu 5—10 ccm des Filtrates Ammoniak. Erwärmt man durch Eintauchen in heisses Wasser, so nimmt bei Anwesenheit von Zucker der Niederschlag eine rosenrote oder fleischrote Färbung an.

Beurteilung.

Die Sicherheit ist nicht gross, da mit 0,2% Zucker kaum Reaktionen erhalten werden. Besser ist die Probe in folgender Ausführung.²⁾

10. Probe mit Bleiessig und Ammoniak.

Man versetzt Urin mit einigen Tropfen Ammoniak und einigen Tropfen Bleiessig. Der entstandene weisse

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1883. Nr. 4.

²⁾ Liebig's Annal. 109. 109.

Niederschlag färbt sich bei vorsichtigem Erhitzen (nicht zum Kochen!) fleischfarben bis purpurfarben. (Schmidt.)

Beurteilung.

Nach F. Penzoldt und L. Friedländer ist die Probe zuverlässig und sicher; man kann noch 0,1% Traubenzucker nachweisen.

Eine Reihe anderer Proben (Probe mit Indigolösung, Goldchlorid, Safranin, Pikrinsäure, α -Naphtol und Schwefelsäure, dann mit Stütz'schen Reagens-Kapseln u. a.) stehen im Werte weiter hinter den erwähnten Methoden, haben nichts an Bequemlichkeit voraus und sind zum Teil ganz unbrauchbar.

Wahl der Methoden.

Man stellt zuerst die Trommer'sche Probe in der Modifikation von Worm-Müller mit Fehling'scher Lösung, dann die von Nylander modifizierte Wismutprobe an; erhält man starke Reaktionen, die die Anwesenheit von Zucker unzweifelhaft ergeben, dann genügen diese Proben; in nicht ganz klaren Fällen wird man noch weitere Proben, die Penzoldt'sche, besonders die Phenylhydrazinprobe, und wenn man sich auch noch von der Richtigkeit der nach den genannten Methoden erhaltenen Resultate überzeugen will, vor allem die Gärprobe zu Rate ziehen, die nach einer der empfohlenen Methoden ausgeführt wird. Die Resultate der Gärprobe helfen über alle Zweifel hinweg und wird das Vorhandensein oder das Fehlen von Zucker im Harn dadurch mit absoluter Sicherheit erwiesen. Zeigt z. B. ein Harn Reduktionserscheinungen und hat er diese nach der Vergärung (durch Prüfung des Gärückstandes) verloren, dann war sicher Zucker vorhanden, was auch durch den Gärversuch bewiesen wird; bleiben die Reduktionserscheinungen des Harns auch nach der Vergärung, so sind reduzierende Substanzen, die durch die Gärung nicht zerstört wurden, die aber auch nicht vom Zucker herrühren können, vorhanden.

Selbstverständlich giebt der polarimetrische Nachweis, wenn ein Apparat zur Verfügung steht, sehr brauchbare Resultate.

Die quantitative Bestimmung des Harnzuckers.

Bei der quantitativen Bestimmung machen sich teilweise dieselben Schwierigkeiten geltend, wie wir sie bereits bei dem qualitativen Nachweis vorgefunden haben. Wenn es gilt, den Nachweis zu erbringen, ob bei einer vom Diabetiker streng beobachteten Diät die Zuckermengen, die ausgeschieden werden, sich konstant bleiben oder ob bei einer beginnenden Diabetes bei einer bestimmten Lebensweise (Diät) eine Zunahme oder Abnahme stattfindet, dann muss eine Methode in Betracht gezogen werden, die eine möglichst genaue quantitative Bestimmung gestattet.

Die rascheste, einfachste und eine genaue quantitative Bestimmung — die Verwendung eines guten Apparates vorausgesetzt — wird auf polarimetrischem Wege erreicht, wenn auch, wie wir bereits wissen, Stoffe im Harn vorhanden sein

können, die einen geringen Einfluss auf die Resultate auszuüben vermögen; hierüber findet sich bei der Beurteilung dieser Methode (S. 154) das weitere mitgeteilt.

1. Bestimmung durch Polarisation.

Zur Vornahme der Prüfung durch Circumpolarisation bedient man sich jetzt meistens der Halbschattenapparate (Laurent'scher Apparat, Schmidt & Haensch), wohl auch des Wild'schen Polaristrobometers, des Apparates von Soleil-Ventzke, Landolt-Lippich, Hoppe-Seyler, des Spektropolarimeters von E. v. Fleischl.

a) Der Laurent'sche Apparat (Fig. 30).

Die Lichtstrahlen einer Natriumflamme,¹⁾ die im Brenner durch Kochsalz oder Soda, das man in das verschiebbare Löffelchen aus Platindrahtnetz giebt, erzeugt wird, gehen zuerst durch ein Diaphragma, das noch mit einer

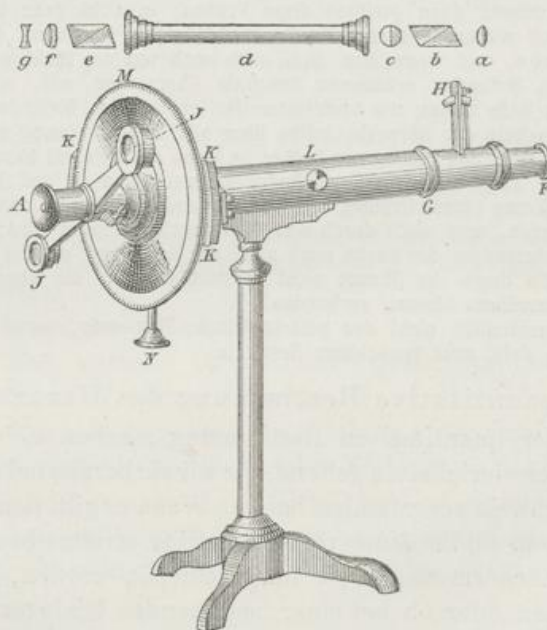


Fig. 30.

geschliffenen Platte von Kaliumdichromat (*a*) bedeckt ist, um die gelben Strahlen des Natriumlichtes von dem andersfarbigen Lichte (den grünen, roten, blauen, violetten Strahlen) zu reinigen, durch eine Sammellinse, welche

¹⁾ Hat man kein Gas zur Verfügung, dann verwendet man die Beobachtungslampen für Natriumlicht mit Spiritus.

die Strahlen parallel macht, und gelangen dann in den Polarisator (polarisierenden Nikol) (*b*), ein kombiniertes doppelt brechendes Kalkspatprisma, welches nur den ausserordentlichen Strahl durchlässt und geradlinig polarisiert. Diese Teile befinden sich in der Messinghülse *G—F*; das polarisierende Nikol lässt sich mittels des Armes *H* um einen Winkel von 20° drehen; man stellt ihn aber so, dass der Arm *H* stets auf 0 in der Mitte steht.

Weiter passieren die Lichtstrahlen ein zweites rundes Diaphragma (*c*), das eine Glasplatte enthält, auf welche eine dünne, parallel zur optischen Axe geschliffene Quarzplatte so gelegt ist, dass die letztere gerade die Hälfte des Kreises bedeckt; die Dicke dieser Platte ist so bemessen, dass die parallel und senkrecht zur Axe polarisierten gelben Strahlen bei ihrem Durchtritte einen Gangunterschied von einer halben Wellenlänge erleiden. Nun gelangen die Strahlen durch die Röhre *d*, welche die zu prüfende Flüssigkeit enthält, in das drehbare analysierende Nikol (*e*) und durch die Linsen (*f* und *g*) eines Galiläi'schen Fernrohres, dessen Okularlinse sich verschieben lässt, in das Auge des Beobachters (*A*).

Das analysierende Nikol ist mit der Kreisscheibe *M* fest verbunden und mit Hilfe eines an der hinteren Seite der Kreisscheibe angebrachten konischen Zahnrades, das in ein kleines mit dem Knopfe *N* verbundenes Zahnrad eingreift, drehbar. Die Kreisscheibe ist mit einer Einteilung versehen, die entweder von $0-360^{\circ}$ geht oder von $0-90^{\circ}$, dann abwärts bis 0° , wieder weiter bis 90° und dann wieder bis 0° . Dem Nullpunkte der Einteilung stehen zwei Nonien (*K*) gegenüber; abgelesen wird vermittelt der Lupen *J*, die an einer drehbaren Axe sich befinden. In die mit einem Deckel versehene Messingrinne *L* wird das mit der vorbereiteten Flüssigkeit versehene Rohr gebracht.

Beim Aufeinanderstellen der Nullpunkte von Nonius und Skala, was mittels der Schraube *N* erreicht wird, erscheinen beide Hälften des Gesichtsfeldes gleich hell und muss man deutlich den vertikalen Strich sehen; eventuell stellt man den Apparat auf ganz gleiche Helligkeit des Gesichtsfeldes ein und liest an der Skala die Drehung ab, die man bei der Ausführung der Bestimmung dann in Rechnung zu ziehen hat. Ist der Apparat eingestellt (gewöhnlich steht er auf 0° ein) — in die Rinne legt man bei der Einstellung eine mit Wasser gefüllte Röhre (Fig. 30 *d*) — so giebt man die zu polarisierende Flüssigkeit in der Röhre in den Apparat. Erfolgt eine Drehung durch die Flüssigkeit, so wird das Gesichtsfeld nicht mehr gleich hell, sondern auf der einen Seite hell, auf der anderen verdunkelt sein und zwar ist, wenn das rechte Gesichtsfeld im Apparate dunkel erscheint, der Körper linksdrehend, wenn das linke Gesichtsfeld verdunkelt ist, rechtsdrehend. Man muss dann also mittels der Schraube *N* Analysator und Kreisscheibe nach links drehen (linksdrehende Substanz, linksdrehender Zucker), nach rechts bei rechtsdrehendem. Ist Harnzucker im Harne vorhanden, so wird also das linke Gesichtsfeld verdunkelt erscheinen.

Bei der Bestimmung des Zuckergehaltes im Harn dreht man nach Einlegen des mit dem vorbereiteten Harne beschickten Rohres mit der Schraube *N* so lange das analysierende Nikol und die Kreisscheibe nach rechts, bis die beiden Hälften des Gesichtsfeldes hell sind, was man mit einiger Übung haarscharf erzielt. Enthält die Flüssigkeit in der Röhre keinen Zucker, dann wird keine Verdunkelung einer der beiden Hälften des Gesichtsfeldes eintreten, sondern beide werden gleich hell sein. Bei einer Drehung liest man mit der Lupe den Stand des Kreises gegen den Nonius ab, der bei dem Halbschattenapparate noch die Ablenkung einer Minute oder $\frac{1}{60}$ Grad gestattet; der Nonius ist mit 30 Teilstrichen versehen, die einem halben Grade der Skala des Kreises entsprechen. Man zählt vom Nullpunkte der Kreisskala bis zum Nullpunkte des Nonius die ganzen und halben Grade auf der Kreisskala ab; da nun gewöhnlich der weitere Grad

nicht voll ist, so sucht man, vom Nullpunkte des Nonius anfangend, denjenigen Teilstrich des Nonius auf, der mit einem Teilstrich an der Kreisskala genau zusammenfällt, zählt die Striche vom Nullpunkte des Nonius bis zu diesem Strich an der Kreisskala und zählt diese Teilstriche, von dem jeder eine Minute oder $\frac{1}{60}$ Grad ausmacht, zu den an der Skala abgelesenen ganzen und halben Graden.

Ein Beispiel mag dies anschaulicher machen.

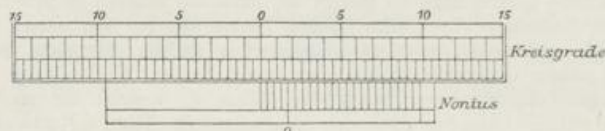


Fig. 31.

Im vorliegenden Falle (Fig. 31) ist eine Rechtsdrehung vorhanden. Vom Nullpunkte des Kreisgrades bis zum Nullpunkte des Nonius zählt man erst einen und einen halben Grad; da der Noniusnullpunkt noch etwas über dem halben Grade liegt, zwischen $1\frac{1}{2}$ und 2 Grad, so sucht man den Teilstrich an dem Nonius, der mit einem Grade an der Kreisskala genau zusammenfällt; es ist dies der Noniusteilstrich 4; es sind nunmehr noch vier Minuten hinzuzuzählen, so dass die Ablenkung $1^{\circ}30' + 0,4' = 1^{\circ}34'$ oder auf Grade berechnet $1,56^{\circ}$ beträgt.

b) Das Wild'sche Polaristrobometer.

Aus der Abbildung (Fig. 32, S. 151) ist das Nähere zu ersehen.

Der Lichtstrahl tritt durch ein Diaphragma in die Blendröhre und wird durch das Nicol (*a*) (Polarisator) polarisiert. Die Messingfassung dieses Teiles ist mit dem Teilkreis *E* verbunden und kann mit ihm zusammen an dem Knopfe *P* der Triebstange *Q* gedreht werden. Der Teilkreis gleitet hierbei an einem feststehenden Nonius vorbei, an dem der Drehungswinkel durch das Fernrohr *T* abgelesen wird. Am Ende des Fernrohres *T* ist bei *V* ein schief gestellter Metallspiegel angebracht, der das Licht einer geeignet aufgestellten Gasflamme auf den Nonius reflektiert; als Lichtquelle dient hier ebenfalls eine Natriumflamme. Die polarisierten Lichtstrahlen durchlaufen die in dem Lager *F* liegende Flüssigkeitsröhre und treten in den feststehenden Okularteil; dieser enthält bei (*b*) ein Savart'sches Polariskop, eine Savart'sche Doppelplatte, die aus zwei Quarz- oder Kalkspatplatten besteht, die unter 45° zur optischen Axe geschnitten sind und deren Hauptschnitte senkrecht aufeinander stehen. In dem Fernrohr *N*, das zwei schwach vergrößernde Linsen (*c* und *e*) enthält, befindet sich ein rundes, mit X-förmigem Fadenkreuz versehenes Diaphragma (*d*). Hinter dem Fernrohre ist der feststehende Analysator, das Nicol'sche Prisma (*f*) angebracht. Durch die Savart'sche Vorrichtung entstehen dunkle Streifen im Gesichtsfelde, die beim Drehen des Polarisators mittels *P* in vier je um 90° auseinander liegenden Stellungen verschwinden; dies wird als Nullstellung benützt und zwar stellt man, da die Streifen nie vollständig verschwinden, auf ihr Verschwinden in der Mitte des Gesichtsfeldes, also in der Nähe des Kreuzungspunktes der Fäden des Fadenkreuzes ein. Man dreht die Kreisscheibe mit dem polarisierenden Nicol an dem Knopfe *P* nach Einlegen der Röhre mit der Flüssigkeit, wobei die Streifen wieder erscheinen, wenn die Lösung zuckerhaltig ist, so lange, bis die Streifen wieder in der Mitte des Gesichtsfeldes verschwunden sind.

Da hier der Polarisator gedreht wird, so erfolgt die Drehung in entgegengesetzter Richtung, als beim Halbschattenapparate.

Beim Saccharimeter von Soleil-Ventzke stellt man auf eine empfindliche Übergangsfarbe, am besten auf Rosa (Hellrosa) ein; dieses geht durch eine geringe Änderung der Rotation in der einen Gesichtshälfte in Rot, in der anderen in Blau über; man dreht dann den Griff, bis eine gleiche Färbung beider Hälften erzielt ist.

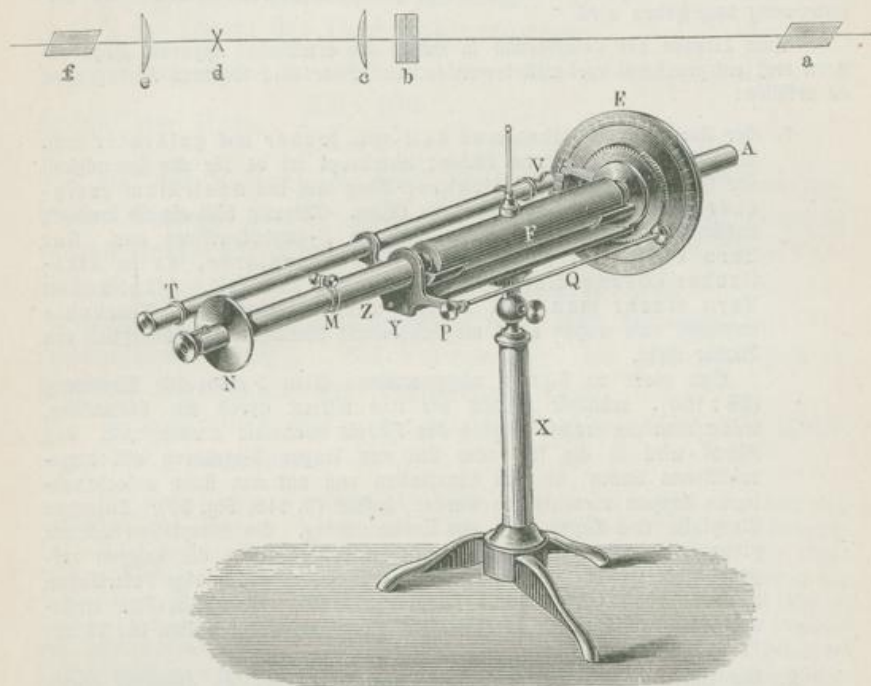


Fig. 32.

Der Halbschattenapparat von Lippich wird durch Drehen am Analysator auf gleiche Helligkeit der beiden Hälften eingestellt wie beim Laurent'schen Apparat.

Der Mitscherlich'sche Apparat ist wohl fast ganz durch die viel empfindlicheren Halbschattenapparate verdrängt.

Vorteilhaft sind für Laboratorien, in denen kein Gas vorhanden ist, die Apparate für weisses Lampenlicht, so der nach Hoppe-Seyler, bei welchem die Teilung direkt 0,1% Harnzucker angiebt.

Wahl des Apparates.

Für die Zwecke der Harnanalyse giebt es schon Apparate (Halbschattenapparate, Modell Mitscherlich mit einem Laurent'schen Polarisator und Gas-, Natrium- oder Spiritus-Natriumlampe) zum Preise von 120 Mk. Kreisteilung in Graden oder Prozenten von Harnzucker etc.

Eine ganz genaue Ablesung wird mit diesem Apparate natürlich nicht erzielt. Eine solche (Ablesung 1 Minute) erreicht man mit einem Laurent'schen Apparate im Preise von 275—350 Mk.

Empfehlen möchte ich die Apparate für weisses Lampenlicht eingerichtet.

Ferner ziehe ich die Halbschattenapparate den Farbenapparaten mit Einstellung auf gleiche Färbung schon aus dem Grunde vor, weil die Einstellung bei ersteren eine einfachere und sichere ist, während bei letzteren längere Übung dazu gehört. Selbstverständlich können von Farbenblinden die Farbenapparate nicht benützt werden.

Eine Beschreibung der etwa noch in Betracht kommenden Apparate erscheint überflüssig, da den Apparaten sämtlich eine genaue Beschreibung und Gebrauchsanweisung beigegeben wird.

Zum Zwecke der Polarisation in einem der erwähnten Apparate muss der Harn erst entsprechend vorbereitet werden, und zwar sind folgende Bedingungen zu erfüllen:

1. Der Harn muss vollkommen hell sein, trüber und gefärbter Harn kann keine Verwendung finden; überhaupt ist es für die Genauigkeit der Resultate geboten, den sauren Harn erst mit neutralem essigsaurem Blei oder Bleiessig zu fällen. Bleiessig fällt die die Drehung beeinflussenden Glykuronsäuren und die β -Oxybuttersäure aus. Der Harn darf aber ja nicht alkalisch reagieren, da in alkalischer Lösung Bleiessig Harnzucker ausfällt. Alkalischen Harn macht man erst wieder sauer (Essigsäure). Tierkohle empfiehlt sich wegen einer möglicherweise stattfindenden Absorption von Zucker nicht.

Man giebt zu 50 ccm abgemessenen Harn 5 ccm der Bleilösung (25 : 100), schüttelt tüchtig um und filtriert durch ein Faltenfilter, indem man die ersten Tropfen des Filtrats nochmals zurückgiesst. Das Filtrat wird in die 100 oder 200 mm langen Glasröhren mit abgeschliffenen Enden, die mit Glasplatten und auf das Rohr aufschraubbaren Kappen verschlossen werden, gefüllt (S. 148, Fig. 30). Zwischen Glasplatte und Kappe liegt ein Kautschukring. Die Glasplatten müssen planparallel sein und dürfen nicht zu scharf durch die Kappen aufgeschraubt werden, da sie sonst Doppelbrechung und farbige Polarisation zeigen. Auch dürfen keine Luftblasen in die Flüssigkeitssäule eingeschlossen werden. Die Polarisation nimmt man am besten bei 15 bis 17° vor.

2. Der Harn muss ganz frei sein von Eiweiss, da dasselbe links dreht; dasselbe muss erst durch Kochen entfernt und der Harn mit Wasser auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden.

Ausführung der Polarisation.

Dieselbe ist eine einfache und bereits bei der Erklärung des Laurent'schen Apparates mitgeteilt. Man stellt erst den Apparat genau ein, — gewöhnlich steht er auf 0 ein — giebt dann die Röhre mit dem zu prüfenden Harn (das Filtrat von 50 ccm Harn gefällt mit 5 ccm neutraler Bleiacetatlösung) in den Apparat und dreht, bis die auf der einen Seite beobachtete dunklere Färbung des Gesichtsfeldes vollkommen verschwunden und das Gesichtsfeld gleich hell ist. Man liest, wie angegeben, ab und berechnet in folgender Weise:

Die spez. Drehung des Traubenzuckers beträgt 52,5°; es entspricht somit die Drehung von 52,5° = 100 g Zucker in

100 g. Bei der Bestimmung im Harn kann man eine Drehung von 53° annehmen.

Zur Berechnung dient die Gleichung $p = \frac{a \times 100}{53 \times l}$, worin:

p = Zucker in Gramm in 100 ccm Lösung,

a = die abgelesene Ablenkung,

l = Länge des Beobachtungsrohres.

Betrug z. B. im 200 mm-Rohr die Ablenkung $2,2^{\circ}$, so enthält der Harn $\frac{2,2 \times 100}{53 \times 2} = 2,07\%$ Zucker.

Bei der Berechnung muss aber die durch die Bleiacetatlösung bedingte Verdünnung des Harnes in Betracht gezogen werden und zwar muss dem erhaltenen Resultate bei der Verdünnung von 10 Vol. Harn mit 1 Vol. Bleilösung $\frac{1}{10}$ der berechneten Prozente hinzugezählt oder das Resultat mit 1,1 multipliziert werden. Bei Verwendung des 220 mm Rohres fällt die Berechnung der Verdünnung weg.

Im angeführten Beispiel würde der Zuckergehalt $2,07 + 0,207 = 2,277\%$ betragen.

Bei recht genauen Prüfungen möchte ich vor der Polarisation erst das Ausfällen des Bleies — wenn auch keine Verschiedenheit in der Drehung beobachtet wurde — doch empfehlen. Man giebt vom Filtrate der Bleifällung 27,5 ccm (= 25 ccm Harn) in ein 50 ccm fassendes Messkölbchen, fügt einige Kubikcentimeter gesättigter Natriumphosphatlösung und einige Tropfen aufgeschlämmten Thonerdehydrates zu, füllt bis 50 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und polarisiert das Filtrat im 200 mm Rohr. Die abgelesene Drehung ist zu verdoppeln. Ferner soll zur Ermittlung der Gewichtsprozente die wie vorstehend gefundene Grammzahl durch das spez. Gewicht des Harnes dividiert werden; der Unterschied ist jedoch ein nur unerheblicher.

Sind die Polarisationsapparate direkt als sogenannte Diabetometer eingestellt, wie die zur Untersuchung des Harnes bestimmten Instrumente es gewöhnlich zu sein pflegen, so liest man bei der Anwendung einer 200 mm langen Beobachtungsrohre die Prozente Traubenzucker in 100 ccm Harn direkt ab, wobei jeder Skalenteil 1% , jeder Teilstrich am Nonius vom Nullpunkte des letzteren an bis inklusive des ersten mit einem Skalenteilstrich zusammenfallenden Striches gerechnet $\frac{1}{10}\%$ Zucker entspricht.

Bei Anwendung des Wild'schen Polaristrobometers ergibt sich die in 100 ccm Harn enthaltene Zuckermenge in Gramm nach der Formel:

$$C = 1,8868 + \frac{a}{L}, \text{ worin:}$$

1,8868 = Drehungskonstante des Harnzuckers,

L = Länge des Beobachtungsrohres,

a = gefundener Drehungswinkel.

Beurteilung.

Die Prüfung mit dem Polarisationsapparate ist, ein gutes Instrument vorausgesetzt, immerhin als eine genaue Methode zu bezeichnen; zudem erfordert dieselbe auch nur eine äusserst kurze Zeit. Bei einer grossen Reihe von vergleichenden Untersuchungen, die ich im Laufe der Jahre anstellte, ergaben die auf polarimetrischem Wege ermittelten Resultate im allgemeinen eine gute Übereinstimmung mit den auf gewichtsanalytischem Wege gewonnenen; Ausnahmen sind, wie überall, allerdings auch hier zu finden. Hierzu kommt eben noch die Thatsache, dass wir zum vollkommen sicheren, genau quantitativen Nachweis von Harnzucker im Harn überhaupt keine Methode besitzen.

Fehler dieser Methode können veranlasst werden durch die Anwesenheit von Eiweiss, Glykuronsäure, β -Oxybuttersäure, Lävulose, Laiose, Milchzucker im Harn.

Eiweiss ist leicht zu entfernen; Glykuronsäure und β -Oxybuttersäure drehen links, vergären aber nicht, so dass hier eine Polarisation vor und nach der Vergärung des Harnes zum Ziele führt; die beiden genannten Säuren beeinflussen die Rechtsdrehung und lassen weniger Zucker finden, was aber durch die angegebene Polarisation vor und nach der Vergärung vermieden wird.

Weiter möge bemerkt sein, dass Glykuronsäure und β -Oxybuttersäure durch Bleiessig gefällt werden; man wird daher auch den mit Bleiessig ausgefällten Harn polarisieren. Bleiessig fällt Zucker aus saurem Harn nicht; doch siehe S. 140 und 152.

Die linksdrehenden Zucker sind nachgewiesen, wenn die titrimetrische oder gewichtsanalytische Bestimmung des Zuckers höhere Werte giebt, als die polarimetrische.

Milchzucker findet sich äusserst selten (nur im Harn der Wöchnerinnen).

Rechtsdrehung kann der Harn zeigen nach Einnehmen von Medikamenten, besonders beim chronischen Morphinismus; hier führt auch die Polarisation vor und nach dem Vergären zum Ziel, da durch die Gärung die Rechtsdrehung nicht beeinflusst wird.

2. Gewichtsanalytische Bestimmung.

Prinzip.

Das durch die Anwesenheit von Zucker reduzierte, ausgeschiedene und gesammelte Kupferoxydul wird durch Wasserstoff reduziert und das Kupfer gewogen.

Bedingungen.

Der Harn darf nicht mehr als 1% Traubenzucker enthalten, ferner muss derselbe frei sein von Eiweiss und Schwefelwasserstoff. Zur Verwendung bei dieser Bestimmung bereitet man den Harn am besten so vor, dass man 100 ccm Harn mit 10 ccm neutraler Bleiacetalösung (25 : 100) fällt, filtriert und vom Filtrate 55 ccm (= 50 ccm Harn) mit 5 ccm einer gesättigten Lösung von phosphorsaurem Natron (kohlen-saures Natron, ebenso schwefelsaures Natron fällen das Blei nicht vollständig aus) zur Entfernung des Bleies versetzt. Das Filtrat hiervon findet Verwendung für den Nachweis, wobei zu beachten ist, dass 30 ccm des Filtrates = 25 ccm ursprünglichen Harnes entsprechen.

Ausführung.

Im allgemeinen wird man bei einem spez. Gewichte von 1,030 mit der fünffachen, bei einem höheren spez. Gewichte mit einer zehnfachen Verdünnung des Harnes auskommen.

In eine tiefe Porzellanschale — es giebt hierzu besondere Schalen mit Stiel — giebt man 30 ccm der Fehling'schen

Kupferlösung und 30 ccm einer alkalischen Seignettesalzlösung, die für diese Bestimmung so bereitet wird, dass 173 g Seignettesalz und 125 g Kalihydrat in Wasser gelöst und zu 500 ccm aufgefüllt werden, verdünnt mit 60 ccm Wasser und erhitzt zum Kochen. Zu der lebhaft kochenden Flüssigkeit fügt man 25 ccm oder 30 ccm von dem mit Bleilösung etc., wie vorstehend angegeben, vorbereiteten Harn, der nicht mehr als 1 %¹⁾ Zucker enthalten darf, kocht genau zwei Minuten lang und filtriert sofort das ausgeschiedene Kupferoxydul ab. Zum Filtrieren verwendet man am besten die von Soxhlet zuerst angegebenen, mit langfaserigem Asbest beschickten Filtrierröhrchen (Asbeströhrchen) (Fig. 33).

Zur Herstellung dieser zieht man ein Verbrennungsrohr von ca. 15 bis 20 mm lichter Weite etwa 6—7 cm von einem Ende entfernt auf $\frac{1}{3}$ seiner Stärke gleichmässig aus; der enge Teil darf 5—6 cm lang sein. In den Hals bringt man dann einen kurzen Pfropfen von Glaswolle, darauf weichen mit Natronlauge und Salpetersäure vorher behandelten und wieder getrockneten Asbest, der ziemlich locker einzufüllen ist; man giebt darauf wieder eine kleine Menge des Asbestes, der etwas fester angedrückt wird, verbindet das Röhrchen auf der Saugflasche mit der Saugpumpe und bringt unter ganz schwachem Ansaugen etwas von einer mit dem Asbest angesüttelten Flüssigkeit auf den Pfropfen, hierauf einen weiteren Pfropfen Asbest, dann nochmals von dem in Wasser fein verteilten Asbest und endlich noch einen Pfropfen Asbest, den man mit einer Glasröhre auf allen Seiten andrückt; die Asbestschicht soll ca. $1\frac{1}{2}$ cm betragen und das Wasser beim Ansaugen mit der Wasserluftpumpe mit der erwünschten Schnelligkeit durchlassen. Das mit heissem Wasser ausgewaschene Röhrchen wird mit Alkohol und Äther nachgewaschen, getrocknet und zuletzt unter Durchleiten von Wasserstoff geglüht. Man lässt im Wasserstoff erkalten, bringt in den Exsiccator und wiegt. Das Röhrchen ist für den Gebrauch fertig und wird nach jedesmaliger Benutzung dadurch wieder gebrauchsfähig gemacht, dass man es mit Salpetersäure, dann mit heissem Wasser, Alkohol und Äther auswäscht und wieder trocknet. Das ausgeglühte und erkaltete Röhrchen wird vor dem jedesmaligen Gebrauche gewogen.



Fig. 33.

Beim Filtrieren setzt man mittels eines Korkes ein Trichterrohr auf das Röhrchen und giebt zuerst — wobei man die

¹⁾ Wird beim Kochen der alkalischen Kupferlösung mit den 30 ccm des vorbereiteten Harnes die blaue Lösung vollkommen entfärbt, wird sie gelb, so enthält der Harn zu viel Zucker; die Lösung muss nach dem zwei Minuten dauernden Kochen noch stark blau erscheinen. Man muss daher, wenn die Lösung nur noch schwach blau erscheint oder gar entfärbt ist, das entbleite Filtrat noch weiter, eventuell 5—10 fach, verdünnen und dann den Versuch wiederholen.

angegebene Vorrichtung mit der Saugpumpe verbindet und schwach saugt — etwas heisses Wasser auf das Asbestfilter und dann die Flüssigkeit mit dem Kupferoxydul; die letzten Reste desselben werden aus der Schale mit einem Federchen und heissem Wasser herausgespült, das Filter mit Inhalt mehrere Male mit heissem Wasser, darauf mit Alkohol und Äther nachgewaschen und etwa $\frac{1}{4}$ Stunde im Trockenschranke getrocknet. Nach dem Trocknen verbindet man mittels eines Glasröhrchens und durchbohrten Stopfens das Asbestfilter mit einem Wasserstoffentwicklungs-Apparat, dessen Gas durch Kaliumpermanganatlösung zur Entfernung vom Arsenwasserstoff, hierauf zum Zwecke des Trocknens durch Schwefelsäure geleitet wird, und leitet Wasserstoff durch das schräg nach abwärts geneigte Röhrchen. Nachdem die Luft ausgetrieben ist, erhitzt man den Asbestpfropfen mässig, worauf die Reduktion des Kupferoxyduls zu metallischem Kupfer stattfindet; sind die auftretenden Wassertropfen durch Erwärmen des Rohres entfernt, so lässt man im Wasserstoffstrom erkalten und wägt dann. Die Zunahme ist die dem Zucker entsprechende Menge Kupfer; aus dem gefundenen Gehalt an diesem findet sich in nachstehender Tabelle S. 157 (nach F. Allihn) der Gehalt an Zucker. Die Filterröhrchen sind sehr bequem und können andere an ihrer Stelle empfohlene Methoden diese nicht ersetzen.

Beurteilung.

Da die Reduktion der Fehling'schen Lösung durch Traubenzucker nur für ganz bestimmte Konzentrationen der Kupfer- und Zuckerlösungen eine konstante ist und bei Änderung dieser Bedingungen das Reduktionsverhältniss sich ändert, so muss zur Erzielung genauer Resultate unter den angegebenen Bedingungen und Konzentrationen gearbeitet werden.

Man erhält mit diesem Verfahren genaue Resultate; bei Harn mit sehr geringem Zuckergehalt müsste dieser konzentriert werden. Sehr empfiehlt es sich, den, wie eingangs dieser Bestimmungsmethode erwähnt, mit Bleiacetat behandelten und von Blei wieder befreiten Harn zu verwenden.

3. Bestimmung durch Titrieren.

a) Titrieren nach Fehling.

Das Prinzip der Titration mit Fehling'scher¹⁾ Lösung beruht auf der bei der Trommer'schen Probe angegebenen Reaktion.

Bedingungen sind:

Der Harn muss frei von Eiweiss und Schwefelwasserstoff sein; ferner muss der Harn in der Weise verdünnt werden, dass er ca. 1% — besser weniger —

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 72. 106 u. 106. 75.

Allihn'sche Tabelle.

Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker
Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.
10	6,1	102	51,9	194	99,4	286	148,8	378	200,3
12	7,1	104	52,9	196	100,5	288	149,9	380	201,4
14	8,1	106	54,0	198	101,5	290	151,0	382	202,5
16	9,0	108	55,0	200	102,6	292	152,1	384	203,7
18	10,0	110	56,0	202	103,7	294	153,2	386	204,8
20	11,0	112	57,0	204	104,7	296	154,3	388	206,0
22	12,0	114	58,0	206	105,8	298	155,4	390	207,1
24	13,0	116	59,1	208	106,8	300	156,5	392	208,3
26	14,0	118	60,1	210	107,9	302	157,6	394	209,4
28	15,0	120	61,1	212	109,0	304	158,7	396	210,6
30	16,0	122	62,1	214	110,0	306	159,8	398	211,7
32	17,0	124	63,1	216	111,1	308	160,9	400	212,9
34	18,0	126	64,2	218	112,1	310	162,0	402	214,1
36	18,9	128	65,2	220	113,2	312	163,1	404	215,2
38	19,9	130	66,2	222	114,3	314	164,2	406	216,4
40	20,9	132	67,2	224	115,3	316	165,3	408	217,5
42	21,9	134	68,2	226	116,4	318	166,4	410	218,7
44	22,9	136	69,3	228	117,4	320	167,5	412	219,9
46	23,9	138	70,3	230	118,5	322	168,6	414	221,0
48	24,9	140	71,3	232	119,6	324	169,7	416	222,2
50	25,9	142	72,3	234	120,7	326	170,9	418	223,3
52	26,9	144	73,4	236	121,7	328	172,0	420	224,5
54	27,9	146	74,4	238	122,8	330	173,1	422	225,7
56	28,8	148	75,5	240	123,9	332	174,2	424	226,9
58	29,8	150	76,5	242	125,0	334	175,3	426	228,0
60	30,8	152	77,5	244	126,0	336	176,5	428	229,2
62	31,8	154	78,6	246	127,1	338	177,6	430	230,4
64	32,8	156	79,6	248	128,1	340	178,7	432	231,6
66	33,8	158	80,7	250	129,2	342	179,8	434	232,8
68	34,8	160	81,7	252	130,3	344	180,9	436	233,9
70	35,8	162	82,7	254	131,4	346	182,1	438	235,1
72	36,8	164	83,8	256	132,4	348	183,2	440	236,3
74	37,8	166	84,8	258	133,5	350	184,3	442	237,5
76	38,8	168	85,9	260	134,6	352	185,4	444	238,7
78	39,8	170	86,9	262	135,7	354	186,6	446	239,8
80	40,8	172	87,9	264	136,8	356	187,7	448	241,0
82	41,8	174	89,0	266	137,8	358	188,9	450	242,2
84	42,8	176	90,0	268	138,9	360	190,0	452	243,4
86	43,9	178	91,1	270	140,0	362	191,1	454	244,6
88	44,9	180	92,1	272	141,1	364	192,3	456	245,7
90	45,9	182	93,1	274	142,2	366	193,4	458	246,9
92	46,9	184	94,2	276	143,3	368	194,6	460	248,1
94	47,9	186	95,2	278	144,4	370	195,7	462	249,3
96	48,9	188	96,3	280	145,5	372	196,8		
98	49,9	190	97,3	282	146,6	374	198,0		
100	50,9	192	98,4	284	147,7	376	199,1		

Zucker enthält und dann muss die Zuckerlösung (der zuckerhaltige Harn) auf einmal in die Fehling'sche Flüssigkeit eingetragen werden. Besonders auch für die titrimetrischen Methoden möchte ich die Verwendung des mit Bleiacetat behandelten und vom Blei wieder befreiten Harnes empfehlen.

Die Fehling'sche Lösung — Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung — wird getrennt aufbewahrt und erst beim Gebrauch zu genau gleichen Teilen gemischt.

Sehr wichtig ist, dass man den Wirkungswert der Fehling'schen, wie auch der weiteren Lösungen (Knapp, Sachsse) erst mit einer genau 0,5% Traubenzuckerlösung bestimmt und hier und da die Lösungen kontrolliert.

Darstellung dieser Lösungen.

1. Fehling'sche Lösung.

Kupfersulfatlösung. Chemisch reiner Kupfervitriol des Handels wird einmal aus verdünnter Salpetersäure, dreimal aus Wasser umkrystallisiert und zwischen Fliesspapier trocken gepresst, dann 12 Stunden an der Luft liegen gelassen und hiervon 69,278 g im Liter mit Wasser gelöst.

Alkalische Seignettesalzlösung wird bereitet in der Weise, dass man 173 g weinsaures Natronkali in 400 ccm Wasser löst und dazu 100 ccm Natronlauge hinzufügt, welche 516 g Natriumhydroxyd im Liter enthält.

2. Traubenzuckerlösung.

0,5 g reiner Traubenzucker werden in genau 100 ccm destillierten Wassers gelöst. Sind die Lösungen richtig bereitet, so wird man bei der Bestimmung des Wirkungswertes derselben mit der Zuckerlösung von letzterer genau 20 ccm brauchen. (Ausführung wie nachstehend.)

Ausführung.

Man misst mit einer Messpipette oder lässt aus einer Bürette genau 20 ccm der genau zu gleichen Teilen abgemessenen und gemischten Lösungen in eine tiefere Porzellanschale fliessen und verdünnt mit dem vierfachen Volum Wasser.

Weiter werden 100 ccm Harn mit 10 ccm neutraler Bleiacetatlösung (Bleiessig nur bei saurer Reaktion des Harnes) gefällt, filtriert und vom Filtrate 55 ccm in einem Messkolben von 100 ccm mit 5 ccm einer gesättigten Lösung von phosphorsaurem Natron zur Entfernung des Bleies versetzt; man füllt bis 100 ccm (zur Marke) mit destilliertem Wasser auf und filtriert. Das wasserhelle Filtrat (den mit gleichen Teilen Wasser verdünnten Harn) füllt man direkt, oder wenn der Zuckergehalt ein grosser ist, erst nach noch weiterer Verdünnung (40:100, also eine fünffache Verdünnung) in eine Bürette mit Quetschhahn oder Glashahn, die man an einem Gestelle so anbringt, dass man aus der Bürette den Harn bequem in den auf einem Drahtnetze befindlichen und kochenden Schaleninhalt einfliessen lassen kann.

Man erhitzt die verdünnte Fehling'sche Lösung zum beginnenden Kochen, lässt von dem entfärbten Harn zunächst 5 ccm zufließen und einige Sekunden kochen und wartet dann, bis sich der Niederschlag von Kupferoxydul einigermaßen abgesetzt hat und man die Farbe der darüber stehenden Lösung erkennen kann. Ist die Lösung noch blau, so fügt man noch 1 ccm der Harnlösung zu und so fort, bis die Flüssigkeit über dem entstandenen roten Niederschlag von Kupferoxydul eben farblos geworden ist.

Man kann bei diesem Vorversuche die ungefähre Menge des zuzusetzenden Harnes erfahren. Man wiederholt den Versuch und lässt sofort die bei der Vorprobe verbrauchte Harnmenge zufließen, dann noch nacheinander soviel 0,1 ccm, bis die Mischung unmittelbar nach dem Kochen nicht mehr blau gefärbt erscheint; durch Neigen der Flüssigkeit kann man, da als Hintergrund die weisse Schalenwand dient, leicht erkennen, ob noch eine Blaufärbung vorhanden ist. Der Versuch ist beendet, wenn nach Zusatz von einem 0,1 ccm Harn weniger eine noch schwache Blaufärbung zu erkennen ist. Ein dritter Versuch wird dann ein sicheres Resultat ergeben. Durch die Vorprobe kann man auch ersehen, ob der Harn zuviel verdünnt ist oder noch mehr verdünnt werden muss. Zur Reduktion von 20 ccm Fehling'scher Lösung sollen, wenn die Bestimmung richtig ausfallen soll, 10—20 ccm des Harnes verbraucht werden.

1 ccm der Fehling'schen Lösung = 0,005 Zucker.

Beispiel.

Bis zur Endreaktion wurden für die angewendeten 20 ccm Fehling'sche Lösung (= 0,1 Zucker) verbraucht 20 ccm von dem Harn, der fünffach verdünnt worden war; also sind in 4 ccm ursprünglichem Harn = 0,1 g Zucker enthalten; der Harn enthält somit $4:0,1 = 100:x$.

$$x = 2,5 \text{ ‰ Zucker.}$$

Die Erkennung der Endreaktion erfordert etwas Übung; die empfohlene, bei anderen Zuckerbestimmungen ja brauchbare Resultate gebende Prüfung zur Erkennung der Endreaktion mit Ferrocyankalium — dieses giebt in dem mit Essigsäure angesäuerten Filtrate vom ausgeschiedenen Kupferoxydul bei Anwesenheit von Kupfer eine Braunfärbung — ist beim Harn nicht gut brauchbar, da beim Kochen des Harnes mit der Lauge sich aus dem Harnstoff stets Ammoniak entwickelt, das Kupferoxydul in Lösung hält und dann mit Ferrocyankalium reagiert.

Der Anfänger mag zur Kontrolle diese Prüfung vornehmen; man filtriert etwas von der heissen Flüssigkeit in der Schale rasch durch ein doppeltes Filterchen in ein Reagensglas, giebt zu einem Teile des Filtrates etwas Essigsäure oder Salzsäure und prüft mit einigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung auf Kupfer; ein brauner Niederschlag oder Rotfärbung zeigt diese Anwesenheit an; den anderen Teil des Filtrates erhitzt man mit etwas Fehling'scher Lösung; ist noch eine Spur Zucker vorhanden, so scheidet sich Kupferoxydul aus; beim Eintreten der einen oder anderen Reaktion muss man die Titration wiederholen.

Zur besseren Erkennung der Endreaktion verwendet Pavy¹⁾ eine ammoniakalische Kupferlösung, die das ausgeschiedene Kupferoxydul in Lösung hält; das Ende der Reaktion ist da, wenn die erst dunkelblaue Farbe der Lösung vollkommen farblos geworden ist. Die Lösung wird bereitet, indem 4,158 g Kupfersulfat, 20,4 g Seignettesalz, 20,4 g Kalihydrat und 300 ccm Ammoniakflüssigkeit von 0,880 spez. Gew. auf 1 l aufgefüllt werden.

Titriert wird bei Luftabschluss in einem 80 ccm fassenden Kölbchen, das mit einem zweifach durchbohrten Kork versehen ist; in der einen Bohrung findet sich das Abflussrohr der Bürette mit dem Harn, in der anderen ein mit Bimsstein und verdünnter Säure gefülltes U-Rohr zur Absorption des entweichenden Ammoniaks. In den Kolben bringt man 20 ccm der Lösung, das gleiche Volumen Wasser und lässt, nachdem man den Kolbeninhalt einige Zeit zum Kochen erhitzt hat, von dem Harn aus der Bürette zufließen, bis die Flüssigkeit gerade entfärbt ist.

1 ccm dieser Lösung = 0,005 g Zucker.

Zur Gewinnung richtiger Resultate muss man nach Hehner die Versuchsbedingungen peinlichst einhalten.

b) Titrieren nach Soxhlet.²⁾

Soxhlet verwendet 50 ccm Fehling'sche Lösung und lässt die vorbereitete Zuckerlösung (den Harn) in die kochend heisse unverdünnte Lösung eintropfen; es wird ebenso verfahren, wie bei der Methode nach Fehling. Man fährt in der Anstellung der Versuche fort, bis zwei Versuche, bei welchen nur um 0,1 ccm verschiedene Harnmengen angewendet werden, Filtrate geben, in denen das eine kupferhaltig, das andere kupferfrei ist. Hier entsprechen, da nicht verdünnt wird, 50 ccm = 0,2375 g Traubenzucker; 1 ccm = 0,00475 Zucker.

Zur titrimetrischen Bestimmung kann man sich auch mit Erfolg, nachdem man durch eine vorläufige Titration bis auf 1—2 ccm die für 5 ccm Fehling'sche Lösung nötige Harnmenge ermittelt hat, des Reischauer'schen Titrationsverfahrens — des Reischauer'schen Sternes — bedienen. Dieser besteht aus einem Stativ, an dem in Klemmvorrichtungen sechs dünnwandige, I—VI bezeichnete Reagensgläser sich befinden.

Man bringt in jedes Glas mit einer Messpipette oder aus einer Bürette 5 ccm der Fehling'schen Lösung, verdünnt mit 20 ccm Wasser und fügt je nach dem Ausfall der Vorprobe zum Inhalte die entsprechende Harnmenge aus einer Bürette. Hat man z. B. für 20 ccm Fehling 20 ccm Harn

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1880. 19. 98.

²⁾ Journ. prakt. Chem. (N. F.) 21. 227. 289.

verbraucht, so wird man in Glas I 4 ccm, in Glas II 4,5 ccm, in Glas III 5 ccm, in Glas IV 5,5 ccm u. s. w. des Harnes geben. Man stellt das Stativ mit dem Harn 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad und sieht nach dieser Zeit, ob und in welchem Glase Reduktion stattgefunden hat; ist z. B. in Glas IV (5,5 ccm) noch eine blaue Färbung der Flüssigkeit vorhanden, während sie in Glas III (5 ccm) verschwunden ist, so ist erwiesen, dass das Quantum Harn, welches 5 ccm Fehling'sche Lösung zu reduzieren imstande ist, zwischen 5,0—5,5 ccm liegen muss. Man wiederholt den Versuch in der Weise, dass man in Glas I zur Fehling'schen Lösung 5 ccm, in Glas II 5,1 ccm, in Glas III 5,2 ccm, in Glas IV 5,3 ccm, in Glas V 5,4 und in Glas VI 5,5 ccm von dem Harn giebt und wieder 15 Minuten erhitzt. Man erfährt dann leicht, wo die Reduktion vollkommen erfolgt ist.

1 ccm Fehling = 0,005 Traubenzucker (genauer 0,00494 g).

Titrieren nach Knapp.¹⁾

Prinzip.

Quecksilbercyanid wird in alkalischer Lösung zu metallischem Quecksilber reduziert. Die Titration findet wie bei der Fehling'schen statt, nur kann hier ein Indikator angewendet werden.

Der Harn darf ebenfalls nur 0,5—1% Zucker enthalten; durch einen Vorversuch ist zu ermitteln, wie weit der Harn verdünnt werden muss; auch muss der Harn eiweissfrei sein.

Erforderliche Lösung.

10 g reines trockenes Quecksilbercyanid werden in einem Literkolben in Wasser gelöst, mit 100 ccm Natronlauge vom spez. Gew. 1,145 (12,5% NaOH enthaltend) versetzt und zur Marke aufgefüllt.

0,4 g Cyanquecksilber = 40 ccm der Lösung werden durch 0,1 g wasserfreien Traubenzucker reduziert. Die Lösung lässt sich beliebig lange aufbewahren. Man stellt die Lösung erst mit einer genau 0,5% Traubenzucker enthaltenden Lösung, wie angegeben, ein; auch kontrolliert man die Lösung hier und da.

Ausführung.

Man bringt 40 ccm der Lösung ohne Wasserezusatz in eine Porzellanschale, erhitzt zum Sieden und lässt zu der heissen Lösung aus der Bürette von dem verdünnten und vorbereiteten Harn zufließen, bis alles Quecksilber als Metall ausgeschieden ist. Die anfangs trübe Flüssigkeit klärt sich gegen das Ende der Operation und nimmt eine etwas gelbliche Farbe an. Das Ende der Reaktion erfährt man, wenn ein Tropfen der Flüssigkeit auf ein Filtrierpapierstückchen gebracht, beim Darüberhalten eines mit frischem starkem Schwefelammonium befeuchteten Glasstabes eben nicht mehr braun gefärbt wird, oder man bedeckt mit dem betupften Filtrierpapier ein kleines Becherglas, in dem sich etwas des starken

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 154. 252.

Spaeth, Untersuchung des Harnes.

Schwefelammoniums befindet; so lange nicht sämtliches Quecksilber zersetzt ist, entsteht auf dem Papier ein brauner Fleck.

Eine Wiederholung der Methode ist wie bei der Fehling'schen geboten.

40 ccm = 0,1 g Traubenzucker.

Titrieren nach Sachsse.¹⁾

Bei dieser Probe dient eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Quecksilberjodid (27,5 g Quecksilberjodid, 38 g Jodkalium und 15,15 g Kalihydrat: ein Liter; 1 ccm = 0,005 Traubenzucker) in Jodkalium zur Bestimmung. Die Endreaktion nimmt man mit alkalischer Zinnoxydullösung vor, die mit Spuren der Sachsse'schen Lösung eine braune Fällung giebt.

Beurteilung der titrimetrischen Methoden.

Die Bestimmungen des Zuckers im Harn fallen bei allen titrimetrischen Proben, wie bei den anderen Bestimmungsmethoden auch, nicht ganz genau aus, da auch, wie schon des öfteren erwähnt, andere im Harn vorhandene Substanzen störend einwirken, besonders in solchen Harnen, die einerseits konzentrierter, andererseits zuckerarm sind. Diese Substanzen kann man nach dem Vergären des Zuckers für sich bestimmen und in Abzug bringen. Man bestimmt die Reduktionsfähigkeit am besten mit Fehling'scher oder Knapp'scher Lösung, wie angegeben; dann lässt man 200 ccm Harn mit etwas Hefe 24 Stunden vergären, filtriert und bestimmt die Reduktionsfähigkeit dieses Harnes, der wohl kaum mehr verdünnt zu werden braucht.

Der Unterschied zwischen den gefundenen Werten entspricht der Menge des Traubenzuckers.

Die Ausführung und Vornahme der titrimetrischen Bestimmung (Fehling, Soxhlet und Knappe) kann überall da, wo kein Polarisationsapparat zur Verfügung steht, nur empfohlen werden, da man mit einiger Übung sehr brauchbare Zahlen erhält, besonders wenn man den, wie angegeben, vorbereiteten Harn verwendet.

4. Bestimmung durch die Gärung.

Bei dem Vergären einer bestimmten Menge Zucker wird eine bestimmte Menge Kohlensäure entwickelt, die gemessen werden kann. Die Methode giebt selbstverständlich keine ganz genauen, immerhin aber für Vergleichszwecke brauchbare Resultate, besonders bei Verwendung des schon bei der qualitativen Zuckerprüfung erwähnten R. Fleischer'schen²⁾ Gärungsapparates, dessen Konstruktion aus nebenstehender Abbildung (Fig. 34) leicht ersichtlich wird. Man verwendet, um von dem wechselnden Barometerdruck und den Schwankungen der Temperatur unabhängig zu sein, von diesem Apparate zwei Exemplare, den einen für die auszuführende Bestimmung, den anderen ganz gleichen vorher geprüften zur Kontrollbestimmung.

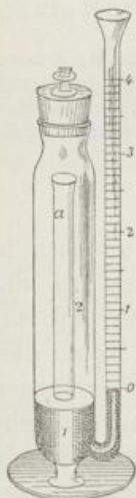


Fig. 34.

Ausführung.

Man füllt in beiden Apparaten den mit 1 bezeichneten Raum mit reinem Quecksilber bis zur Marke 0 (ganz genau),

¹⁾ Chem. Centrbl. 1877. 471.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1877. 31.

ohne diesen Raum mit der warmen Hand zu berühren. Nun werden von dem zu untersuchenden Urin, wenn derselbe beim Kochen mit Kali- oder Natronlauge nur gelbe oder ganz schwache Braunfärbung zeigt, 10 ccm genau abgemessen, in ein 100 ccm fassendes Messkölbchen gebracht und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Von diesem verdünnten gemischten Harn werden 10 ccm (= 1 ccm ursprünglicher Harn) in ein Bechergläschen abgemessen, ca. 1 g frischer zuckerfreier (S. 143) Presshefe, die jetzt ja sehr rein zu haben ist, dazugegeben, die Presshefe mit einem Glasstäbchen verrührt und der Inhalt des Bechergläschens vermittelst eines krumm gebogenen Trichters durch die obere Öffnung von 2 in den Raum 2 des Apparates gebracht; das Gläschen spült man mit 10 ccm Wasser nach und giebt dieses durch den Trichter gleichfalls in den Raum 2. (Man muss sich in Acht nehmen, nichts in die Röhre *a* zu bringen.) Dann wird der Apparat mit dem Gummikork, dessen Schraube anfangs noch gelöst ist, verschlossen und durch die Anziehung der Schraube völlig luftdicht abgesperrt.

In ganz gleicher Weise wird der Kontroll-Apparat gefüllt, nur werden statt des Urins 10 ccm einer Traubenzuckerlösung verwendet, die in 1 Liter genau 1 g reinsten Traubenzuckers enthält.

Beide Apparate werden dann an einem warmen Orte entweder in der Nähe des Zimmerofens oder in wissenschaftlichen Instituten in der Nähe des Brütofens stehen gelassen.

Nach 24 Stunden werden beide Apparate in Wasserleitungswasser von ca. 15° C. so gestellt, dass die eingeteilten Röhren neben einander stehen und das Niveau des Quecksilberstandes in beiden gut verglichen werden kann.

Durch die bei der Gärung aus dem Zucker entwickelte Kohlensäure, die durch *a* auf das Quecksilber — die Röhre mündet unter der Glasplatte in 1 — drückt, wird die Quecksilbersäule in der Skalenröhre in die Höhe getrieben, und zwar ist diese Steigung bei gleichen Zuckermengen auch eine gleiche oder muss eine gleiche sein. (Man thut deshalb auch gut, die beiden Apparate vor der ersten Verwendung in der angegebenen Weise mit einer Traubenzuckerlösung auf ihre Genauigkeit und ihr Zusammenstimmen einzustellen und zu prüfen.)

Steht das Niveau des Quecksilbers in beiden Apparaten vollständig gleich, so enthält der Harn genau 1% Zucker, da in 1 ccm des angewendeten Harnes soviel Zucker vorhanden

ist, wie in den 10 ccm der Zuckerlösung = 0,01 g, in 100 ccm Harn mithin 1‰; steht das Quecksilberniveau im Kontroll-Apparat auf 1, im anderen auf 1,5, so enthält der Urin 1,5‰ Zucker.

Nun muss aber der Harn, wenn er bei der Vorprobe, Kochen mit Kalilauge, braun bis schwarz gefärbt wird, noch mehr verdünnt werden; man verdünnt dann 10 ccm auf 200 ccm und verwendet 10 ccm; in diesem Falle muss man natürlich beim Ablesen und bei der Berechnung der Verdünnung Rechnung tragen; im angezogenen Beispiel müsste die abgelesene Menge verdoppelt werden.

R. Fleischer lässt 1 ccm Harn, ebenso 1 ccm einer 1‰ Zuckerlösung nach dem Zugeben von Hefe und 20 ccm Wasser in den Apparat bringen; ich verwende die oben angegebenen verdünnten Mengen, um Fehler möglichst auszuschliessen.

Beurteilung.

Es existieren auch noch andere ähnliche Apparate, doch möchte ich für vergleichende Zuckerbestimmungen den Fleischer'schen Apparat als besonders brauchbar empfehlen, da man mit einiger Übung ganz brauchbare Resultate erhält.

Nach Roberts lässt sich der Zuckergehalt eines Harnes aus dem Unterschiede des spez. Gewichtes vor und nach der Gärung bestimmen; Roberts multipliziert die durch die Gärung entstandene Differenz mit dem Faktor 230, da Roberts durch Versuche festgestellt hat, dass das Zurückgehen des spez. Gewichtes um 0,001 g einem Glykosegehalt von 0,230 g entspricht.

Betonen muss ich gleich, dass die Bestimmung des spez. Gewichtes äusserst sorgfältig vorgenommen werden muss, am besten und sichersten vermittelt des Pyknometers (S. 11).

Ausführung.

Man ermittelt das spez. Gewicht des Harnes direkt bei 15° C.; dann lässt man 100—200 ccm Harn mit einem haselnussgrossen Stückchen zuckerfreier Presshefe vergären in einem Kolben, den man mit einem Kork, durch welchen eine in eine Spitze ausgezogene Steigröhre geht, verschlossen hat. Nach 24—28stündigem Stehen bei 20—25° filtriert man durch ein trockenes Filter und bestimmt im Filtrat bei 15° C. wieder das spez. Gewicht.

Beispiel.

Spez. Gewicht des Harnes direkt	1,0256
„ „ „ „ nach dem Vergären	1,0157
	0,0099

der Harn enthält daher $0,0099 \cdot 230 = 2,27\%$ Zucker.

Beurteilung.

Der Faktor ist kein konstanter, da sich ein solcher überhaupt nicht finden lässt; infolge dessen sind die gewonnenen Resultate nur annähernde und sind bei geringen Zuckermengen im Harn wohl kaum brauchbare; zudem erfordert die Ausführung viel Arbeit und Sorgfalt.

Auf demselben Prinzip, wie die eben besprochene Methode, beruht die Bestimmung mit dem J. Schütz'schen¹⁾ Aräosaccharimeter. Ein mit diabetischem Harn gefülltes Gefäß wird vor und nach dem Vergären des Harnes (des Zuckers) verschieden tief in eine Flüssigkeit eintauchen. Schütz hat ein in Form eines Urometers konstruiertes Gefäß hierzu erfunden; zum Gebrauche füllt man den unteren, breiteren Teil mit Harn bis zum Füllstrich und giebt nun 1 g frische Presshefe und soviel Schrotkörner hinzu, dass die Spindel bis zur Marke 0% Zucker in Wasser eintaucht. Dann verteilt man durch sorgfältiges Schütteln die Hefe und lässt die Gärung sich bei Zimmertemperatur innerhalb 24—36 Stunden vollziehen; man taucht hierauf die Spindel aufs neue ins Wasser und liest das spezifische Gewicht und den Prozentgehalt des Zuckers ab. Nach Schütz soll man bis auf $\frac{1}{4}\%$ genau den Zuckergehalt bestimmen können. Die genaue Gebrauchsanweisung ist den Apparaten beigegeben.

5. Gasvolumetrische Bestimmung.

Nach E. Riegler²⁾ wird der Traubenzucker gasvolumetrisch bestimmt.

Prinzip.

Fehling'sche Lösung wird durch überschüssiges salzsaures Phenylhydrazin unter Entwicklung von Stickstoff vollständig reduziert; wird das gleiche Volumen Fehling'scher Lösung erst durch Traubenzucker zum Teil reduziert und dann mit Phenylhydrazin behandelt, so wird die nun entwickelte Stickstoffmenge, da ein Teil der Fehling'schen Lösung durch den Traubenzucker reduziert wurde und nur der Rest der unzersetzten Fehling'schen Lösung auf das Phenylhydrazin einwirken kann, kleiner sein, als die aus Fehling'scher Lösung und Phenylhydrazin allein entwickelte Menge.

Zur Ausführung bedient sich Riegler eines einfach zu handhabenden Apparates;³⁾ nach Beendigung der nur wenig Zeit in Anspruch nehmenden Bestimmung können die Zuckerprozentage im Messrohre abgelesen werden. Gebrauchsanweisung liegt dem Apparate bei.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1891. 39.

²⁾ Apoth.-Zeitg. 1897. 12. 168—169.

³⁾ Von P. Altmann, Berlin, zu beziehen.

Beurteilung.

Über die Brauchbarkeit der Methode vermag ich nicht zu urteilen, da noch von keiner Seite, auch von mir nicht, Versuche mit dem Apparate angestellt wurden. Die leichte und schnelle Ausführbarkeit der Methode wäre ein bedeutender Vorzug vor anderen.

Wahl der Methoden für die quantitative Bestimmung.

Die genauesten und sichersten Resultate erhält man durch die polarimetrische Bestimmung, die zugleich die einfachste ist und die wenigste Zeit erfordert. Selbstverständlich muss ein guter Apparat zur Verfügung stehen, und dann müssen die angegebenen Bedingungen eingehalten werden. Auch die gewichtsanalytische Bestimmung ergibt genaue Resultate.

Wenn ein Polarisationsapparat nicht zur Verfügung steht, dann wird man die titrimetrischen Methoden zu Rate ziehen (Fehling, Soxhlet, Knapp). In manchen Fällen, die bereits erörtert sind (S. 154), wird es zweckmässig erscheinen, den Harn vor und nach der Vergärung zu polarisieren und auch eine Zuckerbestimmung vor und nach der Vergärung vorzunehmen. Milchzucker vergärt nicht mit Alkoholhefen; reduziert Fehling. Siehe Seite 173.

Gute Dienste leistet der Fleischer'sche Gärapparat, der für klinische Zwecke vollkommen brauchbare Resultate giebt und dessen Handhabung eine leichte, bequeme und reinliche ist.

Kurzer Gang zur Prüfung des Harnes auf Zucker und Charakterisierung eines Harnes als diabetischer Harn.

Man wird mit dem übergebenen, event. noch vorbereiteten (Entfernung von Eiweiss, Benützung des mit Bleiacetat behandelten und wieder wie angegeben entbleiten Harnes) Harn, entweder vom Tagesharn oder von dem nach einer bestimmten Mahlzeit entleerten Harn, erst qualitative Reaktionen anstellen und zwar unter Beobachtung der genau erwähnten Vorsichtsmassregeln in erster Linie die Probe mit Fehling'scher Lösung (Nr. 2), dann die Nylander'sche Probe (Nr. 3). Fallen diese Proben positiv aus, dann kann man den Harn polarisieren und daraus die vorhandene Zuckermenge berechnen oder in Ermangelung eines Polarisationsapparates die quantitative Bestimmung nach Fehling oder Soxhlet durch Titrieren ausführen.

Sind die angegebenen qualitativen Proben unsicher oder negativ ausgefallen, oder ist man selbst nicht sicher, ob die mehr oder weniger scharf eingetretenen Reaktionen nicht durch die bei den Reaktionen erwähnten fremden Stoffe herbeigeführt worden sein können, dann wird man zur Bestätigung und Sicherung des Ergebnisses die Phenylhydrazin- und Gärprobe, wie angegeben, vornehmen. Der Ausfall der beiden letzten Proben in Verbindung mit der polarimetrischen oder

titrimetrischen Bestimmung hilft wohl in den meisten Fällen über eventuell bestehende Zweifel hinweg.

Beim Vorhandensein von Zucker wird man noch das spez. Gewicht des Harnes feststellen und schliesslich auch nicht vergessen, auf die Gegenwart von Aceton, Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure im Harn zu prüfen.

Im allenfalls vorhandenen Sedimente von Zuckerharn sind manchmal Hefezellen zu finden.

Von Vorteil ist es endlich immerhin noch, die in 24 Stunden entleerte Harnmenge zu kennen; hat man nicht selbst Gelegenheit, diese genau zu messen, so mag man sich die Menge, die man von dem Laien mit einem Schoppen —, $\frac{1}{2}$ Liter —, oder Literglas abmessen lässt, mitteilen lassen. Es kommt in diesen Fällen auf einen Ausfall von 10–20 g, der bei dem vom Laien vorgenommenen primitiveren Abmessen entstehen kann, ja nicht an.

22. Inosit. $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O$ oder $C_6H_6(OH)_6$.

Der Inosit ist als Hexahydroxybenzol aufzufassen und ist kein Zucker. Im normalen Harn soll er in Spuren vorhanden sein, etwas reichlicher nach ganz übermässigem Trinken (Polyurie); er kommt ferner vor bei Albuminurie, bei Diabetes mellitus.

Darstellung.

Der Inosit muss stets erst aus dem Harn abgeschieden werden, wenn er erkannt werden soll.

Man konzentriert nach Boedecker und Cooper-Lane¹⁾ mehrere Liter Harn, nachdem zuerst das Albumin abgeschieden ist, bis auf den vierten Teil, fällt dann mit Barytwasser aus, filtriert und versetzt das Filtrat mit soviel Bleiessig, als noch ein Niederschlag entsteht. Den Bleiessigniederschlag lässt man zwei Tage stehen, filtriert ihn dann, wäscht mit wenig Wasser aus und suspendiert den Niederschlag in Wasser, worauf er durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Man filtriert das Schwefelblei ab, wäscht es aus, dampft das Filtrat bis auf ein kleines Volumen ein und lässt an einem kühlen Ort stehen. Die nach einiger Zeit abgeschiedenen Harnsäurekrystalle werden abfiltriert, das Filtrat möglichst konzentriert und kochend mit

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 1861. 117. 118.

dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt. Entsteht eine starke, dem Glase anhaftende Fällung, so giesst man die heisse alkoholische Lösung ab; bei dem Ausfallen eines flockigen, nicht klebrigen Niederschlages filtriert man durch einen erwärmten Trichter die heisse Lösung und lässt erkalten.

Sind nach 24 Stunden Inositrkrystalle ausgeschieden, so filtriert man und spült die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol ab. Man löst dann auch zweckmässig den auf Zusatz von heissem Alkohol erhaltenen Niederschlag in wenig kochendem Wasser, fällt nochmals mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol und giesst wieder ab.

Sind aber keine Krystalle von Inosit ausgeschieden, so versetzt man das klare, kalte alkoholische Filtrat nach und nach unter Umschütteln mit Äther, bis eine milchige Trübung entsteht, und lässt 24 Stunden stehen. Bei hinreichend zugesetztem Äther (zuviel Äther schadet nicht) ist aller Inosit in Form schöner perlmutterglänzender Blättchen abgeschieden.

Nachweis.

1. Dampft man etwas Inosit in einer kleinen Porzellanschale mit etwas Salpetersäure bis fast zur Trockene ein, bringt vorsichtig Spuren Ammoniak hinzu und befeuchtet mit Chlorkaliumlösung, so entsteht beim Verdunsten und Abrauchen bis zur Trockene eine rosenrote Färbung. (Scherer.)

Kohlehydrate geben diese Reaktion nicht.

2. Fügt man zu einer konz. Lösung von Inosit in einer Porzellanschale einen Tropfen Quecksilbernitratlösung, so entsteht ein gelblicher Niederschlag, der bei vorsichtigem Erwärmen rot wird; die Farbe verschwindet beim Erkalten, kommt aber beim Erwärmen wieder. (Gallois.)

Eigenschaften.

Der Inosit bildet meist blumenkohlartig gruppierte Krystalle, die an trockener Luft schnell verwitern; er löst sich in Wasser mit süßem Geschmacke und ist in starkem Alkohol und Äther unlöslich; seine Lösungen sind optisch inaktiv; er giebt mit Phenylhydrazin keine Verbindung und gärt mit Bierhefe nicht. Alkalische Kupfer- und Wismutlösung, auch Knapp'sche Lösung, wird nicht reduziert. Aus wässriger

Lösung wird er nicht durch neutrales, wohl aber durch basisches Bleiacetat gefällt.

23. *Linksdrehende Zucker.*

Es wurden diabetische Harne gefunden, in welchen der durch die quantitative Bestimmung ermittelte Zuckergehalt bei weitem mehr betrug, als der durch Polarisation gefundene; dass in diesen Fällen diese Beeinflussung der polarimetrischen Bestimmung nicht durch andere Körper, als welche wir die β -Oxybuttersäure, die gepaarten Glykuronsäuren kennen, hervorgerufen wurde, wurde ermittelt und zugleich festgestellt, dass diese Linksdrehung durch einen linksdrehenden Zucker (Lävulose, Fruchtzucker) und einen weiter zuckerähnlichen Körper (die von Leo¹⁾ im diabetischen Harne entdeckte Laiose) bedingt sein muss.

Anscheinend kommen diese Zucker oder zuckerähnlichen Stoffe im Harne recht selten vor, gleichwohl verdient doch das Auftreten linksdrehender reduzierender Substanzen bei dem quantitativen Zuckernachweis seine Beachtung.

A. *Laiose*. $C_6H_{12}O_6$.

Wurde im diabetischen Harn gefunden.

Darstellung.

Man gewinnt diesen Zucker aus dem Harn, indem man denselben mit Bleiessig fällt und filtriert; zum Filtrat giebt man Ammoniak, wäscht diesen Niederschlag, der die Laiose neben Dextrose enthält, gut aus, verteilt ihn in Wasser und zerlegt denselben mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird im Vakuum konzentriert, zuletzt über Schwefelsäure. Der Sirup wird in Methylalkohol gelöst und aus der Lösung die Dextrose durch Baryt in Methylalkohol gelöst ausgefällt; nach raschem Filtrieren lässt man das Filtrat über Schwefelsäure stehen, um noch vorhandenes Ammoniak zu entfernen und kohlensauren Baryt und Zuckerbaryt, der unlöslich ist, abscheiden zu lassen.

Aus dem Filtrat wird der überschüssige Baryt durch Kohlensäure gefällt, der Methylalkohol im Vakuum abdestilliert und aus dem mit Wasser aufgenommenen Rückstande noch vorhandener Baryt durch Schwefelsäure entfernt. Die wässrige Lösung enthält die Laiose, die von beigemengtem Chlor durch Silberlösung (kein Überschuss) getrennt werden kann.

¹⁾ Virchow's Archiv. 1887. 107. 108.

Nachweis.

Man stellt die Substanz dar, wenn bei genauer Prüfung in einem Harn erheblich mehr Zucker bei der quantitativen Prüfung gefunden wurde, wie bei dem polarimetrischen Nachweis, und prüft diese Substanz durch die Gärung und die Trommer'sche Probe mit Fehling'scher Lösung.

Eigenschaften.

Heller Sirup, in Wasser, weniger in Methylalkohol löslich, schwer in Alkohol, nicht in Äther, Chloroform. Schmeckt scharf salzartig; dreht links; durch Bleiessig und Ammoniak wird die Laiose quantitativ gefällt; reduziert Metalloxyde, gärt nicht, selbst nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure.

B. Lävulose. Fruchtzucker. $C_6H_{12}O_6$.

Findet sich sehr selten als Begleiter der Glykose.

Darstellung.

Diese ist schwer, da ein Verfahren zur Trennung der Glykose und Lävulose nicht bekannt ist. Man könnte den Zuckergehalt des Harnes einmal durch Titrieren nach Fehling und nach Sachsse oder durch Polarisation bestimmen. Sichere Resultate erhält man nicht.

Jedenfalls ist die Anwesenheit erwiesen, wenn der Harn schwächer rechts dreht, als einem quantitativ ermittelten Zuckergehalt entspricht, und sowohl die übrigen störenden Körper, wie die sogenannte Laiose, nicht nachzuweisen sind.

Leicht erfährt man, ob die Linksdrehung oder Verminderung der Rechtsdrehung von einer anderen Substanz als Zucker herrührt, wenn man vergärt; diese Linksdrehung wird bei Anwesenheit der nicht Zucker enthaltenden Substanzen, auch Laiose, bleiben, bei Lävulose-Anwesenheit verschwinden.

Eigenschaften.

Dreht links; die sonstigen Reaktionen sind denen der Dextrose ähnlich.

24. Pentosen. Pentaglykosen. $C_5H_{10}O_5$.

Eine von E. Salkowski und Jastrowitz¹⁾ im Menschenharn beobachtete neue Zuckerart hat sich bei weiterer Untersuchung als eine Pentose erwiesen. Seitdem hat sich das Vorkommen von Pentosen im Harn als ein nicht ganz seltenes

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1892. 31. 724; 1896. 35. 772.

herausgestellt. Nach E. Külz und J. Vogel sind Pentosen im Harn von Diabetikern schwerer Form und bei Pankreas- und Phlorizindiabetes der Tiere ein gewöhnliches Vorkommen.

Diese Pentosen oder Pentosane (Arabinose, Xylose, Rhamnose) entstehen nicht nur bei tieferer Zersetzung der Glyko- oder Nucleoproteide des Pankreas, sondern, wie es scheint, auch aus analogen Bestandteilen des Muskelgewebes.

Nach dem Genuss von Kirschen und gedörrten Pflaumen, die fünfwertige Zucker- oder deren Muttersubstanzen (Pektinstoffe, Pflanzengummi) enthalten, finden sich im Harn Pentosen vor.

Enthält ein Harn blos Pentose und keine Dextrose, so ist er optisch inaktiv und gärt nicht; er reduziert Fehling'sche Lösung erst nach längerem Erhitzen; die Reaktion mit Nylander'schem Reagens tritt sehr schwach auf.

Nachweis.

Prinzip der Methode.

Pentosen spalten beim Erwärmen mit Salzsäure Furfurol ab, das mit Phloroglucin reagiert.

Man löst etwas Phloroglucin unter Erwärmen in 5 bis 6 ccm rauchender Salzsäure, so dass ein kleiner Überschuss ungelöst bleibt, teilt in zwei annähernd gleiche Teile und setzt nach dem Erkalten der einen Hälfte $\frac{1}{2}$ ccm des zu prüfenden Harnes, der anderen ebensoviel eines ungefähr gleich konzentrierten normalen Harnes zu, nachdem man die Harnen zweckmässig mit etwas Tierkohle entfärbt hat. Taucht man beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser, so zeigt der pentosehaltige Harn in wenigen Augenblicken einen intensiv roten oberen Schaum, von dem sich die Färbung allmählich nach unten ausbreitet, während der normale Harn seine Farbe nicht merklich oder nur unbedeutend verändert.

Der pentosehaltige rotgefärbte Harn zeigt dann, spektroskopisch untersucht, einen Absorptionsstreifen zwischen D und E. Wird die Probe mit dem gleichen Volumen Wasser und dem doppelten Volumen Amylalkohol versetzt und geschüttelt, so geht der Farbstoff in Amylalkohol über. (Tollens-Salkowski.¹⁾)

¹⁾ Centrbl. med. Wissenschaft. 1892. 594.

Beurteilung.

Die Reaktion mit Phloroglucin und Salzsäure giebt allerdings auch die Glykuronsäure.

Eine Trennung der Pentosen von der Dextrose gelingt auf Grund der ungleichen Löslichkeit der Osazone; das Pentosazon löst sich schon bei 60°, während bei dieser Temperatur (nicht aber bei 100°) Glykosazon so gut wie unlöslich ist. Man zieht daher den mit Phenylhydrazin (S. 145) aus Harn nach 1½ stündigem Erhitzen erhaltenen krystallisierten Niederschlag mit Wasser von 60° aus; das in Lösung gegangene Pentosazon wird durch Umkrystallisieren leicht auf den richtigen Schmelzpunkt gebracht. Die nadelförmigen Krystalle der Osazone der Arabinose und Xylose schmelzen bei 159°.

25. *Milchzucker.* $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Der Milchzucker kommt im Harne selten vor; nur wurde er wiederholt (im Maximum 1%) im Harne von Frauen (Wöchnerinnen) bei Milchstauung (Laktosurie) vorgefunden.

Darstellung.

Nach Hoffmeister¹⁾ wird der Harn (500—1000 ccm) mit neutralem Bleiacetat versetzt, solange eine Fällung eintritt, filtriert, der Niederschlag ausgewaschen und das Filtrat mit Bleiacetat und Ammoniak versetzt und einige Stunden stehen gelassen. Der den Milchzucker enthaltende Niederschlag wird abgesaugt, mit etwas Wasser nachgewaschen und das Filtrat geprüft, ob es noch rechts dreht oder reduziert; in diesem Falle wird die Fällung mit Bleiacetat und Ammoniak wiederholt. Der oder die vereinigten Niederschläge werden in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, dieser durch Durchsaugen eines Luftstromes entfernt und mit frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt. Man filtriert, behandelt das Filtrat zur Entfernung des Silbers wieder mit Schwefelwasserstoff, filtriert nochmals und dampft das Filtrat nach Zusatz von kohlensaurem Baryt zur Bindung etwa vorhandener Essigsäure soweit ein, dass noch kein sirupartiger Rückstand entsteht, der mit soviel 90% Alkohol versetzt wird, bis ein flockiger

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1877. 1. 104—108.

Niederschlag entsteht, der aber keine optisch wirkende Substanz enthalten darf.

Das alkoholische Filtrat setzt beim Eintrocknen im Exsikkator Krystalle ab, die durch Umkrystallisieren, Entfärbung mit etwas Tierkohle oder durch Extraktion mit kochendem (60—70 %) Alkohol gereinigt werden.

Nachweis.

Der Nachweis des Milchzuckers neben Traubenzucker ist nicht einfach und ist man genötigt, den Zucker aus dem Harn zu isolieren.

Die Zunahme des Drehungs- und Reduktionsvermögens einer Lösung des isolierten Zuckers nach mehrstündigem Kochen mit 2—5 % Schwefelsäure, der Schmelzpunkt (203,5), das negative Verhalten gegen das Barfoed'sche Reagens (Lösung von 0,5 g essigsaures Kupfer in 100 ccm Wasser und 1 g Essigsäure) sichern den Nachweis desselben. Glykose reduziert im Gegensatz zu Laktose Barfoed'sches Reagens.

Eigenschaften.

Der wie angegeben erhaltene Milchzucker krystallisiert in vierseitigen Prismen, verliert sein Wasser bei 130°; er löst sich in Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol und Äther. Er reduziert Metalloxyde in alkoholischer Lösung, dreht die Polarisationsebene nach rechts. Mit verdünnten Säuren gekocht geht er in Traubenzucker und direkt gärungsfähige Galaktose über. Er unterliegt der alkoholischen Gärung durch Alkoholhefen nicht.

26. Tierisches Gummi. $C_6H_{10}O_5 + H_2O$.

Soll nach Landwehr¹⁾ stets, jedoch in verschiedenen Mengen im Harn vorkommen.

Darstellung.

Beim Behandeln des Harnes mit Kupfervitriol und Natronlauge setzt sich die Kupferverbindung des Gummis ab, die sich beim Kochen nicht schwärzt, wie das Kupferhydrat. Der ausgewaschene, getrocknete Niederschlag wird in recht wenig Salz-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1882. 6. 74; 1884. 8. 122; 1885. 9. 368. Pflüger's Archiv 1886. 39. 193; 1887. 40. 35. Centrbl. med. Wissenschaft. 1885. 369.

säure gelöst, 3 Vol. absoluten Alkohols hinzugegeben und auf 60° erwärmt. Der feinflockige Niederschlag wird nacheinander wiederholt in Wasser gelöst und durch Alkohol gefällt.

Nachweis.

Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wird es in eine zuckerartige, Fehling'sche Lösung reduzierende Substanz (Gummose) unter Abscheidung von braunen Huminsubstanzen umgewandelt.

Eigenschaften.

Weisses mehlintiges Pulver; an feuchter Luft wird es gummiartig; durch Jod erfolgt keine Färbung zum Unterschiede von Glykogen.

27. *Dextrin, Erythrodextrin, Glykogen.* $C_6H_{10}O_5$.

Im Harne von Diabetikern, besonders nach dem Gebrauche von Karlsbader Wasser beim Abnehmen und Verschwinden des Zuckers, wurden dextrinartige, mit Jod sich braunrot färbende Substanzen gefunden, die alkalische Kupferlösung nach langem Kochen erst reduzierten. Die Substanzen wurden aus Harn durch Fällen mit Alkohol, Lösen der Fällung in Wasser und Wiederfällen mit Alkohol etc. gewonnen. Man ist nicht sicher, ob die isolierten Körper zu den Dextrinen gehören oder Glykogene sind. Erstere Ansicht vertrat Reichardt,¹⁾ letztere Leube.²⁾ Mit Jod färben sie sich braunrot.

28. Verbindungen der aromatischen Reihe.

Im Harne kommen regelmässig aromatische Substanzen vor, welche einerseits unter normalen Verhältnissen bei der Darmfäulnis aus den Eiweissstoffen (durch bakterielle Zersetzung derselben) entstehen, oder Benzolderivaten der Pflanzennahrung entstammen. Im vermehrten Zustande treten diese Stoffe auf, wenn die Bedingungen für die Wirkung der Fäulnisfermente besonders günstig sind, sowohl innerhalb des Darmes, als auch bei Fäulnisprozessen ausserhalb des Darmes (z. B. bei eitrigen Geschwüren, Carcinomen etc.). Diese durch die geschilderten Prozesse gebildeten Stoffe, Phenol, Kresol (Parakresol), Brenzkatechin, Indol, Skatol, kommen nicht als solche im Harne

¹⁾ Archiv Pharm. 1874. 5. 502.

²⁾ Virchow's Archiv. 1888. 113. 391.

vor, sondern in Verbindung mit Schwefelsäure als Phenyl-, Kresyl-, Brenzkatechin-, Indoxyl- und Skatoxylschwefelsäure. Auch dem Körper direkt zugeführte Phenole erscheinen im Harn als Ätherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser auf Kosten der Sulfatschwefelsäure. (S. 49.)

Reicht die vorhandene Schwefelsäure nicht aus, um die dem Körper zugeführte grössere Menge Phenol in Phenolschwefelsäure zu verwandeln, so tritt ein Teil als freies Phenol, ein Teil in Form der Phenolglykuronsäure aus.

Diese Phenolschwefelsäuren sind nicht flüchtig und werden von Mineralsäuren in ihre betreffenden Phenole und Schwefelsäure zerlegt. Die Bestimmung des Phenols läuft nach diesem Gesagten also mit der sogenannten gepaarten Schwefelsäure parallel, so dass die Bestimmung dieser beiden zu demselben Zweck führen werden; einfacher ist wohl die Phenolbestimmung.

A. Das Phenol. $C_6H_5.OH$.

Im Menschenharn sind nur geringe Mengen (in der Tagesmenge 0,03 g) (reichlicher nach Pflanzennahrung) vorhanden. Vermehrt ist das Phenol bei Stauungen des Darminhaltes, Dünndarmes und Dickdarmes, bei Eiterungen, bei Pyämie; indikanreicher Harn enthält zugleich viel Phenol.

Darstellung.

Das Phenol kann nicht direkt im Harn nachgewiesen, sondern muss erst isoliert werden. Man destilliert Harn nach Zusatz von Schwefelsäure (der Harn soll 5% davon enthalten) so lange, bis das aus der Ätherschwefelsäure abgespaltene Phenol überdestilliert ist und stellt mit dem Destillate, das man zweckmässig zur Entfernung von Benzoësäure und Salicylsäure mit reinem kohlensaurem Natron neutralisiert und nochmals destilliert, die Reaktion auf Phenol an.

Eigenschaften.

Reines Phenol krystallisiert in Nadeln, ist in heissem Wasser, Alkohol, Äther löslich, schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Lösungen der Alkalihydroxyde; Phenol verbindet sich mit kohlensauen Alkalien, welche Verbindungen nicht in der Kälte, aber in der Wärme zerlegt werden.

Qualitativer Nachweis.

1. Neutrale Eisenchloridlösung giebt mit Phenollösungen blauviolette Färbung.

2. Versetzt man Phenollösung bis zur dauernden Gelbfärbung mit Bromwasser, so entsteht ein gelblich-weisser krystallinischer Niederschlag von Tribromphenolbrom, der in Natronlauge löslich ist und durch Salzsäure wieder, aber als Tribromphenol, in gelben Nadeln ausgeschieden wird. Dieser löst sich in Alkohol und Alkalien. Sehr empfindliche Reaktion.
3. Phenol giebt die Millon'sche Reaktion; man kocht eine verdünnte Phenollösung mit einem Überschuss von salpetersaurem Quecksilberoxyd und giebt eine Lösung von salpetersaurem Kali hinzu; es entsteht eine schön dunkelrote Färbung. (Plugge.)
4. Ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf vorsichtigen Zusatz von unterchlorigsaurem Salz (Lösung von 1 Teil Chlorkalk : 20 Wasser) oder von Bromwasser schön blau.
5. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol Stickstoff.

Quantitative Bestimmung.

Bei der Bestimmung von Phenol wird sowohl Phenol wie auch Parakresol und Kresol zusammenbestimmt; das Tribromkresolbrom zersetzt sich unter Bromwasser bald in Tribromphenol und Kohlensäure.

Man nimmt von dem zu prüfenden Harn 300—500 ccm, eventuell mehr, macht ihn mit Kalilauge alkalisch und konzentriert ihn in einer Schale auf den fünften Teil, da konzentrierter Harn mehr Phenol liefert, als der nicht konzentrierte. Dann bringt man den Schaleninhalt in einen Kolben, giebt eine Platinspirale zur Verhinderung des Stossens beim Kochen in den Kolben und mischt soviel Schwefelsäure hinzu, dass der Harn ca. 5% davon enthält. Man verbindet den Kolben mit Kühler und Vorlage und destilliert so lange, am besten unter Durchleiten von Wasserdämpfen durch den Kolbeninhalt, bis eine im Reagensrohr aufgefangene Probe auf Zusatz von Bromwasser nicht mehr getrübt wird. Das Destillat neutralisiert man mit einer Lösung von reinem kohlensaurem Natron, giebt es in den Kolben zurück und destilliert von neuem das Phenol über. Im Destillate kann die Phenolbestimmung auf ge-

wichtsanalytischem und titrimetrischem Wege vorgenommen werden.

1. Bestimmung auf gewichtsanalytischem Wege.

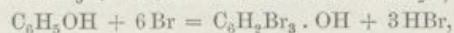
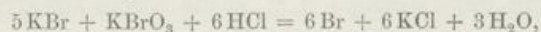
Man versetzt das Destillat bis zur bleibenden Gelbfärbung mit Bromwasser, lässt 24 Stunden an einem kalten Orte stehen und sammelt den entstandenen Niederschlag auf einem gewogenen Filter, das man mit Wasser, das eine Spur Brom enthält, auswäscht. Man lässt das Filter recht gut abtropfen und trocknet dieses mit Inhalt 12—24 Stunden über Schwefelsäure oder Chlorcalcium oder im Vakuum und wiegt.

Der aus Tribromphenol $C_6H_2Br_3OH$ bestehende Niederschlag enthält in 331 Teilen 94 Teile Phenol.

2. Titrimetrische Bestimmung nach Koppeschaar.¹⁾

Prinzip.

Eine Lösung von bromsaurem Natron und Bromnatrium entwickelt mit Salzsäure Brom, das sich mit Phenol zu Tribromphenol verbindet; das überschüssige Brom macht aus Jodkalium eine äquivalente Menge Jod frei, das durch Thiosulfat gemessen wird.



Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{10}$ -Thiosulfatlösung (S. 69).

2. Lösung von bromsaurem Natron. Eine Lösung von 60—70 g einer Mischung von $NaBrO_3 + NaBr$ im Liter; die Mischung erhält man dadurch, dass man eine Lösung von reinem Ätznatron mit überschüssigem Brom zur Trockne eindampft und den Rückstand durch Zerreiben gut mischt.



3. Eine Lösung von Jodkalium (83 g KJ) im Liter; ungefähr $\frac{1}{2}$ -normal.

4. Stärkelösung (S. 69).

Titerstellung der Bromatlösung.

Man misst mit einer Messpipette 10 ccm der Bromatlösung in ein Becherglas oder Erlenmeyerkolben und giebt 15 ccm Jodkaliumlösung und einige Kubikcentimeter konz. Salzsäure hinzu. Die braune Lösung vom ausgeschiedenen Jod titriert man mit $\frac{1}{10}$ Thiosulfatlösung zurück; zuletzt, wenn die Lösung schwach gelb ist, setzt man von der Stärkelösung hinzu und titriert bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Die verbrauchten Kubikcentimeter werden notiert.

Behufs Ausführung der Bestimmung im Destillate giebt man dieses in eine mit gut eingeriebenem Glasstopfen versehene

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1876. 15. 233.

Spaeth, Untersuchung des Harnes.

Flasche, lässt ein bestimmtes Volumen der Bromatlösung zufließen, setzt einige Kubikcentimeter Salzsäure hinzu und schüttelt gut durch; die Flüssigkeit darf sich nicht entfärben, sonst muss mehr Bromatlösung zugesetzt werden.

Nach $\frac{1}{4}$ stündigem Stehen titriert man, wie angegeben, mit Thiosulfatlösung zurück. Zieht man die verbrauchten Kubikcentimeter Thiosulfatlösung von den bei der Titerstellung für die gleiche Menge der Bromatlösung verbrauchten ab, so zeigt vom Rest jeder Kubikcentimeter = 0,001567 g Phenol an.

3. Nach K. Seubert¹⁾-Beckurts²⁾ kann man die Phenolbestimmung in ähnlicher Weise ausführen.

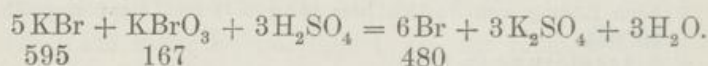
Als Lösungen dienen:

1. Normalkaliumbromidlösung (Liquor Kalii bromati volumetr.).
5,95 g reines, trockenes Kaliumbromid im Liter Wasser gelöst.
2. Normalkaliumbromatlösung (Liquor Kalii bromici volumetric.).
1,67 g reines, zuvor getrocknetes Kaliumbromat im Liter Wasser gelöst.

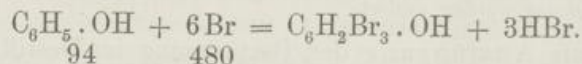
Ausführung.

Je 50 ccm der Lösung 1 u. 2, sowie 5 ccm konz. Schwefelsäure bringt man mit dem phenolhaltigen Destillate in einer mit gut eingeschliffenem Stöpsel versehenen Flasche zusammen (oder wenn der Harn sehr stark phenolhaltig ist, mit einer bestimmten Menge des auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Destillates), schüttelt kräftig um und lässt 10—15 Minuten stehen. Hierauf setzt man rasch 10 ccm 10% Jodkaliumlösung zu und titriert das ausgeschiedene Jod, wie angegeben, mit $\frac{1}{10}$ -Thiosulfatlösung zurück.

Vorgang.



Aus der Mischung der beiden Lösungen (50 ccm) wird durch Schwefelsäure genau 0,24 g Brom, welches wieder 0,047 g Phenol in Tribromphenol überführt, frei gemacht. (Der gebildete Niederschlag ist in Wirklichkeit Tribromphenolbrom; die Titrationsresultate sind aber exakte).



¹⁾ Arch. Pharm. 18. 321.

²⁾ Arch. Pharm. 24. 561.

Die Mischung enthält jedoch und muss auch noch einen Überschuss an Brom enthalten; diese noch überschüssig vorhandene Menge Brom scheidet natürlich aus dem zugegebenen Jodkalium eine ihm äquivalente Menge Jod aus, die durch das Natriumthiosulfat ermittelt wird und welcher Vorgang nach bekannter Weise verläuft.

Ein jeder Kubikcentimeter der verbrauchten $\frac{1}{10}$ -Thiosulfatlösung entspricht = 0,008 g Brom.

Hat man nun das überschüssig vorhandene Brom, das von dem im Destillate vorhandenen Phenol nicht gebundene Brom also, durch die Titration mit Natriumthiosulfat ermittelt, so hat man diese ermittelte Menge nur von 0,24 g (die in je 50 ccm der Lösungen 1 und 2 vorhandene und frei werdende Brommenge) in Abzug zu bringen und aus der Differenz das Phenol zu berechnen unter Berücksichtigung der im folgenden Beispiel angegebenen Gleichung.

Beispiel.

Zum Zurücktitrieren wurden verbraucht 5 ccm Thiosulfatlösung = 0,04 Brom; $0,24 - 0,04 = 0,20$ Brom, welches für das vorhandene Phenol verbraucht wurde.

$$0,24 \text{ Brom entsprechen } 0,047 \text{ Phenol} = 0,2 : x.$$

$$x = 0,039 \text{ g Phenol im Destillate.}$$

Wahl der Methode.

Beide Titrimethoden und die gewichtsanalytische können empfohlen werden.

B. Das Kresol. $\text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{OH}$.

Dasselbe macht den Hauptbestandteil der im Harne enthaltenen Phenole aus und zwar ist es vorwiegend als Parakresol vorhanden. Es wird mit dem Phenol zugleich nachgewiesen. Zur Trennung der beiden Phenole sind grössere Mengen dieser erforderlich, die im Harne nicht sich vorfinden; erkannt wird das Kresol neben dem Phenol durch Umwandlung in die Sulfosäuren, was durch Erwärmen der Phenole mit dem gleichen Gewichte konz. Schwefelsäure während einer Stunde auf dem Wasserbade erreicht wird. Werden die gebildeten Sulfosäuren mit Baryt neutralisiert, so bleibt das Barytsalz der Parasäure (Kresol) in Barytwasser unlöslich zum Gegensatze von Phenol.

C. Das Brenzkatechin. $C_6H_4(OH)_2$ 1,2.

Findet sich in sehr geringen Mengen im Harn regelmässig und kommt aus der im Pflanzenreiche weit verbreiteten Protokatechusäure; brenzkatechinreicher Harn färbt sich beim Stehen, besonders bei alkalischer Reaktion, dunkel.

Reichlicher kommt Brenzkatechin nach dem Genuss von Phenol und Benzol als Brenzkatechinschwefelsäure vor.

Darstellung.

Stark mit Salzsäure angesauerter Harn wird nach Baumann¹⁾ kurze Zeit zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten einige Male mit Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge befreit man durch Abdestillieren zum Teil von Äther, schüttelt sie wiederholt mit einer wässrigen Sodalösung und verdunstet den Äther. Den Ätherrückstand nimmt man mit etwa 20 ccm gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung auf, filtriert von Phenol und Parakresol ab und destilliert die Salzlösung nach dem Verdünnen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdampf solange, als flüchtige Phenole übergehen. Der Destillationsrückstand wird mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verdunstet, der zurückbleibende Sirup in Wasser gelöst und durch Bleizucker gefällt (Vermeidung eines Überschusses). Im Niederschlag ist Brenzkatechin, im Filtrat Hydrochinon. Der erstere wird mit Wasser vermischt, durch Schwefelsäure zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt; aus der Ätherlösung krystallisiert Brenzkatechin aus, das durch Umkrystallisieren aus heissem Benzol gereinigt werden kann.

Nachweis.

1. Eisenchlorid färbt Brenzkatechinlösung sofort dunkelgrün, dann schwarz; bei Gegenwart von Weinsäure mit Ammoniak alkalisch gemacht, entsteht eine violett-kirschrote Färbung, die nach dem Übersättigen mit Essigsäure wieder grün wird.
2. Furfurolprobe (S. 135) tief kirschrot, später violett.
3. Alkalische Kupferlösung, Silbernitrat-, Gold- und Platinchloridlösung werden reduziert, nicht Wismut.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 8. 188.

Eigenschaften.

Krystallisiert aus Wasser und Äther in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln (Schmelzpunkt 104); sublimiert in glänzenden Blättchen; löslich in Wasser, Äther, Alkohol, in heissem Toluol und kaltem Benzol (Unterschied von Hydrochinon).

D. Hydrochinon. $C_6H_4(OH)_2$ 1,4.

Nach Gebrauch von Phenol, Benzol, sowie Hydrochinon im Harn nachgewiesen.

Darstellung.

Siehe Brenzkatechin. Im Filtrate vom Brenzkatechinniederschlag ist Hydrochinon, das durch Blei nicht gefällt wird, vorhanden; das Filtrat wird mit Schwefelsäure zersetzt, mit Äther ausgeschüttelt und dieser verdunstet. Der Rückstand wird aus siedendem Benzol oder Toluol umkrystallisiert.

Nachweis.

Entwickelt beim schnellen Erhitzen violette Dämpfe und bildet blaues Sublimat beim Erhitzen.

Eigenschaften.

Krystallisiert in rhombischen bei 169° schmelzenden Säulen oder Tafeln; beim Erwärmen der wässrigen Lösung mit Eisenchlorid entsteht Chinon (penetranter Geruch).

E. Indoxyl. C_8H_7NO oder $C_6H_4 \begin{matrix} \text{C.OH}=\text{CH} \\ \text{NH} \end{matrix}$

Indoxylschwefelsäure, Indican genannt, stammt vom Indol, dem Produkte der Pankreasfäulnis; dieses Indol wird im Organismus zu Indoxyl oxydiert, welches sich mit Schwefelsäure zu Indoxylschwefelsäure verbindet. Aus Indoxyl entsteht durch Oxydation wieder Indigo, der blaue Farbstoff.

Der normale menschliche Harn enthält im Durchschnitte 0,066 Indigo; doch ist eine Vermehrung in pathologischen Zuständen vorhanden, die das 10—11fache der normalen Menge betragen kann.

Eine Vermehrung findet sich im allgemeinen bei der reichlichen Zerstörung von Eiweiss, besonders durch Fäulnis und die dadurch bewirkte Entstehung von Indol, so bei Ileus,

Typhus, Darmtuberkulose, Carcinom des Magens, Cholera, Magen-erweiterung, Magen- und Darmkatarrh, Bleikolik etc.

Indigo findet sich in Lösung, als Sediment und als Bestandteil von Harnsteinen.

Darstellung.

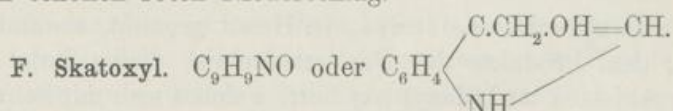
Aus normalem Harn ist das indoxylschwefelsaure Kali nicht zu gewinnen, höchstens aus einem sehr indikanreichen Harn. Wert hat diese Darstellung nicht, da man nur das Indikan nachweist, indem man dieses durch Oxydation in stark saurer Lösung mit Chlorkalk in Indigblau überführt und dieses in Chloroform löst. Siehe Indigo.

Eigenschaften des Indoxyls.

Beim Behandeln der Indoxylschwefelsäure mit Salzsäure wird das Indoxyl als braunes Öl erhalten; dasselbe ist wenig beständig und scheidet bei Luftabschluss schnell und reichlich Indigo ab. Beim Erwärmen von Indoxyl in konz. Kalilösung mit pyroschwefelsaurem Kali erhält man das indoxylschwefelsaure Kali in blendend weissen Tafeln, in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich. Schnell erhitzt, sublimiert Indigo. Indoxyl wird, bei Luftabschluss erhitzt, zu einem braunen Körper, Indoxylrot, umgewandelt.

Eigenschaften des Indols.

Indol bildet Blättchen (Schmelzpunkt 52), leicht in heissem Wasser, Alkohol, Äther löslich. Riecht nach Fäkalien. Die Lösung in Ligroin (nicht Benzol) giebt mit Pikrinsäurelösung einen schönen roten Niederschlag.



Kommt vor als Skatoxylschwefelsäure, die ebenfalls als Produkt der Eiweissfäulnis sich im normalen Harn findet; eine Vermehrung findet unter denselben Verhältnissen, wie beim Indoxyl statt. Skatoxyl ist nicht bekannt.

Nachweis.

Skatoxylhaltige Harne färben sich bei der Indikanprobe nach Jaffé schon bei Zusatz von Salzsäure dunkelrot bis violett; mit Salpetersäure kirsch-

rot. Der Farbstoff lässt sich durch Chloroform oder Äther dem salzsauren Harn nicht entziehen (Unterschied von Indigo). Nur mit Amylalkohol kann derselbe der sauren Flüssigkeit entzogen werden; aus neutralen oder schwach alkalischen Lösungen lässt sich der frisch entstandene Farbstoff durch Chloroform und Äther ausziehen. Mit Zinkstaub erhitzt giebt der Farbstoff Skatol, das in Plättchen krystallisiert, die bei 95° schmelzen; es löst sich schwer in Wasser. Das Pikrat bildet rote Nadeln, in Salzsäure mit violetter Farbe löslich. Färbt man mit alkoholischer Skatollösung, wie Indollösung einen Fichtenspan und taucht ihn in starke Salzsäure, so wird er kirschrot, später blauviolett.

Eigenschaften.

Das skatoxylschwefelsaure Kali krystallisiert in Knollen und Prismen; für sich erhitzt bildet es rote Dämpfe, mit konz. Salzsäure entsteht ein amorpher roter Niederschlag. Unter Anwendung von Oxydationsmitteln aus Harn entstandene rote Farbstoffe, können Derivate des Skatoxyls und Indoxyls oder beider darstellen. Urhoidin, in skatoxylhaltigem Harn und Sedimenten vorhanden, ist in Alkohol und Äther mit karminroter Farbe löslich und lässt sich dadurch dem Harn und Sedimente entziehen; beim Verdunsten der Lösung krystallisiert es in Krystallen aus.

29. Benzoesäure. $C_6H_5 \cdot COOH$.

Dieselbe ist einige Male im Harn neben Hippursäure gefunden worden und scheint als ein Zersetzungsprodukt dieser aufzufassen sein; die Benzoesäure wird im Körper in Hippursäure übergeführt, doch soll nach neueren Versuchen unter gewissen Umständen nicht nur die eingeführte Benzoesäure als solche abgeschieden, sondern die eingenommene Hippursäure sogar in Benzoesäure übergeführt werden. Bemerkenswert ist, dass bei Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren stets Benzoesäure vorhanden ist.

Darstellung.

Man gewinnt sie wie die Hippursäure (S. 184); man kann sie von dieser trennen durch Petroleumäther, worin sich die Benzoesäure löst.

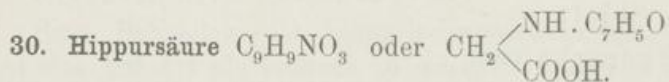
Nachweis.

1. Beim Verdampfen mit etwas Salpetersäure entwickelt sich der Geruch nach Nitrobenzol.
2. Mit alkalischer Natriumhypobromitlösung giebt sie im Gegensatz zur Hippursäure keinen kermesfarbenen Niederschlag; Hippursäure sublimiert nicht.

Eigenschaften.

Sublimiert bildet sie farblose, glänzende Nadeln, aus ihren Salzen abgeschieden Schuppen, schmale Säulen.

In kaltem Wasser ist sie schwer löslich, leicht löslich in Alkohol, Äther, Essigäther, Petroläther.



Die Hippursäure, Benzoylglykokoll, findet sich im normalen Harn besonders reichlich nach Genuss von Obst, Heidelbeeren, Erdbeeren, Preisselbeeren, auch nach Einnehmen von Benzoesäure und Zimmtsäure, die in Hippursäure umgewandelt werden. Sie kommt zu 0,1—1,0 g in der Tagesmenge vor. Reichlich ist sie im Harne der Pflanzenfresser vorhanden. Auch in Sedimenten findet sich die Hippursäure, wenn auch selten.

Darstellung.

Zu ihrer Darstellung im Grossen verwendet man Harn von Pferden, Schafen; hier interessiert uns nur die Darstellung und Gewinnung aus dem menschlichen Harn; die Isolierung ist für den Nachweis und die Bestimmung der Hippursäure erforderlich; zudem kann mit dieser Herstellung auch die quantitative Bestimmung verbunden werden.

1. Man macht den Harn (ca. 1 Liter) mit kohlensaurem Natron alkalisch, konzentriert das Filtrat bis fast zur Trockne und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol wiederholt aus. Der Verdunstungsrückstand von der Alkohollösung (man destilliert den Alkohol ab) wird in Wasser gelöst, die Lösung des hippursäuren Natrons mit Schwefelsäure angesäuert und wiederholt (ca. 5 Mal) mit Essigäther ausgeschüttelt. Der abgehobene Essigäther wird im Scheidetrichter mit Wasser aus-

geschüttelt, der Essigäther vorsichtig abdestilliert, dann ganz verjagt und der Rückstand zur Entfernung von Benzoessäure, Phenol, Fett etc. mehrere Male mit Petroläther behandelt, welcher die Hippursäure ungelöst zurücklässt. Diese wird in warmem Wasser gelöst, mit etwas Tierkohle entfärbt und bei 50° zur Krystallisation gebracht. Die Krystalle werden gesammelt und gewogen. (Methode nach Bunge und Schmiedeberg.)¹⁾

2. Löbisch dampft den Harn ein, versetzt mit Essigsäure (5 ccm) und setzt dann so viel Gipspulver hinzu, bis die ganze Masse feinpulverig geworden ist; die Masse extrahiert man in einer Papierpatrone mit Äther im Soxhlet'schen Apparat. Man erhält ein nur schwach gefärbtes Ätherextrakt, das man, wie angegeben, weiter behandelt.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

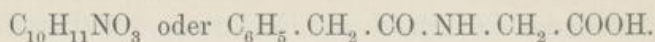
Die Hippursäure krystallisiert in rhombischen, halbdurchsichtigen milchweissen Prismen (s. Sedimente), die Ähnlichkeit mit dem Tripelphosphat (s. Sedimente) haben, sich von diesem aber durch das chemische Verhalten unterscheiden. Die Hippursäure löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser und besonders leicht in Essigäther auf. In Petroleumäther, Benzol ist sie unlöslich. Sie schmilzt bei 187,5°.

Die Verbindungen mit Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und Alkohol löslich, die Metallsalze schwer löslich. Beim Kochen mit Säuren, Laugen oder bei längerem Erhitzen auf 170—180° zerfällt sie in Benzoessäure und Glykokoll, ebenso durch alkalische Harn gärung (*Micrococcus ureae*).

Nachweis.

1. Mit konz. Salpetersäure gekocht und eingedampft giebt der erhitzte Rückstand Nitrobenzolgeruch.
2. Erhitzt im Reagensglas für sich schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit (Unterschied von Benzoessäure). Beim stärkeren Erhitzen sublimiert unter Rotfärbung Benzoessäure und zuletzt tritt ein Geruch nach Blausäure auf.

¹⁾ Archiv exp. Patholog. 6. 235.

31. Phenacetursäure.

Ist ein regelmässiger Begleiter des Pferdeharnes. Zeitweilig soll diese Säure im Harn des Menschen vorkommen von der bei der Fäulnis von Eiweiss im Darm entstehenden Phenyl-essigsäure. Die Phenacetursäure ist schwer von der Hippursäure zu trennen; auch kommt sie wohl selten im Harn in einer solchen Menge vor, dass sie mit Sicherheit isoliert werden könnte.

Eigenschaften.

Bildet kleine, dicke, rhombische, bei 143° schmelzende Tafeln. Das Verhalten ist ähnlich der Hippursäure.

32. Gallensäuren (s. diese).**33. Aromatische Oxysäuren.**

Auch diese entstehen bei der Fäulnis von Eiweiss, Tyrosin im Darm oder in den Geweben und sind diese aromatischen Oxysäuren im allgemeinen entsprechend dem Phenol vermehrt. Im normalen Harn wurden die Paraoxyphenylessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure gefunden, die ungefähr zu 0,001—0,002% vorkommen; im phenolreichen pathologischen Harn (nach akuter Phosphorvergiftung) sind sie sehr vermehrt. Die Oxysäuren können als solche in Form von Salzen oder als Ätherschwefelsäuren sich vorfinden.

Zu den aromatischen Oxysäuren gehören noch die Oxy-mandelsäure (bei der Zerstörung des Lebergewebes auftretend), die Oxyhydroparacumarsäure, Gallussäure, Uroleucinsäure und die Homogentisinsäure.

A.	B.	C.	D.
Paraoxyphenylessigsäure	Paraoxyphenylpropionsäure. Hydroparacumarsäure	Paraoxyphenylglykolsäure. Oxymandelsäure	Oxyhydroparacumarsäure. Paraoxyphenylmilchsäure
$\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_2\text{COOH} \end{smallmatrix}$	$\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} \end{smallmatrix}$	$\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{CH}(\text{OH})\text{COOH} \end{smallmatrix}$	$\text{C}_6\text{H}_4 \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagdown \\ \text{C}_2\text{H}_5(\text{OH})\text{COOH} \end{smallmatrix}$

Zur Darstellung dieser Oxysäuren (A—D) müssen grosse Mengen (50 l) Harn verwendet werden. Diese werden nach Baumann¹⁾ eingedampft, der Sirup mit Essigsäure angesäuert,

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1882. 6. 191.

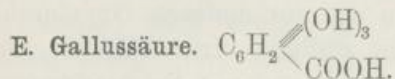
und einige Male mit Äther ausgezogen. Die Ätherauszüge werden behufs Aufnahme der Oxysäuren mit Sodalösung und die alkalische Lösung nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure wieder mit Äther geschüttelt. Der abgehobene Äther wird verdunstet, der Rückstand auf dem Wasserbade noch erwärmt, in wenig Wasser gelöst und mit neutralem Blei ausgefällt. Im Filtrate werden die vorhandenen Oxysäuren mit Bleiessig ausgeschieden. Die Fällung wird abfiltriert, ausgewaschen, dann in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Man schüttelt das Filtrat vom Schwefelblei wieder mit Äther aus; der Verdunstungsrückstand des Äthers ist gewöhnlich ein stark saurer, gelber Syrup, der meist krystallinisch erstarrt. Man krystallisiert aus wenig Wasser um. Hierbei krystallisiert:

A.	B.	C.	D.
zuerst Paraoxyphenylelessigsäure in langen, durchsichtigen Prismen aus. Schmelzpunkt 148°. Mit Eisenchlorid grauviolett. Giebt die Millon'sche Reaktion. Aus der Mutterlange von der Paraoxyphenylelessigsäure	gewinnt man die Hydroparacumarsäure, indem man die Mutterlange zur Trockne verdampft und den Rückstand mit Benzol auskocht; beim Erkalten scheidet sich die Hydroparacumarsäure aus. Giebt die Millon'sche Reaktion. Prismen. Schmelzpunkt 125°.	Oxymandelsäure ist in dem in viel heissem Benzol unlöslichen Anteil der Oxysäuren vorhanden. Aus dem in Wasser löslichen Teil scheiden sich nadelförmige Krystalle aus. Geben die Millon'sche Reaktion. Seidenglänzende, lange Nadeln. Schmelzpunkt 162°.	Oxyhydroparacumarsäure. Seidenglänzende Nadeln.

Nachweis im Harn.

100 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit Salzsäure in einem mit Kühler verbundenen Kolben zur Entfernung der Phenole gekocht, bis im Destillate keine Phenole mehr sich durch Millon's Reagens nachweisen lassen. Den erkalteten Rückstand im Kolben schüttelt man mit Äther mehrere Male aus; aus der Ätherlösung werden durch Schütteln mit einer schwachen Sodalösung die vorhandenen Oxysäuren aufgenommen. Die alkalische Lösung — noch allenfalls vorhandene Phenole bleiben im Äther — wird nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Äther ausgeschüttelt und dieser auf dem Wasserbade

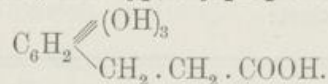
verdunstet. Mit dem Rückstand stellt man die Millon'sche Reaktion dar; man kann die eintretende Färbung — stärker oder schwächer — zur annähernden Schätzung der vorhandenen Menge von Oxysäuren benutzen, wenn man sich verschiedene Lösungen von Oxysäuren von bekanntem Gehalte zum Vergleiche hergestellt hat.



Ihr Vorkommen im Harn ist durch die mit der Nahrung aufgenommene Gerbsäure bedingt.

S. Arzneien.

F. Uroleucinsäure, Trioxyphenylpropionsäure.



Ist der Gallussäure homolog. Häufiger im Harn der Kinder, wie der Erwachsenen beobachtet.

Darstellung nach Kirk.¹⁾

Man dampft Harn auf den zehnten Teil ein, schüttelt mit Äther aus, um färbende und andere Stoffe zu entfernen, säuert die wässrige Flüssigkeit mit Salzsäure an und schüttelt wieder mit Äther aus; die Ätherlösung behandelt man mit Soda-lösung, bis die saure Reaktion verschwunden ist; im Äther befinden sich die Phenole. Die Sodalösung, die die Säure enthält, wird nach dem Ansäuern mit Äther ausgeschüttelt. Die Säure wurde einmal aus Alkaptonharn hergestellt.

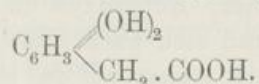
Eigenschaften und Nachweis.

Aus Äther krystallisiert die Säure in Drusen — nädelförmigen Krystallen; im reinen Zustande ist sie milchweiss, ausserdem feucht gelb. Schmilzt bei 133°. In Äther, Alkohol ist sie ziemlich löslich, schwer löslich in Wasser, unlöslich in Chloroform und Petroläther. In wässriger Lösung tritt leicht Zersetzung ein; die alkalische Lösung färbt sich braun. Die Uroleucinsäure reduziert Fehling'sche Lösung, auch Silber-nitrat, Wismut. Die Säure gärt jedoch nicht und unterscheidet sich hierdurch von den Zuckerarten. Mit Eisen-chlorid vorsichtig geschichtet wird die Grenzschicht grün;

¹⁾ Brit. med. Journ. 1888. 232.

beim Schütteln verschwindet die Färbung. Uroleucinhaltiger Harn ist entweder sehr blass oder braun und färbt sich besonders bei alkalischer Reaktion braun; die Wäsche wird braun gefärbt.

G. Homogentisinsäure, Dioxyphenylelessigsäure.



Die Säure stammt aus dem Tyrosin, das sich beim Zerfall von Nahrungseiweiss im Darm bildet.

Darstellung.

Wurde nach M. Wolkow und E. Baumann¹⁾ dem mit Schwefelsäure angesäuerten Harn durch Schütteln mit Äther entzogen; der Ätherrückstand wird in Wasser gelöst, erhitzt und mit Bleiacetatlösung versetzt. Aus der heiss filtrierten Lösung scheidet sich das Bleisalz in grossen Krystallen aus, aus dem durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die freie Säure in grossen Krystallen gewonnen wird. (Schmelzpunkt 146—147°.)

Quantitative Bestimmung.

Zur annähernden Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn werden nach E. Baumann²⁾ 10 ccm Alkaptonharn mit 10 ccm 3% Ammoniak und einigen Kubikcentimetern $\frac{1}{10}$ -Normalsilbernitratlösung versetzt; ferner setzt man, um das fein verteilte Silber abzuscheiden, fünf Tropfen Chlorcalcium- und zehn Tropfen Ammoniumkarbonatlösung hinzu; das hierbei sich bildende Calciumkarbonat reisst das Silber mit nieder. Man filtriert und prüft, ob das Filtrat noch reduzierend auf Silberlösung einwirkt und setzt im letzteren Falle zu einer neuen Harnmenge eine grössere Menge Silberlösung hinzu u. s. f. Als Endreaktion wird angesehen, wenn das Filtrat auf Zusatz von Salzsäure im Überschuss eine eben sichtbare Trübung von Chlorsilber giebt. Bei Mehrverbrauch von Silberlösung, als 8 ccm für 10 ccm Harn sind von vornherein anstatt 10 ccm 20 ccm Ammoniak zu verwenden. 1 ccm $\frac{1}{10}$ -Silberlösung = 0,0041 g Homogentisinsäure.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 15. 228.

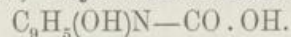
²⁾ Centrbl. med. Wissenschaft. 1892. 542.

Nachweis.

1. Giebt mit Eisenchlorid vorübergehende Blaufärbung.
2. Mit Millon's Reagens entsteht ein gelber, beim Erhitzen sich rot färbender Niederschlag.

Die sog. Alkaptonurie, die Eigenschaft mancher Harne, Kupferoxyd in alkalischer, Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung zu reduzieren und sich nach Zusatz von Alkalien an der Luft zu schwärzen, ist ausser auf das etwaige Vorkommen von Brenzkatechin auf die Anwesenheit der Oxy Säuren, besonders der Uroleucinsäure und der Homogentisinsäure, deren Reduktionsvermögen ca. 9—10mal so stark, als das des Zuckers bei Diabetes ist, zurückzuführen.

H. Kynurensäure, Oxychinolincarbonsäure.



Ist nur im Hundeharn aufgefunden worden und ein steter Begleiter desselben. Im Menschenharn fehlt diese Säure.

34. Die Eiweissstoffe.

In einem vollkommen normalen Harne kommen nur Spuren von Eiweiss vor und zwar ist dieses das sogenannte Mucin, ein zu den Nucleoalbuminen gehöriger Eiweissstoff, also kein Serumalbumin, wie solches in einem pathologischen Harn vorzukommen pflegt. Ausser diesem Serumalbumin können noch folgende Eiweissstoffe auftreten: Serunglobulin, Albumosen, Peptone, Hämoglobin, Fibrin; es kommt entweder das eine für sich allein vor oder es finden sich mehrere nebeneinander; die letztgenannten vier Stoffe sind meist nur in geringer Menge vorhanden, wenn sie überhaupt zugegen sind.

Die in pathologischen Fällen mit dem Harn entleerten Eiweissmengen können ausserordentlich verschieden sein von einem Minimum, weniger als 1 g in der 24stündigen Harnmenge bis zu 30 g; meistens ist die ausgeschiedene Menge kleiner als 0,5% und ein Gehalt von 1% und darüber gehört zu den Seltenheiten.

Am geringfügigsten ist die Eiweissausscheidung bei chronisch verlaufender Schrumpfnieren; hier ist meistens Polyurie vorhanden.

In manchen Fällen bei ganz geringen Ausscheidungen von Eiweiss, die zu dem keine konstante ist, indem meist nur im

Vormittagsharne Eiweiss gefunden wird und in welchem Harne nur ausnahmsweise Harncylinder, die nur in Form der sogenannten hyalinen Cylinder (s. diese) auftreten, sich vorfinden, spricht man von einer unechten, transitorischen Albuminurie; diese Fälle, die auf irgend einen durch ungeeignete Nahrungszufuhr oder nervöse Einflüsse etc. zu Stande gekommenen Krankheitszustand zurückzuführen sein dürften, erfahren bald eine Heilung.

Die unechte Albuminurie entsteht weiter, wenn zu einem aus der Niere eiweissfrei abgesonderten Harne auf dem Wege vom Nierenbecken bis zur Harnröhrenmündung eine eiweisshaltige Flüssigkeit, Blut, Eiter etc. hinzutritt; man hat deshalb bei der Prüfung auf Eiweiss im Harn Rücksicht zu nehmen, ob nicht das gelöste Eiweiss von Eiter, Blut, Blutfarbstoff aus den Samenwegen herrührt, worüber die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes Aufschluss zu geben vermag.

Bei der eigentlichen oder wahren Albuminurie, die durch parenchymatische Veränderung der Niere bedingt ist und bei welcher das Eiweiss mittels der Niere in den Harn übertritt, ist die Eiweissausscheidung dagegen eine stets konstante, indem zu allen Tageszeiten Eiweiss ausgeschieden wird und zwar in einer auch nicht zu geringen Menge, so dass man deutliche Eiweissreaktionen erhält; auch finden sich bei der mikroskopischen Betrachtung des Sedimentes noch organisiertes Eiweiss, Formelemente der Niere, die sogenannten Harncylinder, Nierenepithelcylinder.

Was die Entstehung und Veranlassung der Albuminurie anbelangt, so beruhen diese auf histologischen Veränderungen des Nierengewebes, veranlasst durch verschiedene Druckverhältnisse des Blutes innerhalb der harnabsondernden Apparate, den Glomerulis. Solche Veränderungen und Funktionsstörungen entstehen durch entzündliche und degenerative Vorgänge des Nierenparenchyms bei jeder Form von akuter oder chronischer Nephritis, durch Steigerung des Blutdruckes, durch die venöse Stauung, die verringerte Blutzufuhr der Niere, durch behinderten Abfluss des Harnes aus den Harnwegen, durch toxisch wirkende Körper (Strychnin, Pilocarpin, Phosphor, Arsenik, Arsenwasserstoff, Kohlenoxyd), nach langem, fortgesetztem, innerlichem Gebrauch von salicylsaurem Natron,

Silbernitrat, wenn auch die letztgenannten Mittel nur kurz andauernde Albuminurie verursachen.

Auf eine Veränderung der Blutbeschaffenheit ist jene Albuminurie zurückzuführen, die bei vielen fieberhaften Erkrankungen (Typhus, Diphtherie, Scharlach, Pneumonie) entsteht und die nach dem Erlöschen des hohen Fiebers wieder verschwindet. (Febrile Albuminurie.)

Arten und Eigenschaften der Eiweissstoffe.

Die im Harn bei Albuminurie vorhandenen Eiweissstoffe sind vor allem das Serumalbumin und Serumglobulin (Paraglobulin), beide Eiweisskörper des Blutes; diese beiden Eiweissstoffe, die stets den Hauptbestandteil im eiweisshaltigen Harn ausmachen, sind es auch, auf welche sich die zum Nachweis des Eiweisses gebräuchlichen Methoden beziehen und die bei den qualitativen, wie quantitativen Eiweissreaktionen gewöhnlich gemeinsam zum Nachweise gelangen. Aus diesem Grunde sollen die beiden Eiweissstoffe in erster Linie besprochen werden; die anderen selteneren Eiweissstoffe: Albumosen, Pepton, Hämoglobin, Methämoglobin sollen in besonderen Abteilungen abgehandelt werden.

Darstellung und Trennung des Albumins und Globulins bei der quantitativen Bestimmung und S. 206.

Eigenschaften des Albumins und Globulins.

Sämtliche Eiweissstoffe besitzen die Eigenschaft, die Ebene des polarisierten Lichtes nach links zu drehen; aus diesem Grunde muss ein Harn, der eiweisshaltig ist, bei der Zuckerbestimmung auf polarimetrischem Wege erst vom Eiweiss befreit werden.

A. *Das Albumin.*

Eigenschaften.

Dieses stellt bei 40° oder im Vakuum eingetrocknet eine schwach durchscheinende, spröde, gelbe Masse dar, die sich in Wasser zu einer filtrierbaren Flüssigkeit löst; im Alkohol ist das Albumin unlöslich und fällt beim Versetzen einer Albuminlösung mit Alkohol das Albumin als flockiger, jedoch wieder in Wasser löslicher Niederschlag aus. Löslich ist das Albumin in verdünnten und konzentrierten Lösungen neutraler Alkalisalze, in verdünnter und konz. Magnesiumsulfatlösung, worin

Serumglobulin unlöslich ist. Die spez. Drehung des Albumins beträgt — 62,6—64,59° nach Starke. Eine schwach angesäuerte Albuminlösung gerinnt beim Erhitzen bei ca. 60° und scheidet bei 72—75° das Eiweiss vollständig in Flocken aus.

Durch verdünnte Säuren wird es weder gefällt noch verändert, dagegen durch konz. Mineralsäuren, namentlich Salpetersäure ausgeschieden unter Umwandlung in Acidalbumin; durch verdünnte Alkalien wird es langsam, rascher durch konz. Alkalien in Alkalialbuminat umgewandelt. Diese beiden angegebenen Umwandlungen erfolgen leicht und vollständig, unter gleichzeitiger Ausfällung, wenn man ausser der Säure und den Alkalien viel Kochsalz oder Glaubersalz zusetzt. Das Acidalbumin ist merkwürdigerweise in Essigsäure löslich (charakteristisch).

B. Das Globulin des Harnes ist hauptsächlich Serum- oder Paraglobulin; wahrscheinlich sind auch noch Spuren eines anderen Globulins — des Fibrinogens — vorhanden, das sich vom anderen dadurch unterscheidet, dass es schon durch Sättigen seiner Lösung mit Kochsalz vollständig gefällt wird.

Das Globulin ist weiss, amorph, unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen (Chlornatrium und Magnesiumsulfatlösung), dagegen ganz unlöslich in gesättigter Magnesiumsulfatlösung. Die spezifische Drehung in einer verdünnten Salzlösung beträgt — 47,8°. Durch verdünnte Säuren, auch Kohlensäure, wird es in Acidalbumin, durch stärkere alkalische Lösungen in Alkalialbuminat umgewandelt; in verdünnter Sodalösung und verdünnter Ätzalkalilösung löst sich das Globulin; aus diesen Lösungen wird es durch Säuren, auch Kohlensäure, unverändert, jedoch unvollständig wieder gefällt.

Beim Erhitzen koagulieren die Globulinlösungen ebenfalls und gerinnt das Globulin bei 75°, während bei 60° noch keine Trübungen eintreten. Aus seinen Lösungen wird das Globulin im Gegensatz zum Serumalbumin durch Äther gefällt.

Gemeinsame Eigenschaften der Eiweisstoffe.

Alle Eiweisstoffe sind unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol; sie diffundieren nicht durch tierische Membran (Colloide). Alle Eiweisskörper geben selbst in Spuren mit den allgemeinen Alkaloidreagentien Niederschläge.

Durch sauren Magensaft (Pepsin) und bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion durch Pankreassaft werden die

Albuminstoffe peptonisiert und zuerst in Hemialbumose und dann in Peptone verwandelt; auch durch Einwirkung siedender verdünnter Säuren und Alkalien entstehen diese Umwandlungsprodukte; bei kräftiger Einwirkung der letzteren werden Leucin, Tyrosin und andere Amidosäuren abgespalten. Bei Gegenwart von Wasser und Luft gehen die Eiweissstoffe rasch in Fäulnis über, wobei als Zersetzungsprodukte Kohlensäure, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, flüchtige Fettsäuren, Leucin, Tyrosin, Glykokoll, Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenol, Indol, Skatol, Oxyphenyl-essigsäure, Hydroparacumarsäure, Hypoxanthin, Pto-
maine entstehen.

Qualitativer Nachweis.

Bei den im Nachstehenden mitgeteilten Eiweissprüfungen wird stets Albumin und Globulin zusammen bestimmt, da ja beide die gleichen Reaktionen geben und für klinische Zwecke eine Trennung belanglos erscheint.

Wie bei der Prüfung des Harnes auf Zucker wird man sich auch bei der Prüfung auf Eiweissstoffe nicht mit dem Ergebnis einer Prüfung begnügen, sondern zur Bestätigung noch eine oder die andere Reaktion vornehmen, obwohl die Reaktionen auf Eiweiss vollkommen sichere Resultate geben.

Bedingungen für die qualitative wie quantitative Prüfung.

1. Der Harn muss ganz hell sein, damit nicht Spuren von Eiweiss, die sich nur durch eine leichte Trübung anzeigen, entgehen, da diagnostisch die geringste Menge Eiweiss Bedeutung hat und es häufig auf den Nachweis ganz geringer Mengen (Opalisieren) ankommt (bei Schrumpfnieren). Ist der Harn trübe, so ist er, wenn nötig mehrmals, zu filtrieren oder nach dem Schütteln mit Magnesia usta oder mit Soxhlet'scher Filtriermasse (Kieselguhr und Holzschliff zu gleichen Teilen gemischt) zu filtrieren und das Filtrat zu verwenden.
2. Der Harn, der sehr konzentriert ist, ist mit dem gleichen oder dreifachen Volumen Wasser, ja sogar noch stärker, zu verdünnen, da sonst die beim Ansäuern ausfallende Harnsäure die Erkennung von Eiweiss erschwert oder dieses vortäuschen kann. Schön scheidet sich das Eiweiss aus, wenn man den zu verdünnenden Urin statt mit Wasser mit dem doppelten Volumen 5% Kochsalzlösung verdünnt, da der Eiweissniederschlag durch Zusatz von Salzen sich verstärkt.
3. Auch sehr kalter Harn kann bei Prüfung auf kaltem Wege (Probe I) die eben angegebene Erscheinung zeigen; daher erwärmt man kalten Harn durch Einstellen in Wasser erst auf die Normaltemperatur.
4. Man muss sicher sein, dass der zu untersuchende Harn frei ist von eiweisshaltigen Verunreinigungen (Menstrualblut, Sputum, Samen etc.)

Man unterscheidet Reaktionen mit Lösungen, Farbreaktionen und Reaktionen auf trockenem Wege.

I. Reaktionen mit Lösungen.

1. Heller'sche Probe.

Um nicht die Albumosen zu übersehen, wendet man erst die Reaktion auf kaltem Wege an.

Man füllt in ein Reagensglas ungefähr 5 ccm konz. Salpetersäure und schichtet vorsichtig die gleiche Menge Harn so darauf, dass sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Bei Anwesenheit von Eiweiss entsteht an der Berührungsstelle eine nach beiden Seiten begrenzte weisse Trübung (Bildung von Acidalbumin) als scharf begrenzter Ring.

Beurteilung.

Diese Probe ist sehr empfindlich und äusserst zuverlässig, wenn man die Vorsichtsmassregeln, die im folgenden erwähnt werden, nicht ausser acht lässt.

- a) Bei Vorhandensein viel harnsaurer Salze kann durch diese eine ringförmige Trübung oder Fällung verursacht werden, die sich aber in der oberen Harnschicht und nicht an der Berührungsstelle findet; beim gelinden Erwärmen verschwindet der Uratniederschlag. Durch Verdünnen des Harnes wird dieser Erscheinung abgeholfen.
- b) In sehr konzentrierten Harnen kann sich salpetersaurer Harnstoff, der aber deutlich krystallisiert, absetzen; durch Verdünnen des Harnes wird auch diese Abscheidung beseitigt.
- c) Auftretende farbige Ringe (von Gallenfarbstoff, Indigo herrührend) haben mit der Eiweisssreaktion nichts zu thun und können auch nicht verwechselt werden, da die Trübung fehlt.
- d) Mucinhaltiger Harn giebt einen opalisierenden Ring, der sich aber beim Umschütteln löst; auch Nucleohistone lösen sich wieder.
- e) Nach Anwendung von balsamischen Stoffen (Copaiva, Tolubalsam) entsteht ebenfalls ein weisslicher Ring, von Harzsäuren herrührend, der beim Schütteln mit Alkohol verschwindet.

2. Probe mit Ferrocyankalium-Essigsäure.

10 ccm des Harnes versetzt man bis zur stark saueren Reaktion mit Essigsäure (fünf Tropfen) — tritt jetzt schon eine Fällung (Urate, Mucin etc.) ein, so filtriert man diese ab — und fügt nach und nach einige Tropfen (1—3 Tropfen Überschuss wirkt lösend) Ferrocyankaliumlösung (1 : 20) hinzu; bei Gegenwart von Eiweiss scheidet sich ohne jede Erwärmung ein gelblichweisser, feinflockiger Niederschlag aus; bei ganz geringem Eiweisssgehalt tritt die Trübung nach

einigen Minuten ein. In sehr konzentriertem Harn erscheint der Niederschlag manchmal erst beim Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser, weil er in starken Salzlösungen in Spuren löslich ist.

Man kann die Reaktion auch in der Weise ausführen, dass man einige Kubikcentimeter verdünnter Essigsäure mit wenigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung versetzt und diese Mischung vorsichtig auf den Harn schichtet. Eine ringförmige Trübung, wie bei 1., zeigt selbst die geringsten Spuren Eiweiss an.

Beurteilung.

Sehr empfindliche und äusserst sichere und zuverlässige Probe. (1:50,000.)

Die Albumosen geben zwar auch Niederschläge, werden aber in viel Essigsäure gelöst. Mucin kann man durch essigsaures Blei fällen und im bleifreien Filtrat die Reaktion vornehmen oder man filtriert die beim Ansäuern mit Essigsäure entstandene Mucinfällung ab.

3. Kochprobe. Fällung als koaguliertes Eiweiss.

Man erhitzt 10 ccm Harn in einem Reagensglase zum Kochen und giebt, ob ein Niederschlag beim Kochen allein entstanden ist oder nicht, 10—15 Tropfen reine Salpetersäure hinzu. Entsteht ein flockiger Niederschlag, so ist Eiweiss anwesend, das rein weiss oder gefärbt sein kann (durch Gallenfarbstoffe, Blut).

Beurteilung.

Gleichfalls sichere und empfindliche Probe.

Entsteht beim Kochen ohne Säurezusatz direkt ein Niederschlag, so kann dieser koaguliertes Eiweiss sein oder er kann aus Erdphosphaten bestehen, die in schwach saurem oder alkalischem Harn beim Kochen ausfallen; durch Säuren werden die Erdphosphate gelöst.

Zu wenig zugesetzte Salpetersäure kann Eiweiss in Lösung halten; weiterer Zusatz fällt es aus.

Mucin wird durch Salpetersäure in Lösung gehalten; Unterscheidung des Mucins von anderen Eiweissstoffen.

Harnsäurereicher Harn scheidet einen Niederschlag aus, der jedoch nicht zu verwechseln ist.

4. Fällung durch Neutralsalze aus saurer Lösung.

5—10 ccm Harn werden mit Essigsäure bis zur stark sauren Reaktion versetzt, das gleiche Volumen einer gesättigten Kochsalz- oder Glaubersalzlösung zugegeben und gekocht. Eiweiss scheidet sich alles aus; durch Alkohol und Äther darf der Niederschlag

nicht aufgenommen werden. Man kann das ausgeschiedene Eiweiss auf einem kleinen Filter sammeln, auswaschen und den Rückstand zur Prüfung mit Millon's Reagens verwenden.

Beurteilung.

Die Probe ist sicher; eventuell ausgeschiedene Harzsäuren werden durch Alkohol gelöst; Albumosen (Propepton) werden sofort gefällt. Wenig Albumin fällt erst beim Kochen; die Albumosen lösen sich beim Erwärmen.

5. Spiegler's¹⁾ Probe.

Man giebt dem mit Essigsäure stark angesäuerten Harn vorsichtig einige Tropfen von folgendem am besten frisch bereitetem Reagens zu, Sublimat 8,0, Acid. tartar. 4,0, Aqua dest. 200,0, Glycerin 20,0 und zwar in der Weise, dass keine Mischung der beiden Flüssigkeiten eintritt, sondern diese über einander geschichtet bleiben. Bei Eiweissgehalt bildet sich sofort ein scharfer weisslicher Ring; bei Mengen, die mittels Essigsäure und Ferrocyankalium nicht mehr erkannt werden, entsteht der Ring nach ungefähr einer Minute langem Stehen. A. Jolles empfiehlt das Reagens aus 10 g Quecksilberchlorid, 20 g Bernsteinsäure und 10 g Chlornatrium in 500 ccm Wasser gelöst herzustellen.

Beurteilung.

Die Probe ist sehr scharf; man bedient sich des von Jolles empfohlenen Reagensgemisches; soll noch 1:250,000 nachweisen; zu bemerken ist, dass nach Versuchen von A. Jolles, G. Rafael und Spiegler selbst die Empfindlichkeit der Reaktion von der Menge der im Harn enthaltenen Chloride abhängig ist, und dass man einem stark verdünnten Harn (spez. Gew. 1,005) dann Kochsalzlösung zur Behebung des Übelstandes zusetzt; doch ist dies bei Anwendung des von Jolles angegebenen Reagensgemisches unnötig.

6. Probe mit Sulfosalicylsäure(Salicylsulfonsäure).

Man verwendet eine 20% wässrige Lösung und giebt einige Tropfen dieser Lösung oder einige Krystalle der Sulfosalicylsäure in einige Kubikcentimeter Harn und schüttelt um. Geringe Mengen von Eiweissstoffen werden durch allmählich auftretende Opalescenz,

¹⁾ Berl. Berichte 1892. 375 u. Wien. med. Blätter 1894. 553.

grössere durch Trübungen und Niederschläge angezeigt. (La Roche).

Beurteilung.

Die Probe ist eine empfindliche (1 : 50,000); auch Albumosen und Peptone werden gefällt, die aber beim Erhitzen gelöst werden — nicht die Eiweissfällung.

7. Probe mit Trichloressigsäure.

Man bringt in Harn einen kleinen Krystall von Trichloressigsäure oder giebt einige Tropfen einer 30% Lösung zum Harn. Es tritt an der Berührungsfläche entweder des Krystalles oder der Lösung mit dem Harn eine Trübung auf. (Raabe.)

Beurteilung.

Auch diese Probe ist eine empfindliche; in uratreichen Harnen kann eine Trübung entstehen; man wendet deshalb immer verdünnten Harn an.

8. Fällung durch Metaphosphorsäure.

Versetzt man Harn mit einer konz. frischen Lösung von Metaphosphorsäure oder einem Stückchen Metaphosphorsäure, so entsteht ein weisser Niederschlag oder Trübung bei Anwesenheit von Eiweiss.

Beurteilung.

Die Reaktion ist nach Versuchen von Penzoldt und v. Noorden nicht ganz sicher; erlaubt nicht unter 0,1% Eiweiss zu bestimmen.

9. Rhodankali-Essigsäureprobe und Essigsäure-Sublimatprobe.

Beide Proben sind von Zouchlos.

Das erste Reagens besteht aus 100 Teilen 10% Rhodankaliumlösung und 20 Teilen Essigsäure, das andere aus 1 Teil verdünnter Essigsäure und 6 Teilen einer 1% Sublimatlösung.

Ein tropfenweiser Zusatz des einen oder anderen Reagens bringt in eiweisshaltigem Harn eine Trübung hervor.

Beurteilung.

Die Rhodankali-Essigsäureprobe ist sicher und bequem; die andere Probe ist weniger sicher und empfehlenswert.

10. Pikrinsäureprobe.

Man setzt eine kleine Messerspitze der Krystalle

zum Harn und schüttelt; ein deutlich gelbflockiger Niederschlag zeigt Eiweiss an. Besser setzt man eine gesättigte Pikrinsäurelösung tropfenweise zu.

Beurteilung.

Nach Jaffé soll Kreatinin durch Pikrinsäure auch gefällt werden. Bei Anwendung der Pikrinsäure in Krystallen ist ferner noch weitere Vorsicht geboten, da durch zu geringen Zusatz von Krystallen Spuren von Eiweiss nicht angezeigt werden und bei Anwendung grösserer Mengen von Krystallen die Beurteilung insofern schwieriger wird, als die Krystalle sich dann nicht vollständig lösen und dann auch normale Harne eine schwache Opaleszenz zeigen.

II. Farbenreaktionen.

Diese Reaktionen kann man als eventuelle weitere Bestätigung, dass die durch vorgenannte Reagentien verursachten Fällungen aus Eiweiss bestehen, anwenden. Man verwendet deshalb das bei der Vorprobe oder nach 2 erhaltene gut ausgewaschene Koagulum; wegen der Farbe desselben (Gallenfarbstoffe, Blut) können die Reaktionen nicht immer in Anwendung kommen.

1. Millon'sche Reaktion.

Man erwärmt etwas Eiweiss mit Millon's Reagens (Auflösen von 1 Teil Quecksilber in 1 Teil kalter rauchender Salpetersäure und Verdünnen mit 1—2 Teilen Wasser); es entsteht beim Kochen eine rote Färbung.

Beurteilung.

Die Reaktion kann durch Chloride störend beeinflusst werden.

2. Biuretreaktion.

Fügt man zu einer Albuminlösung im Überschuss Natronlauge, dann tropfenweise verdünnte 10% Kupfersulfatlösung und schüttelt gut um, so wird die Flüssigkeit erst rosa, dann violett, zuletzt blau mit deutlich rotem Stiche.

3. Xanthoproteinreaktion.

Eiweisslösung, mit konz. Salpetersäure erhitzt, wird citronengelb gefärbt, mit Ammoniak übersättigt rotgelb.

4. Furfurolreaktion.

a) Mit konz. Schwefelsäure und wenig Zucker auf ca. 60° erwärmt, entsteht Rotfärbung (M. Schultze).

- b) Eine Lösung von Eiweiss in Eisessig nimmt auf Zusatz von konz. Schwefelsäure eine schöne violette Färbung und schwach grünliche Fluorescenz an. (Adamkiewicz.)

III. Reaktionen mit Reagentien im trockenen Zustande.

Diese Reaktionen, die am Krankenbette ausgeführt werden können, sind für den Arzt immerhin angenehm, wenn sie auch nicht absolute Sicherheit gewähren, und erst noch einer Bestätigung durch eine der unter I erwähnten Proben bedürfen.

1. Probe mit Pavy's Reagens.

In einige Kubikcentimeter des nicht zu konzentrierten Harnes wird eines der weissen Scheibchen (Citronensäure), dann allmählich kleine Stückchen des gelben Scheibchens (Ferrocyannatrium) zugesetzt so lange, als sich die entstandene Trübung zu vermehren scheint.

2. Geissler's Eiweissreagenspapier.

Streifen Filtrierpapier werden mit konz. Citronensäurelösung getränkt; andere Streifen werden mit 3% Sublimatlösung, die 12—15% Jodkalium zugesetzt enthält, getränkt und getrocknet. In 5 ccm des zu untersuchenden Harnes giebt man einen Streifen Säurepapier, dann einen solchen Sublimatpapier. Bei Anwesenheit von Albumin erfolgt Fällung oder Trübung.

Beurteilung.

Hierzu ist zu bemerken, dass der Harn gleich verdünnt anzuwenden ist, da auch Niederschläge von Uraten entstehen können.

3. Stütz'sche Kapseln.

Die Kapseln enthalten Quecksilberchlorid, Chlor-natrium und Citronensäure. Man giebt den Inhalt der Kapsel in 3—4 ccm des Harnes, der eventuell noch verdünnt wird. Da überschüssiges Eiweiss den Niederschlag löst, so muss der Harn genügend verdünnt angewendet werden.

Wahl der Methode bei Prüfung des Harnes auf Eiweiss.

Bei der Prüfung eines Harnes auf die Anwesenheit von Eiweiss wird man zuerst die Heller'sche Probe (I. 1), Prüfung mit Salpetersäure, auf kaltem Wege

ausführen, um nicht die Albumosen zu übersehen und im Anschlusse an diese Prüfung die zweite Probe, die mit Ferrocyankalium und Essigsäure, die die sichersten Resultate giebt, vornehmen; auch die Spiegler'sche Probe 5 in der Modifikation von A. Jolles ist eine der sehr empfindlichen und ist besonders zu empfehlen.

Mit einer Probe, besonders I. 1, darf man sich, wie erwähnt, nicht begnügen, da der positive Ausfall auch durch eine abnorm gesteigerte Nucleoalbuminausscheidung bedingt sein kann. (Siehe S. 209.) Über den Nachweis der verschiedenen im Harn vorkommenden Eiweissarten, jede für sich, findet sich S. 214 ein Analysengang angegeben.

Als weitere Proben kämen in Betracht und können empfohlen werden die Probe 3, Kochen mit Salpetersäure, sowie die übrigen unter I. aufgeführten, die sämtlich sichere Resultate ergeben.

Zur raschen Orientierung für den Arzt am Krankenbette mögen die Proben 2 und 3 (III.) (Geissler's Eiweissreagenspapier und Stütz'sche Kapseln, dann Pikrinsäure) in Anwendung kommen mit der Vorsicht, dass man den Ausfall mit den vorgenannten genauen Eiweissreaktionen kontrolliert; doch möchte ich dem Arzte für seine Zwecke besonders die Anwendung der Sulfosalicylsäure (S. 197), da dieselbe in der Krystallform bequem mitzuführen ist, ebenso das Riegler'sche Reagens (S. 204), anempfehlen. Diese Proben sind sehr empfindliche und genaue.

Die Farbenreaktionen kommen in der Praxis nicht in Betracht; sie sind als charakteristische Reaktionen der Eiweissstoffe überhaupt von Wert und können, wie bereits angeführt, zur weiteren Bestätigung, dass die erhaltenen Fällungen aus Eiweiss bestehen, Anwendung finden.

Bei der Wahl der Methode dürfte noch auf die von Gérard beobachtete Thatsache aufmerksam zu machen sein, dass in mehreren Fällen bei Bright'scher Krankheit nach Einführung der Milchdiät, im Harn durch Hitze koagulierbares Eiweiss nicht zu ermitteln war, dagegen gab gesättigte Kochsalzlösung einen flockigen, auf Zusatz von Essigsäure sich vermehrenden, aus Propepton bestehenden Niederschlag. Man wird deshalb bei der Untersuchung des Harnes an Nephritis albumosa Erkrankter auch auf Propeptone prüfen.

Quantitative Bestimmung des Eiweisses.

Über die Anwesenheit grösserer oder geringerer Mengen Eiweiss geben bereits die qualitativen Reaktionen Aufschluss.

1. Gewichtsanalytische Bestimmung.

Diese erfolgt oder gelingt am besten mit Harn, der nur 0,2—0,3% Eiweiss enthält. Ist der Harn reich an Albumin, was durch eine Vorprobe rasch festgestellt werden kann, dann wird er entsprechend verdünnt. Zur Bestimmung verwendet man vorher filtrierten Harn.

Ausführung.

Man bringt 100 ccm des ursprünglichen oder von dem entsprechend verdünnten Harn in ein Becherglas, prüft die Reaktion und macht, falls derselbe nicht schon so sauer ist, denselben durch vorsichtigen Zusatz einiger Tropfen ganz verdünnter Essigsäure ganz schwach sauer (durch zu viel Essigsäure wird Eiweiss wieder gelöst). Man erhitzt den Harn im kochenden Wasserbade — das Becherglas mit Harn stellt man im Wasserbade auf einen darin befindlichen Drei-

fuss, Drahtdreieck mit Thonröhren überzogen — 30 Minuten lang, bis eine grossflockige Ausscheidung des Eiweisses und Klärung der darüber stehenden Flüssigkeit stattgefunden hat und kocht dann nochmals über freier Flamme auf. (Ist eine breiige Ausscheidung des Eiweisses erfolgt, so ist zu viel Eiweiss vorhanden und man beginnt den Versuch mit verdünntem Harn von neuem.) Ist noch keine vollkommene Abscheidung erfolgt, so kann man dieses durch Zusatz eines oder zweier Tropfen ganz verdünnter Essigsäure, die man am besten mit einem Glasstabe einbringt, und nochmaliges Kochen erreichen.

Der Niederschlag wird möglichst rasch, um das Antrocknen des Eiweisses an die Glaswand zu verhindern, auf einem vorher bei 110° getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, mit heissem Wasser und nachher noch mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und dann gewogen. Das Filter mit dem Inhalt wird im Platintiegel vorsichtig verbrannt, verascht und gewogen und die Asche von dem gewogenen Eiweiss in Abzug gebracht. Der Rest ist Eiweiss, das auf 100 Teile ursprünglichen Harn oder auf die ganze Tagesmenge berechnet wird. Das ausgewaschene koagulierte Eiweiss kann man auch nach Kjeldahl (S. 92) behandeln und den Stickstoff desselben bestimmen. $N \times 6.25 = \text{Eiweiss}$.

Beurteilung.

Diese Methode liefert die einzig richtigen Resultate.

2. Bestimmung durch Polarisation.

Diese Methode kann keine sicheren Resultate geben, da das Drehungsvermögen der verschiedenen Eiweissstoffe (Albumin, Globulin) ein verschiedenes ist und bei Vorhandensein von Zucker dieser erst durch Vergären entfernt werden müsste.

3. Die densimetrische Methode

beruht darauf, dass man das spez. Gewicht des Harnes vor und nach der Abscheidung des Eiweisses durch Koagulation mittels des Pyknometers bestimmt und die Differenz in dem spez. Gewichte mit der Zahor'schen Zahl (400) multipliziert.

Beurteilung.

Diese Methode erfordert dieselbe sorgfältige Arbeit, wie die Wägungsmethode, ist nur nicht genau und kann auch von Jemandem, der ohne Wage eine Bestimmung machen will, nicht ausgeführt werden.

4. Die approximative Eiweissbestimmung von Roberts und Stolnikoff, modifiziert von Brandberg,¹⁾ ist eine Schätzungsmethode.

Diese beruht auf der Erfahrung, dass bei der Eiweissprobe nach Heller die Ringbildung um so früher eintritt, je eiweissreicher die Flüssigkeit ist. Nach Ablauf von 2—3 Minuten erscheint der Ring schwach, aber deutlich, wenn in 100 Teilen Harn 0,0033 g Eiweiss vorhanden ist. Aus der zur Erzeugung der Reaktion innerhalb der angegebenen Zeit notwendigen Verdünnung des zu prüfenden Harnes wird der Eiweissgehalt des unverdünnten Harnes berechnet.

Ausführung.

Man bringt in eine Anzahl Reagensgläser mittels einer Pipette, ohne die Glaswandungen zu benetzen, eine ca. 1 cm hohe Schicht konzentrierter Salpetersäure und fügt dann vermittelst eines in eine sehr feine Spitze ausgezogenen Glasröhrchens etwa das gleiche Volumen des verschieden verdünnten Harnes hinzu; man verfolgt mit der Uhr in der Hand das Eintreten eines eben sichtbaren bläulich weissen Ringes und legt die Probe, bei welcher die Ringbildung innerhalb 2—3 Minuten eintritt, für die Berechnung zu Grunde.

Von dem zu prüfenden Harn hat man sich vorher Verdünnungen gemacht und zwar wird man am besten erst eine 10fache, 50fache und 100fache Verdünnung vornehmen.

Man verdünnt zuerst 10 Teile des ursprünglichen Harnes mit 90 Teilen Wasser . . . = 10fach
10 Teile dieses 10fach verdünnten Harnes mit
40 Teilen Wasser = 50fach
10 Teile des 50fach verdünnten Harnes mit
10 Teilen Wasser = 100fach.

Tritt mit dem 100fach verdünnten Harn innerhalb 2—3 Minuten keine, mit dem 50fach verdünnten Harn schon nach einer Minute die Ringbildung ein, so wird man den 50fach verdünnten Harn noch weiter verdünnen; man wird den Harn dann auf das 60, 70, 80, 90fache verdünnen (indem man 10 Teile des 10fach verdünnten Harnes mit 50, 60, 70 und 80 ccm Wasser versetzt) und dann mit diesen die Proben wiederholen. Tritt mit dem 70fach verdünnten Harn die Reaktion ein, so würde der Harn 0,231 % Eiweiss enthalten.

¹⁾ Jahresber. Tierchem. 1880. 265.

Beurteilung.

Dass die erhaltenen Resultate keine genauen sein können, liegt auf der Hand, indes vermag die Methode in der Praxis für schnelle Vergleichsanalysen Aufschluss zu geben und giebt auch L. Friedländer dieser Methode noch den Vorzug vor den anderen sog. Schnellmethoden.

5. E. Riegler¹⁾ gründet auf die vollständige Fällung des Albumins durch ein Gemisch gleicher Teile Asaprol und Citronensäure eine annähernde



Fig. 35.

Bestimmungsmethode des Eiweisses. In den Cylinder (Fig. 35) giebt man von dem Gemisch (dem Reagens) so viel, als der zum Apparate gehörende Löffel fasst. Man füllt bis *A* mit Wasser, schüttelt, um das Reagens zu lösen, und giesst dann bis *U* Harn in den Cylinder. Man verschliesst mit dem Kautschukstopfen und dreht den Cylinder zehnmal langsam um. Nach 24stündigem Stehen giebt die Zahl des Teilstriches am Cylinder, welchen der Niederschlag erreicht, die Gramme Albumin

in einem Liter Harn an. Das Asaprolreagens kann auch als 10% Lösung angewendet werden.

Beurteilung.

Die Methode ist, wie alle anderen ähnlichen, selbstverständlich keine exakte; dieselbe wird aber für den Arzt zur Orientierung bei vergleichenden Versuchen immerhin brauchbaren Aufschluss geben.

6. Bestimmung nach Esbach.

Aus der Höhe eines erhaltenen Eiweissniederschlags wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harnes an Eiweiss geschätzt.

Das Esbach'sche Reagens, mit welchem das Eiweiss gefällt wird, ist eine Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Citronensäure im Liter Wasser.

Ausführung.

Sauer reagierender Harn — wenn dies nicht der Fall ist, so säuert man ihn deutlich mit Essigsäure an —, wird in ein

¹⁾ Apoth.-Ztg. 72. 89; Chem. Centrbl. 1897. 68. I. 558.

graduirtes Rohr (Albuminimeter), das inzwischen in verschiedenen Formen zur Anwendung gelangt (Fig. 36), bis zur Marke *U* eingegossen, darauf bis zur Marke *R* die Reagenslösung nachgefüllt, das Glas mit dem Kautschukstopfen verschlossen und, ohne zu schütteln, 10—12mal umgekehrt. Man lässt es in einem Gestell aufrecht stehen und liest in dem graduirten Rohre nach 24stündigem Stehen die Höhe des Niederschlages ab. Die Striche geben in Grammen die Eiweissmenge in 1000 ccm Harn an. Der Harn darf nicht über 0,4 % Eiweiss enthalten und kein höheres spez. Gewicht als 1,008 besitzen; er ist dann entsprechend zu verdünnen; die Bestimmung ist am besten in einem Zimmer mit konstanter Temperatur vorzunehmen, da diese von Einfluss ist.

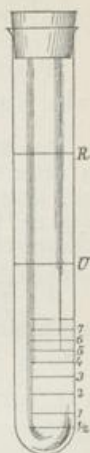


Fig. 36.

Beurteilung.

Das Verfahren ist wie die vorigen ein Schätzungsverfahren. Es kann natürlich keine genauen und verlässlichen Resultate geben; es ist aber schliesslich gerade so gut zu gebrauchen, wie andere empfohlene Proben, die eine approximative Schätzung gestatten.

7. Maassanalytische Bestimmungsmethoden.

Boedeker verwendet eine Ferrocyankaliumlösung in essigsaurer Lösung von bestimmtem Gehalte zum Ausfällen des Eiweisses, Tanret fällt mit einer Lösung von 3,32 g Jodkalium und 1,35 g Quecksilberchlorid in 100 ccm Wasser das Eiweiss aus.

Beurteilung.

Diese Methoden geben ungenaue Resultate, sind unbrauchbar.

Wassilyew¹⁾ verwendet die Salicylsulfonsäure (S. 197) in genau 25 % Lösung.

10—20 ccm Harn (alkalischer Harn wird mit verdünnter Essigsäure schwach angesäuert) werden mit Wasser verdünnt, mit 2 Tropfen einer 1 % wässrigen Lösung von Echthgelb versetzt und mit der 25 % Lösung der Salicylsulfonsäure bis zur bleibenden Ziegelrothfärbung titriert.

1 ccm der 25 % Salicylsulfonsäure = 0,01006 Eiweiss.

Beurteilung.

Nach dem Verf. giebt die Probe zuverlässige Resultate, und ist die Methode für klinische Zwecke vollkommen geeignet.

¹⁾ Petersb. med. Wochenschr. 1896. 331.

Wahl der Methode.

Nur die Methode 1 giebt sichere Resultate, ist auch leicht auszuführen; für manche Zwecke in der Praxis vermögen die Methoden 4—7 (Probe 7 nach Wassilyew) genügend genaue Zahlen zu geben.

Trennung des Albumins vom Globulin (Paraglobulin).

Der Harn darf nicht stark sauer reagieren; stark saure Harne versetzt man daher bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit Kali- oder Natronlauge, lässt einige Zeit stehen und filtriert einen entstandenen Phosphatniederschlag ab; harnsäurereiche Harne kühlt man einige Stunden auf 1° ab und filtriert die ausgeschiedene Harnsäure ab.

1. Von dem so vorbereiteten Harn misst man nach Hammarsten¹⁾ je nach dem Eiweissgehalt des Harnes 25 bis 100 ccm in ein Becherglas ab und füllt, wenn man weniger Harn verwendet, als 100 ccm, auf 100 ccm auf. Man trägt nun in den Harn mehr Magnesiumsulfat in fein gepulvertem Zustande ein (auf 100 ccm etwa 80 g), als er zu lösen vermag und rührt die Mischung sanft um. Nimmt nach 24 Stunden die Menge des ungelöst gebliebenen Magnesiumsulfats nicht mehr ab, — man kann auch in der Wärme bei 40° behandeln, es geht die Lösung schneller vor sich, nur muss man erkalten lassen, damit überschüssig gelöstes Salz erst vor dem Filtrieren auskrystallisiert — so bringt man die Flüssigkeit mit Globulinflocken auf ein gewogenes Filter, rührt alsdann das zurückbleibende Salz wiederholt mit gesättigter Bittersalzlösung an und bringt auch diese Lösung auf das Filter, bis die Magnesiumsulfatlösung nach dem Verrühren des salzigen Bodensatzes klar bleibt. Das Filter wäscht man so lange mit gesättigter Bittersalzlösung aus, bis das Filtrat weder beim Erhitzen für sich, noch nach Zusatz von etwas Salpetersäure getrübt wird. Hierauf wird Trichter samt Filter mehrere Stunden bei 110° im Trockenschrank getrocknet, um das Paraglobulin in den unlöslichen Zustand überzuführen, sodann durch Auswaschen mit heissem Wasser vom Magnesiumsulfat vollständig befreit, mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und schliesslich gewogen. Das Filter mit Rückstand verascht man und bringt die Asche vom gefundenen Globulin in Abzug.

¹⁾ Pflüger's Archiv. 17. 431 u. 447; 22. 437.

2. Nach Hofmeister und Pohl¹⁾ wird das Globulin durch Ammoniumsulfat ausgefällt; der Harn wird mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaktion versetzt, — da bei saurer Reaktion auch das Serumalbumin gefällt wird — vom entstandenen Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung versetzt. Sobald sich der weisse, flockige Niederschlag abgesetzt hat (nach einer Stunde), bringt man ihn auf ein vorher gewogenes Filter und wäscht mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung, bis im Filtrate durch Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachzuweisen ist. Dann behandelt man weiter wie oben angegeben.

Beurteilung.

Die zweite Methode ist einfacher; ein Verstopfen des Filters durch auskrystallisierendes Salz, wie es manchmal bei der ersten Methode zu beobachten ist, kommt nicht vor; dagegen ist ein längeres Stehenlassen, wie angegeben, nicht ratsam, wegen allenfalls ausfallenden Ammoniumurates.

C. Fibrin.

Fibrin kann neben Paraglobulin bei Erkrankungen der Nieren, bei Blutungen in den Harnwegen, sowie bei Chylurie, auch bei hochgradigen Exsudationsprozessen der Harnwege, nach Gebrauch von Cantharidenpflaster vorkommen; dasselbe wird manchmal schon in der Blase koaguliert (Fibringerinnung) und in Flocken ausgeschieden, oder es koaguliert erst nach der Entleerung, indem aus der fibrinogenen Substanz festes Fibrin sich abscheidet. (Fibrinurie.)

Nachweis.

Wenn sich Gerinnsel im Harn vorfindet, sei es in Flocken oder Fasern, so sammelt man dies auf einem Filter und wäscht den Rückstand tüchtig mit 5—10% Kochsalzlösung zur Entfernung von Blutfarbstoff aus, bis die Lösung keine Eiweissreaktion mehr giebt. Ein bleibender Rückstand deutet auf Fibrin, der in der Wärme mit 1% Sodalösung oder 0,5% Salzsäure digeriert, sich lösen und dann in der Lösung die Eiweissreaktionen geben muss.

¹⁾ Archiv exp. Patholog. 1886. 20. 426.

D. Mucin.

Die Mucin genannte Substanz, dem chemischen Charakter nach ein Nucleoalbumin, kommt häufig im Harn, besonders im Harn der Frauen vor; in vermehrter Menge findet es sich bei Affektionen der Schleimhäute der Harnwege; das Mucin ist im Harn teils gelöst, teils so fein verteilt, dass es sich beim Stehen des Harnes als feines Wölkchen (nubecula) ausscheidet, wie man dies im normalen Harn häufig beobachten kann. Ein hoher Mucingehalt vermag die saure wie alkalische Harn gärung zu beschleunigen.

Nachweis und Eigenschaften.

Wenn sich ein filtrierter Harn, der zudem noch verdünnt worden ist, auf Zusatz von überschüssiger Essigsäure trübt, so darf man die Anwesenheit von dem sogenannten Mucin, auch von Nucleoalbumin, Nucleohiston annehmen. Die Verdünnung erscheint notwendig, um einerseits das Ausfällen von Harnsäure, andererseits die lösende Wirkung der Harnsalze (des Kochsalzes) auf das Mucin zu verhindern.

Die Nucleoalbumine lösen sich in Essigsäure, die Nucleohistone enthalten Phosphor (S. 209).

Das Mucin ist unlöslich in Alkohol und Essigsäure, löslich in Neutralsalzlösungen, in Mineralsäuren, in kohlensauren und Ätzalkalien; der mit Essigsäure aus Harn gefällte Körper löst sich in Kalilauge und wird durch Essigsäure wieder ausgefällt. Das Mucin giebt fast alle Reaktionen der Eiweissstoffe; ist phosphorfrei. (Unterschied von Nucleohiston, das sich sonst ähnlich verhält.)

Zur Unterscheidung von Eiweiss dient die Eigenschaft des Mucins, beim Kochen des Harnes bei saurer Reaktion, nach Zusatz von Essigsäure bis zur stark sauren Reaktion sogar, sich auszuschcheiden. Auf Zusatz von Salpetersäure verschwindet die Trübung oder Ausscheidung, wenn sie von Mucin herrührte.

E. Nucleoalbumine.

Die Nucleoalbumine zeigen eine grosse Ähnlichkeit mit den Globulinen, nur sind die ersteren durch einen Gehalt an Phosphor ausgezeichnet; beim Behandeln mit Pepsin spalten sie Nuclein ab. In alkalischer Lösung zerlegen sie sich in

Eiweisskörper und Nucleinsäuren. Sie finden sich im Harn bei fieberhaften Krankheiten, auch bei anderen pathologischen Zuständen, bei Katarrhen der Harnwege, besonders der Blase, bei Leukämie, bei allen Nierenaffektionen, hier neben Eiweiss.

Darstellung und Nachweis.

Man verdünnt den Harn mit der dreifachen Menge Wasser zur Verhinderung der lösenden Wirkung der Harnsalze auf die Nucleoalbumine und versetzt mit Essigsäure; ein entstehender Niederschlag, der Mucin sein oder von Nucleoalbumin herrühren kann, wird auf ein Filter gebracht, gewaschen und in wässrigem Alkali gelöst. In die Lösung trägt man Magnesiumsulfat bei 30° ein, löst den entstandenen Niederschlag in Wasser, fällt nochmals mit Essigsäure und schmilzt den Niederschlag endlich mit Soda und Salpeter. Ist in der Schmelze Phosphorsäure nachweisbar (S. 57), dann ist die Anwesenheit der Nucleoalbumine erwiesen.

Eigenschaften.

Die Nucleoalbumine sind unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform etc., fast unlöslich in Wasser, leicht in wenig Alkali. Zum Unterschiede von Mucin lösen sich die Nucleoalbumine in Essigsäure; durch Magnesiumsulfat, bis zur Sättigung eingetragen, werden sie aus ihren Lösungen gefällt. (Unterschied von Nucleohiston.)

Zu den Nucleoalbuminen im engeren Sinne gehören auch die **Nucleohistone**, die im Tierkörper weit verbreitet zu sein scheinen (in den Leukocyten der Lymph- und Thymusdrüsen); im Harn wurde in einem Falle von Leukämie von Kolisch und Burian und in einem solchen von Pseudoleukämie von A. Jolles Nucleohiston aufgefunden.

Es unterscheidet sich von den Nucleoalbuminen dadurch, dass der durch Essigsäure ausgefällte und abfiltrierte Niederschlag nach dem Lösen in verdünntem kohlensaurem Natron durch Zusatz von schwefelsaurer Magnesia bis zur Sättigung nicht mehr ausgefällt wird und gleichfalls starke Phosphorreaktion giebt.

Darstellung, Isolierung und Bestimmung im Harn.

Nach A. Jolles¹⁾ werden 600—1200 ccm Harn etwa $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade bis 60—70° erwärmt und

¹⁾ Berl. Berichte. 1897. 33. 172.

Spaeth, Untersuchung des Harnes.

dann filtriert. Das Filtrat wird in einem Schüttelcylinder mit Essigsäure vorsichtig und, um den fein verteilten Niederschlag zum Absetzen zu bringen, mit etwas Kieselguhr geschüttelt. Der abgesetzte Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, mit Filter in ein Erlenmeyerkölbchen gebracht, mit ca. 4% Natronlauge digeriert und dann filtriert. Aus dem Filtrat wird erneut durch Essigsäure der Eiweisskörper gefällt und die Reinigung desselben noch zweimal wiederholt. Bei der letzten Fällung mit Essigsäure wird das Gemisch noch mit Alkohol versetzt und der nach kräftigem Schütteln abgeschiedene Niederschlag auf einem Filter gesammelt, mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Filter mit Niederschlag wird mit Salpeter und Soda verascht und in der Asche nach S. 57 oder 58 die Phosphorsäure bestimmt.

Gefundenes $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 0,2795 = \text{P}$.

Nach Lilienfeld zeigt das reine Nucleohiston einen Phosphorgehalt von 3,025%.

Nachweis.

Die Abspaltung der Nucleinsäure und Isolierung der Basen Adenin und Hypoxanthin wird wegen der geringen Mengen niemals möglich werden; doch kann das basische Spaltungsprodukt, das Histon, nachgewiesen werden.

1. Der wie angegeben gereinigte Niederschlag wird mit ca. 1% Salzsäure mehrere Stunden behandelt, dann filtriert und zu einem Teile des salzsäurehaltigen Filtrates Ammoniak zugesetzt. Starker flockiger Niederschlag oder Trübung ist für das Histon charakteristisch.
2. Ein anderer Teil des salzsäurehaltigen Filtrates giebt mit Natronlauge und Kupfersulfat in der Kälte starke Biuretreaktion.
3. In der Hitze koaguliert der Eiweisskörper; das Koagulum löst sich leicht in Mineralsäuren.

Eigenschaften.

Das Nucleohiston ist in Wasser löslich, ebenso in überschüssigen Mineralsäuren, in Alkalien und Neutralsalzen; es koaguliert in neutraler oder schwach alkalischer Lösung in der Hitze. Mit Salzsäure behandelt spaltet es sich in Histon und ein in überschüssiger Salzsäure und verdünnten Neutral-

salzlösungen lösliches Nuclein, Leukonuclein, das weiter in Eiweiss und Leukonucleinsäure zerlegt werden kann.

F. Albumosen.

Mit Albumosen — Hemialbumose, Propepton — bezeichnet man ein Gemenge verschiedener Eiweisskörper, die als Übergangsprodukte bei der Pepsinverdauung zwischen Acidalbuminen und Peptonen entstehen. Im Harn finden sich die Albumosen teils vorübergehend, teils konstant; hier und da sollen sie als Vorläufer der Albuminurie beobachtet worden sein, so dass ihr Nachweis für den Arzt immerhin von Vorteil sein wird.

Man unterscheidet Verdauungsalbumosen, wozu die Hetero-, Proto- und Deuteroalbumose zählen, und die Hemialbumose, die mit der Heteroalbumose wesentlich übereinstimmt.

Da die Albumosen beim Ansäuern und Erhitzen des Harnes nicht gerinnen, so können sie leicht übersehen werden.

Nachweis und Trennung der Albumosen von Albumin, Globulin.

Man sättigt eiweisshaltigen Harn mit festem Kochsalz, giebt wenig Essigsäure hinzu, erhitzt zum Kochen und filtriert heiss; hierbei bleiben Serumalbumin und Paraglobulin vollkommen ungelöst, während die in Lösung gegangenen Albumosen beim Erkalten des Filtrates sich ausscheiden. Man sammelt den Niederschlag, löst ihn in wenig Wasser und prüft die Lösung mit Essigsäure und Ferrocyankalium, sowie mit Salpetersäure (S. 195).

Zur Prüfung auf Albumosen im Harn versetzt man:

1. Harn mit wenig Essigsäure und wenig Ferrocyankalium; bei Gegenwart von Albumosen entsteht ein Niederschlag, der sich in der Wärme löst, beim Erkalten wieder auftritt.

Diese Reaktion allein ist nicht beweisend.

2. Bei Eiweissgehalt wird dieses aus dem Harn durch Koagulieren (Spur Essigsäure) entfernt; zum Filtrate giebt man Kalilauge und Kupfersulfatlösung; man erhält die Biuretreaktion.

Eigenschaften.

Alle Albumosen werden aus schwach alkalischen, neutralen oder sauren Lösungen durch Sättigen mit Ammonsulfat gefällt, die Deuteroalbumose (aus Protoalbumose entstanden) jedoch unvollständig. Alkohol fällt sie aus Lösungen, ebenso Essigsäure und Ferrocyankalium, jedoch lösen sich die Niederschläge in überschüssiger Essigsäure, sowie auch beim Erwärmen und treten beim Erkalten wieder auf. Die einzelnen Albumosen werden durch verschiedene Löslichkeitsverhältnisse gegen Salzlösungen etc. unterschieden, auf welche Einzelheiten jedoch hier nicht eingegangen werden kann, da diese einzelnen Unterschiede für die Zwecke der Harnanalyse ohne Belang sind.

G. *Pepton*.

Findet sich kaum in Spuren im Blut, nicht im normalen Harn, es ist auch selten unter pathologischen Verhältnissen im Harn zu finden, da es die Verdauung nur zu einer unbedeutenden Peptonbildung bringt. Meist erfolgt die Ausscheidung von primären Albumosen. Übrigens werden Peptone Produkte (Hydrate der Albumine) genannt, in die sämtliche Eiweisskörper durch Einwirkung des Magensaftes, der salzsäurehaltigen Lösung des Pepsins etc. übergeführt werden. Beobachtet wurde Pepton in pathologischen Verhältnissen hauptsächlich bei starken Eiterungen, Zerfall organisierter Gewebe (auch im Eiter ist Pepton vorhanden), bei croupöser Pneumonie, Phthise, Phosphorvergiftung. (Peptonurie.)

Peptonurie kommt ohne gleichzeitige Albuminurie vor und zwar vorzugsweise bei Aufnahme des aus zerfallenen Leukocyten und Eiterkörperchen herrührenden Peptons in die Blutbahn.

Nachweis.

Nach Hofmeister kann man zur Vorprüfung des Harnes diesen mit $\frac{1}{5}$ Volumen konz. Essigsäure und darauf mit Phosphorwolframsäure versetzen; entsteht sofort oder nach einiger Zeit eine milchige Trübung, so kann der Harn Pepton enthalten. Ein Ausbleiben der Reaktion ist jedoch noch nicht beweiskräftig und ist für den sicheren Nachweis eine der beiden Darstellungsmethoden zu wählen.

Darstellung und Nachweis.

1. Nach Hofmeister¹⁾ wird ein halbes Liter Harn mit 10 ccm einer konzentrierten Lösung von Natriumacetat versetzt und dann tropfenweise eine konzentrierte Lösung von Eisenchlorid hinzugefügt, bis die Flüssigkeit bleibend rot geworden ist. Bei stark saurem Harn neutralisiert man beinahe, kocht und bringt nach dem Erkalten aufs Filter. Im Filtrate darf kein Eisen, noch Eiweiss vorhanden sein. Das Filtrat wird nun mit $\frac{1}{10}$ seines Volumens konz. Salzsäure und dann mit einer sauren Lösung von Phosphorwolframsäure (man löst 200 g wolframsaures Natron und 120 g phosphorsaures Natron in 1000 ccm Wasser und versetzt diese Lösung mit 100 ccm konzentrierter Schwefelsäure) versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Der abfiltrierte, mit ca. 5% Schwefelsäure enthaltendem Wasser gewaschene Niederschlag wird feucht mit festem Barythydrat verrieben, nach Zusatz von etwas Wasser kurze Zeit schwach erwärmt, bis die anfängliche Grünfärbung in ein reines Gelb übergegangen ist und die Mischung schliesslich filtriert. Das Filtrat wird durch verdünnte Schwefelsäure vom Baryt befreit, das Filtrat eingengt, die Lösung alkalisch gemacht und unter Umschütteln vorsichtig und tropfenweise mit verdünnter Kupfersulfatlösung versetzt; bei Anwesenheit von Pepton (nicht unter 0,1 g) tritt eine zuerst rosa, dann violett werdende Färbung auf (Biuretreaktion). Enthält der Harn Mucin, so entfernt man dieses durch Zugeben einer kleinen Menge (kein Überschuss) Bleiessig.

2. Nach E. Salkowski²⁾ werden 50 ccm Harn mit 5 ccm Salzsäure angesäuert, mit Phosphorwolframsäure gefällt und erwärmt, worauf sich der Niederschlag harzig zusammenzieht. Man dekantiert, spült die harzige Masse zweimal mit destilliertem Wasser ab, übergiesst sie mit 8 ccm Wasser und 0,5 ccm Natronlauge (1,16 spez. Gew.), wobei sich der Niederschlag löst, erwärmt die blaue Lösung bis zum Eintritt einer schmutzig grauen Trübung, kühlt in einem Reagensglase ab und setzt tropfenweise unter Umschütteln

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 4. 253; 5. 195; 6. 51. 264.

²⁾ Centrbl. med. Wissenschaft. 1894. Nr. 7.

1—2% Kupfersulfatlösung hinzu. Bei Peptongegenwart färbt sich die Flüssigkeit lebhaft rot, noch schöner nach dem Filtrieren.

Beurteilung.

Die Methode ist einfach und schnell ausgeführt; es lassen sich noch 0,015% Pepton nachweisen. Zu bemerken ist nur, dass nach Salkowski¹⁾ auch mit ausgefälltes Urobilin die Biuretreaktion geben kann.

Eigenschaften.

Ist amorph, löslich in Wasser, schwer in Alkohol; vereinigt sich mit Basen, Säuren und Salzen. In der Siedehitze giebt Peptonlösung mit keinem Reagens Fällung (Unterschied von Albumin und Globulin) und wird auch durch Säure nicht gefällt, nur in einer mit Bittersalz gesättigten Peptonlösung entsteht auf Zusatz einer Säure ein Niederschlag. Mit Ferrocyankalium und Essigsäure entsteht gleichfalls, selbst bei Gegenwart von Neutralsalzen kein Niederschlag (Unterschied von Albumin, Globulin und Albumosen). Bei Gegenwart freier Säuren wird durch Phosphorwolframsäure, auch Phosphormolybdänsäure, Gerbsäure und Pikrinsäure Pepton gefällt. Die Eiweissreaktionen giebt Pepton auch.

Nachweis der verschiedenen im Harn vorkommenden Eiweissarten.

Um diese im Harn jede für sich nachweisen zu können, verfährt man nach B. G. Gentil.²⁾

- 1, Man mischt 1 Vol. Harn mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers und giebt Essigsäure im Überschuss zu: Fällung — Ausscheidung: Nucleoalbumine, Nucleohistone (Trennung der beiden S. 209). Sind diese vorhanden, so fällt man sie erst durch Bleiacetat aus.
2. Der neutralisierte Harn wird mit gepulvertem Magnesiumsulfat gesättigt (120 g : 100 ccm), reichlich mit Essigsäure versetzt und gekocht: flockiger Niederschlag: Albumin.
3. Der Harn wird mit Ammoniak alkalisch gemacht, nach einer Stunde filtriert, alsdann mit dem gleichen Volumen kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt: flockiger Niederschlag: Globulin.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1897. 34. 356.

²⁾ Deutsch. med. Ztg. 1893. 77.

4. Der Harn wird mit Kochsalz gesättigt, mit Essigsäure im Überschuss versetzt, gekocht und heiss filtriert; ein beim Erkalten auftretender Niederschlag deutet auf Albumosen.
5. Der Harn muss vollkommen von anderen Eiweisskörpern befreit sein und darf sich mit Essigsäure und Ferrocyankalium nicht trüben. Zu 100 ccm Harn setzt man 5—10 Tropfen Bleiacetatlösung, filtriert und fügt 20 ccm Essigsäure und einige Tropfen Phosphormolybdän- oder Phosphorwolframsäure hinzu: weisser Niederschlag: Pepton.

Die Anwesenheit des letzteren bedarf der Bestätigung durch die Biuret-Reaktion.

H. Blut und Blutfarbstoffe.

Das Blut besteht aus einer klaren Flüssigkeit (Blutplasma) mit zahlreichen darin suspendierten, unter dem Mikroskope erkennbaren Gebilden, den roten und weissen Blutkörperchen, die bikonkave Scheiben ohne Kern darstellen; aus der Ader ausgetreten gerinnt das Blut leicht unter Ausscheiden von Fibrin, das mit den Blutkörperchen den Blutkuchen bildet; die übrigbleibende Flüssigkeit ist das Serum.

Die roten Blutkörperchen enthalten den die Farbe des Blutes bedingenden, stark eisenhaltigen roten Farbstoff, das Oxyhämoglobin (Hämatoglobulin, Hämatokrystallin), das leicht seinen Sauerstoff verliert und in Hämoglobin übergeht, das sich im venösen Blut findet. Dieses Hämoglobin, das zu den Eiweissstoffen zählt, ist die Grundsubstanz des Oxyhämoglobins; beide können durch geeignete Oxydationsmittel in Methämoglobin umgewandelt werden. Hämoglobin, Oxy- und Methämoglobin bestehen aus einer Verbindung eines Eiweisskörpers mit Hämatin, dem Blutfarbstoff im engeren Sinne.

Zum besseren Verständnis der Methoden des Blutnachweises müssen erst die einzelnen Eigenschaften der hauptsächlich in Betracht kommenden Körper des Blutes voraus Erwähnung finden.

Oxyhämoglobin	Hämoglobin	Methämoglobin	Hämatin
Krystallisierbar; zu den Eiweissstoffen (Proteinen) gehörender Körper von scharlachroter Farbe; löslich in Wasser, nicht in Alkohol; erleidet in wässrigen Lösungen sehr bald Zersetzung; beim Erhitzen der wässrigen Lösung scheidet sich schon bei 70° C. ein aus koaguliertem Eiweiss und Hämatin bestehender brauner Niederschlag aus. Die verdünnten Lösungen sind gelbrot und zeigen charakteristische Streifen im Spektralapparat. Nach Preyer soll das Oxyhämoglobin aus Eiweiss und Hämatin synthetisch darstellbar sein.	Hämoglobin, in den Blutkörperchen eingeschlossen, oder im freien Zustande im Harn gelöst, ist eine Verbindung eines Eiweisskörpers mit Hämatin; geht mit Sauerstoff in das Oxyhämoglobin über. Krystallisiert in violett-roten, im durchfallenden Lichte in grünen Krystallen; die Lösungen sehen violettrot aus und zeigen gleichfalls charakteristische Absorptionsstreifen (Spektralfate); beim Erhitzen einer Lösung erfolgt Zersetzung in Hämatin und koaguliertes Eiweiss, ebenso durch Alkalihydroxyde. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure etc. fällt das Hämoglobin. Eine Spur Hämoglobin mit Eisessig und einer Spur Kochsalz giebt Hämin (salsaures Hämatin, dunkelbraune rhombische Täfelchen), S. 219.	Krystallisiert in braunen, mikroskopischen Nadeln oder Tafeln. Die Lösung ist braun, besitzt dieselbe Zusammensetzung, wie das Hämoglobin und zeigt ein charakteristisches Spektrum (Spektralfate). Unterscheidet sich vom Hämoglobin dadurch, dass es durch Bleiessig gefüllt wird.	Blutfarbstoff. Ist in reinem Zustande blauschwarz, dunkelbraun, unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, in wässrigen Säuren, nur in geringer Menge löslich in Eisessig; leicht löslich in Alkalihydraten und Karbonaten. Zeigt in saurer und alkalischer Lösung, sowie nach der Reduktion charakteristische Absorptionsstreifen (Spektralfate). Durch Einwirkung konzentrierter Schwefelsäure und Behandlung der Lösung in säurehaltigem Alkohol mit Zinn oder Zink entsteht eisengefrees Hämatin — Hämatoporphyrin, das im Harn aufgefunden wurde; braunrote Flocken, in Alkohol leicht mit schön roter Farbe löslich.

Im Harn kann sich vorfinden unverändertes Blut mit noch nicht zerstörten Blutkörperchen, in welchem Falle die Farbe des Blut enthaltenden Harnes heller oder dunkler sein kann; derartiger Harn ist meist mehr oder weniger trübe und enthält meist Faserstoff und Eiweiss, so dass es hier öfters von Wichtigkeit ist, durch quantitative Eiweissbestimmung festzustellen, ob das Eiweiss nur vom Blute oder noch von anderen pathologischen Zuständen herrührt. Häufig zeigt ein bluthaltiger Harn eine schmutzig braune, oft ganz dunkle Färbung, die Folge der Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin; auch kann blutiger Harn grünlichgrau erscheinen, wenn er alkalisch reagiert und zugleich Eiter in beträchtlicher Menge enthält.

Das Sediment, das sich beim Stehen eines solchen Harnes vorfindet, ist meist rotgefärbt und lassen sich in demselben unter dem Mikroskope die charakteristischen roten Blutkörperchen nachweisen, ebenso wie noch Blutcylinder, die mit Sicherheit das Bestehen einer Nierenblutung anzeigen u. dergl. Derivate des Hämatins findet man nicht selten in einzelnen Schollen von braungelblicher Färbung ausgeschieden, auch sind Harncylinder damit gefärbt; zumal wenn Blut im Harn längere Zeit stagniert, findet man diese Formen. Die Erscheinung, bei welcher wirkliches Blut im Harn vorgefunden wird, bezeichnet man als Hämaturie. Diese Erscheinung findet sich nicht selten bei akuter Nephritis, bei Blutungen in die Harnwege infolge Erkrankungen des Nierenbeckens, der Harnleiter, Harnröhre etc. Zur Beurteilung des Ursprunges dieser Blutung giebt die mikroskopische Untersuchung zweifellos den wichtigsten Aufschluss. Enthält der Harn nur Blutfarbstoff, Hämoglobin, Methämoglobin, also keine intakten Blutkörperchen, gelöstes Hämoglobin, so bezeichnet man diesen Zustand als Hämoglobinurie, veranlasst durch verschiedene Krankheitsformen, Blutungen der Niere, bei Vergiftungen nach Amylnitrit, Karbol, Arsen-, Schwefelwasserstoffgas etc. Die Hämoglobinurie kommt bei Zuständen vor, die veranlassen, dass rote Blutkörperchen innerhalb der Blutbahn untergehen und ihren Farbstoff an das Blutserum abgeben (Skorbut, Blattern etc.).

Nachweis.

Für die Erkennung des Blutes (der Blutkörperchen) wird die brauchbarste Methode die mikroskopische Prüfung sein;

zur Ermittlung der Blutfarbstoffe (Hämatin), besonders zur Trennung des Oxyhämoglobins, Hämoglobins, Methämoglobins voneinander ist die spektroskopische Prüfung fast die einzig und allein richtige Resultate gebende, wenn auch der chemische Nachweis schon in den meisten Fällen die Anwesenheit von Blut konstatieren lässt. Diese Anwesenheit von Blut direkt ist erwiesen, wenn im Sedimente die Blutkörperchen gefunden werden.

Für den Nachweis von Blut direkt, Hämoglobin, Methämoglobin etc. dienen folgende allgemeine Reaktionen.

1. Erhitzt man blutigen Harn wie zum Nachweis des Albumins zum Kochen und fügt Spuren Salpetersäure hinzu, so erscheint das koagulierte Eiweiss nicht weiss, sondern mehr oder minder braun gefärbt, da Blut, Hämoglobin und Methämoglobin koaguliert werden und koaguliertes Eiweiss ausgeschieden wird.
2. Macht man (Heller's Probe) den Harn mit Natronlauge stark alkalisch und erwärmt, so giebt Hämoglobin gleichfalls hierbei Protein und Hämatin, das von den abgeschiedenen Erdphosphaten aufgenommen wird; es erscheint der bei normalem Harn weisse oder grauweisse Niederschlag dann braunrot oder schön blutrot, der wegen des ausgeschiedenen Hämatins bei auffallendem Lichte grünlich erscheint, Dichroismus zeigt. Der erhaltene Niederschlag kann zur Häminprobe (4) verwendet werden. Man löst die im Niederschlage vorhandenen Phosphate der Erdalkalien in Essigsäure und verwendet das ungelöste Hämatin zur Darstellung der Teichmann'schen Krystalle.

Beurteilung.

Reagiert der Harn alkalisch, so sind die Erdphosphate meist schon ausgeschieden, sedimentiert; um die gefärbte Hämatinverbindung mit den Erdphosphaten zu erhalten, vermischt man vor dem Erwärmen diesen Harn entweder mit einigen Tropfen einer Chlorbaryum- oder Chlorcalciumlösung oder mit dem gleichen Volumen eines normalen sauren Harnes.

Die bei Einnehmen von Senna, Rheum, Santonin in den Harn übergehenden Farbstoffe veranlassen auch eine Rotfärbung der Erdphosphate; jedoch fehlt hier die Erscheinung des Dichroismus. Die Farbstoffe dieser Arzneimittel können noch nach den bei den Arzneimitteln (s. d.) angegebenen Methoden identifiziert werden.

3. Kleine Mengen von Hämoglobin lassen sich nachweisen, wenn man nach Struve¹⁾ den Harn in einem Reagens-

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 11. 29.

gläschen zuerst mit etwas Ammoniak oder Ätzkali, dann mit Tanninlösung und Essigsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Aus dem sich aus der Flüssigkeit absetzenden schwärzlichen Niederschlag — gerbsaures Hämatin — kann man nach dem Auswaschen desselben Hämatin krystallisiert herstellen.

Harn mit alkalischer Fäulnis kann für diese Probe nicht verwendet werden.

4. Mikroskopisch chemischer Nachweis durch die Teichmann'sche Häminprobe, Häminkrystalle.

Man erwärmt auf einem Objektträger eine Spur Hämoglobin oder bluthaltigen Harn oder eine kleine Menge von den bei 1—3 enthaltenen Niederschlägen mit Eisessig und einer Spur Kochsalz vorsichtig, bis sich im Eisessig Bläschen entwickeln, wobei der verdampfende Eisessig tropfenweise durch neuen ersetzt wird. Bei Gegenwart von Hämatin färbt sich die Flüssigkeit allmählich braunrot. Man lässt dann das Präparat erkalten und schliesslich bei c. 45° allen Eisessig langsam verdunsten. Dann betrachtet man die braunen Stellen unter dem Mikroskop. Die hierbei entstandenen Häminkrystalle erkennt man an ihren Farbennüancen zwischen rotbraun, kaffeebraun und hellbraun und an ihrer Form; sie bilden rhombische Täfelchen, die oft sehr dünn, der Länge nach ausgezogen und zu zweien oder mehreren über Kreuz liegen (Fig. 37). Noch deutlicher treten die Krystalle hervor, wenn man Glycerin zum Präparate giebt.



Fig. 37. Häminkrystalle.

5. Nach Lecanu kann man das gefärbte Koagulum (bloss Kochen) im Harn mit schwefelsäurehaltigem Alkohol in gelinder Wärme ausziehen; Hämoglobin zerlegt sich beim Kochen in eine Eiweisssubstanz und Hämatin; letzteres löst sich in saurem Alkohol; die Lösung zeigt im Spektrum einen Absorptionsstreifen in Rot (Spektraltafel).

6. Gujakprobe Alméns.

Dieselbe beruht auf der Eigenschaft des Hämoglobins zu den sogen. Ozonträgern, denen es das Ozon leicht entzieht, um es an andere Stoffe, hier an das Gujakharz abzugeben. Man schüttelt gleiche Volumina frisch bereiteter (1:100 absolutem Alkohol) Gujaktinktur und altes Terpentinöl tüchtig untereinander; die Mischung darf keine Blaufärbung zeigen; dann giebt man den zu prüfenden Harn hinzu. Ein an der Berührungsstelle erscheinender, zuerst blaugrüner, dann blauer Ring deutet auf Anwesenheit von Blut und Blutfarbstoff. Beim Umschütteln wird die Mischung mehr oder weniger blau.

Beurteilung.

Die Probe ist nicht absolut beweisend, zumal auch Eiter und Oxydationsmittel diese Reaktion geben. Alkalischer Harn ist schwach anzusäuern.

Die eben angegebenen Proben lassen eine Unterscheidung zwischen Hämoglobin, Methämoglobin und Hämatin nicht zu; hierzu ist die spektroskopische Untersuchung mittels des Spektralapparates oder der einfachen Spektroskope (Taschenspektroskope) nötig.

7. Die spektroskopische Prüfung beruht auf der Fähigkeit des Hämoglobins, Oxyhämoglobins, Methämoglobins, bestimmte Lichtstrahlen zu absorbieren, so dass sich im Spektrum bestimmte dunkle Streifen, Absorptionsstreifen zeigen.

Fig. 38 zeigt einen grösseren Spektralapparat (Kirchhoff-Bunsen). Derselbe besteht aus einem Prisma *P*, das mit einer Kapsel bedeckt ist, und aus drei auf einem Stativ ruhenden Röhren.

Das Rohr *A*, das Kollimatorrohr, hat an dem dem Lichte oder der Flamme zugekehrten Ende einen vertikalen Spalt, der durch eine besondere Spaltvorrichtung (*F, f*) und eine Mikrometerschraube enger oder weiter gemacht werden kann; am anderen vorderen Ende des Rohres *A* befindet sich eine Sammellinse, deren Brennweite gleich ihrer Entfernung vom Spalt ist. Das durch den Spalt eingetretene Licht wird parallel auf das Prisma *P* geworfen und hier gebrochen; die Lichtstrahlen treten in das Fernrohr *B* und durch das Okular (eine Lupe) mit 6—8 maliger Vergrösserung wird das Spektrum beobachtet. Um in demselben zum Messen geeignete feste Punkte herzustellen, befindet sich in dem Rohr *C* eine durchsichtige Skala, die von aussen durch eine Flamme beleuchtet ist und deren Strahlen, nachdem sie durch eine Linse parallel gemacht sind, von der Vorderfläche des Prismas in das Fernrohr reflektiert werden und so mit dem Spektralbündel in das Auge gelangen, wodurch dieses die Teilstriche an verschiedenen Stellen des Spektrums sieht.

Zur richtigen Einstellung des Apparates entfernt man das Prisma *P* und sieht durch das Kollimatorrohr bei mässig geöffnetem Spalte; man zieht das Rohr mit dem Spalte so weit aus, bis die Ränder des letzteren scharf begrenzt erscheinen; das Fernrohr *B* wird so eingestellt, dass man weit ent-

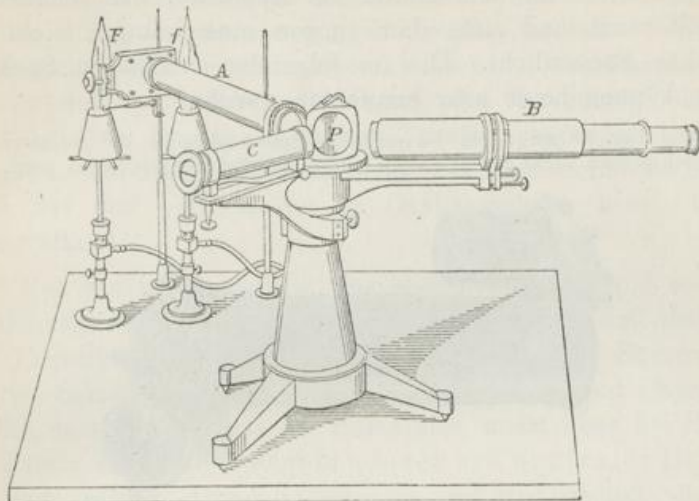


Fig. 38.

fernte Gegenstände deutlich erkennt. Man bringt nun das Prisma wieder an seine Stelle, bedeckt es mit der Kapsel, um fremdes Licht abzuhalten, und schiebt das die Skala tragende Rohr *C* bei Beleuchtung soweit ein, dass die Teilstriche der Skala durch das Fernrohr scharf zu erkennen sind.

Zur Untersuchung des Harnes wird der filtrierte und nach Bedarf verdünnte Harn, der bei alkalischer Reaktion mit Essigsäure schwach anzusäuern ist, in ein Gefäss mit zwei planparallelen farblosen Glaswänden — Hämatinometer — (Reagensgläser können auch benützt werden) gebracht und dieses dicht vor den Spalt des Kollimatorrohres *A* so gestellt, dass die Strahlen der hinter dem Glasgefäss befindlichen stark leuchtenden Gas- oder Petroleumlampe senkrecht durch die Flüssigkeit hindurch gehen müssen.

Durch eine Lampe wird die Skala (Rohr *C*) beleuchtet und durch das Fernrohr *B* wird die Beschaffenheit des Spektrums und die Lage der Absorptionsstreifen mit der beleuchteten Skala bestimmt.

Ausgezeichnete Dienste leisten die eben so genaue Resultate gebenden und viel leichter zu handhabenden Taschenspektroskope von Browning oder Vogel; ja dieselben zeigen

die Absorptionserscheinungen meist noch deutlicher und schärfer, als die grossen Apparate. Man giebt in die Glasröhre den zu untersuchenden, filtrierten und eventuell verdünnten Harn, befestigt diese an dem Halter am Apparate, der vorher eingestellt wird und sieht dann gegen eine Lampe, nicht ins direkte Sonnenlicht. Die im folgenden erwähnten Spektroskope können beide sehr empfohlen werden.

Die Fig. 39 zeigt ein Vogel'sches Spektroskop,¹⁾ bei welchem das Vergleichsprisma nicht horizontal, sondern parallel ausgeschaltet wird, wo-

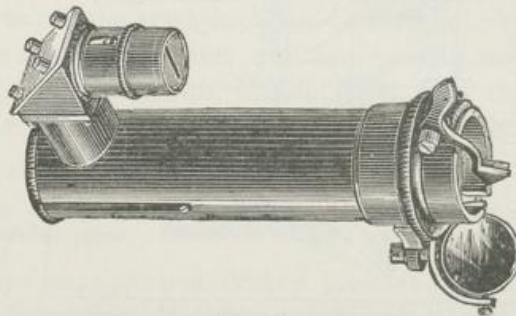


Fig. 39.

durch das Vergleichsprisma stets in ein und dieselbe Lage zu dem Hauptspektrum zu stehen kommt und das Arbeiten ungemein erleichtert wird. Der Preis für dieses sehr empfehlenswerte Spektroskop beträgt 74 Mark.

Fig. 40 stellt ein ganz einfaches Spektroskop mit einem Prismensystem von ziemlich starker Dispersion dar, das bei ausgedehntem Spektrum eine sehr grosse Anzahl Fraunhofer'scher Linien zeigt. Durch den auf dem Rohr befindlichen mit dem Kollektivglase fest verbundenen Knopf wird die

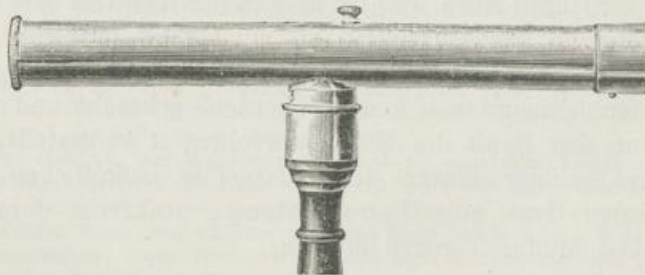


Fig. 40.

Fokuseinstellung für die verschiedenen Augen leicht bewerkstelligt. Der vorn am Rohr befindliche Spalt ist mit einer Glasplatte vor Staub geschützt, so dass das Spektrum stets rein ohne Querlinien erscheint. Eine beigegebene Vorrichtung ermöglicht das Halten von Reagiergläsern bei Absorptionsuntersuchungen. Dieses Spektroskop¹⁾ kostet nur 18 Mark.

¹⁾ Zu beziehen durch die Firma Hans Heele in Berlin.

Normales frisches Blut zeigt das Oxyhämoglobinspektrum, das auch immer noch entsteht, wenn Butkörperchen vorhanden sind, 2 Absorptionsstreifen in Grün und Gelb zwischen den Fraunhofer'schen Linien *D* und *E*; diese Streifen werden durch Zusatz von einigen Tropfen farblosen Schwefelammoniums oder einer ammoniakalischen, weinsäurehaltigen Eisenvitriollösung durch Reduktion des Oxyhämoglobins in Hämoglobin zu einem breiten Streifen umgewandelt; beim Schütteln der Hämoglobininlösung an der Luft nimmt sie Sauerstoff auf und geht wieder in Oxyhämoglobin über. (Siehe Spektraltafel.)

Das Methämoglobin, das ebensoviel Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin enthält, aber in stärkerer Bindung, und das unter der Einwirkung oxydierender Agentien, sowie von Säuren und sauren Salzen im Harn aus dem Hämoglobin und Oxyhämoglobin entsteht und das bei Hämaturie, meist aber bei Hämoglobinurie sich findet, zeigt in saurer und neutraler Lösung deutlich einen Absorptionsstreifen in Rot rechts von der Fraunhofer'schen Linie *C*; drei andere schwächere liegen im gelben, grünen und blauen Teil des Spektrums. Dasselbe Spektrum zeigt Hämatin in saurer Lösung. In alkalischer Lösung zeigt das Methämoglobin drei Streifen, einen neben der Linie *D* am Anfange des Gelb, die beiden anderen sind den Streifen des Oxyhämoglobins ähnlich.

Durch Behandeln mit alkalischen Reduktionsmitteln (Schwefelammonium) geht das Methämoglobin in Hämoglobin (breiter Streifen) und dieses durch Schütteln mit Luft in Oxyhämoglobin über.

Eine weitere Probe des filtrierten Harnes kann man mit Essigsäure sauer machen und sowohl direkt, als auch nach dem Alkalischemachen mit Ammoniak oder Kalilauge im Spektralapparate betrachten. Im ersten Falle sieht man, wenn Blutfarbstoffe vorhanden sind, das Spektrum des Hämatins in saurer, im anderen Falle in alkalischer Lösung. Das Säurehämatin zeigt fast dieselben Absorptionsstreifen, wie das Methämoglobin; durch die leichte Überführung des Hämatins in das reduzierte Hämatin — Hämochromogen — lassen sich Säurehämatin und Methämoglobin sicher unterscheiden.

Die alkalische Lösung des Hämatins zeigt einen etwas verschwommenen Streifen zwischen *C* und *D*; nach Zusatz von Schwefelammonium werden die Streifen des reduzierten Hämatins (Hämochromogen) sichtbar, besonders der scharf begrenzte zwischen *D* und *E*. Die Streifen des reduzierten Hämatins stehen dem violetten Teil des Spektrums näher, als die ähnlichen Streifen des Oxyhämoglobins.

In bluthaltigem Harne wird man also, wenn noch Blutkörperchen vorhanden sind, die Streifen des Oxyhämoglobins sehen, oder es ist neben diesen Streifen der Methämoglobinstreifen (dieser auch allein) zu finden; endlich kann man nach dem breiten Streifen des reduzierten Hämoglobins sehen, das jedenfalls durch beginnende Fäulnis im Harn aus dem Methämoglobin entstanden ist. Sieht man letztere Streifen, so kann man durch Schütteln der Harnlösung an der Luft die Oxyhämoglobinstreifen erzeugen.

Sicher ist der Nachweis des Hämoglobins im Harn, wenn es gelingt, nach Zusatz von Schwefelammonium zum Harne das Spektrum des sauerstofffreien Hämoglobins zu erhalten oder das Spektrum des reduzierten Hämatins zu erzeugen.

Kurzer Gang zum Nachweis von Blut im Harne und Wahl der Methode.

1. Man lässt eine grössere Menge Harn in einem cylinderförmigen Glase stehen, giesst die klare Flüssigkeit ab und lässt den Rückstand in einem Sedimentirglase absetzen. Nach mehrstündigem Stehen untersucht man den etwa vorhandenen Bodensatz mit dem Mikroskope auf die Anwesenheit von Blutkörperchen, Blutcylinder.
2. Man stellt die altbewährte Heller'sche Probe (Nr. 2) und dann Probe 4, Teichmann'sche Häminprobe an.
3. Erfolgt die spektroskopische Prüfung, besonders wenn die vorerwähnten Proben keine positiven Resultate geben.

Anhaltspunkte zur Beurteilung des Ortes der Blutung.

Geringe Blutmenge, innig mit dem Harn gemengt, im Sedimente die charakteristischen, aus geronnenem Blute bestehenden Abgüsse der Harnkanälchen, — Blut- auch Faserstoffcylinder mit eingeschlossenen Blutkörperchen neben freien

Blutkörperchen, fettig entartetes Epithel, eine grössere Menge Eiweiss, wie dem Blutgehalt entspricht, weisen auf Nierenblutungen hin.

Grössere, mit dem blossen Auge stark sichtbare Blutgerinnsel im Harn sind nicht die Folge von Nierenblutungen.

Plattenepithelien der Blase und Urethra, das Fehlen der oben angegebenen Cylinder weisen auf Blutungen aus der Blase und dem Ureter hin.

Bei Blutungen aus dem Nierenbecken findet sich stets Eiter, auch Blutgerinnsel.

Urorubrohämatin und Urofuscöhämatin

sind im Harne eines Leprakranken aufgefunden worden; der Harn war tief dunkelrot und wurde allmählich braun, zuletzt fast schwarz; der rote Harn zeigte das Oxyhämoglobinspektrum; überhaupt scheinen die beiden Farbstoffe mit dem Blutfarbstoff in irgend einem Verhältnis zu stehen, Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und aus dem Hämatin durch Aufnahme von Wasser entstanden zu sein.

Hämatoporphyrin.

Das Hämatoporphyrin, eisenfreies Hämatin, dessen Bildung bereits Seite 216 erwähnt wurde, wurde im Harne bei verschiedenen Krankheiten (Rheumatismus, Addison'scher Krankheit, Lebercirrhose, bei paroxysmaler Hämoglobinurie) aufgefunden; besonders charakteristisch ist das Auftreten desselben nach längerem Sulfonalgebrauch, bei chronischer Sulfonalvergiftung; auch nach Trional-Gebrauch ist im Harn Hämatoporphyrin vorhanden.

Darstellung und Nachweis.

Ein Hämatoporphyrin enthaltender Harn macht sich durch seine braunrote Farbe bemerkbar; in dünnen Schichten erscheint der Harn gelbrot bis violett. Um den Farbstoff zu eliminieren, werden nach E. Salkowski¹⁾ 20—25 ccm Harn mit einer aus gleichen Teilen kaltgesättigter Ätzbarytlösung und Chlorbariumlösung (1:10) bestehenden Mischung gefällt, der Niederschlag gesammelt und mit Wasser und dann einmal mit Alkohol gewaschen. Aus dem Niederschlag zieht man

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 15. 286.

Spaeth, Untersuchung des Harnes.

durch wiederholtes Aufgiessen eines erwärmten Gemisches von 10 Teilen absoluten Alkohol mit 6—8 Tropfen Salzsäure das Hämatoporphyrin aus, oder man vermischt durch Verreiben des Rückstandes (gefällten Niederschlages) denselben mit einigen Tropfen Salzsäure und Alkohol, lässt einige Zeit stehen, erwärmt auf dem Wasserbade und filtriert.

Bei geringem Gehalt des Harnes an Hämatoporphyrin fällt man den Harn mit Bleiessig und verfährt mit dem Bleiniederschlag wie angegeben (Behandeln mit salzsäurehaltigem Alkohol). Das gefärbte Filtrat wird nach dem Neutralisieren mit Ammoniak mit Baryt und Chlorbariumlösung gefällt und dann weiter, wie angegeben, verfahren.

Man hat bei der Darstellung, besonders der letzten, darauf zu achten, dass der Alkoholauszug nicht mehr als einige Kubikcentimeter (bei reichlicher Anwesenheit 10 ccm) beträgt.

Die saure Lösung wird im Spektralapparat geprüft; es zeigt sich (Spektraltafel) ein Streifen vor *D* und ein zweiter breiter Streifen zwischen *D* und *E*; man macht dann die Lösung durch Ammoniakzusatz alkalisch; hierbei nimmt die Lösung einen gelben Farbenton an und zeigt im Spektrum vier Streifen vom roten bis zum violetten Ende des Spektrums; und zwar folgt auf je einen schmalen Streifen ein breiter. (Spektraltafel.)

Eigenschaften.

Das Hämatoporphyrin ist eisenfrei und bildet braunrote, amorphe Flocken, die sich fast nicht in Wasser, Äther, Benzol, Chloroform, leicht in Alkohol, ätzenden und kohlensauen Alkalien und in verdünnten Säuren lösen. Hammarsten konnte aus mehreren Harnen das Hämatoporphyrin in Krystallen darstellen. Die alkoholischen Lösungen sind rot, ebenso die in verdünnten Säuren; Ammoniak bewirkt gelbliche Färbung. In warmer rauchender Salpetersäure löst es sich mit roter Farbe, die aber bald grün, dann blau und endlich gelb wird. Durch Kochen mit Zinn und Salzsäure wird es in einen Körper übergeführt, der Ähnlichkeit mit Urobilin hat. Mit Salzsäure bildet es ein in braunen Nadeln krystallisierendes Salz ($C_{16}H_{18}N_2O_3 \cdot HCl$), das durch Wasser zersetzt wird. Mit Natron bildet es kleine, braune, doppelbrechende Krystalle ($C_{16}H_{17}NaN_2O_3$), in Wasser leichter löslich als das Chlorid. Mit essigsauren

Salzen der Schwermetalle giebt es unlösliche, amorphe, rote oder braune Niederschläge. Hämatoporphyrin zeigt in saurer und alkalischer Lösung das schon erwähnte charakteristische Spektrum; das Hämatoporphyrin und seine Verbindungen sind sehr leicht veränderlich. Beim Behandeln des Hämatoporphyrins in saurer alkoholischer oder alkalischer Lösung mit Zinn oder Zink entstehen Hämatoporphyridin, Mac. Munn's Urohämatin und das Urobilinoidin, dieses spektroskopisch gleich mit dem Urobilin.

Nach Hammarsten¹⁾ scheinen verschiedene Hämatoporphyrine im Harn vorzukommen, da in einem Falle der isolierte Farbstoff in seinem spektroskopischen Verhalten kleine Abweichungen zeigte.

35. Die Harnfarbstoffe.

Dass der normale Harn mehr als einen Farbstoff enthält, ist wohl als sicher anzunehmen, wenn auch diese Farbstoffe noch nicht eliminiert und charakterisiert werden konnten, weil die Untersuchung auf diese noch dadurch erschwert ist, dass bei der Gewinnung der Farbstoffe eine Veränderung nicht ausgeschlossen ist. — Ausser den fertigen Farbstoffen (den präformierten) enthält der Harn noch eine Reihe sogenannter Chromogene, Farbstoffbildner, welche erst bei der Einwirkung der Luft, durch Oxydation, Farbstoffe erzeugen.

Zu den fertigen Farbstoffen zählen:

Chromogene sind:

die normalen Harnfarbstoffe,	schwarze und braune Farbstoffe,
Uroerythrin,	
die Blutfarbstoffe,	rote Farbstoffe,
die Gallenfarbstoffe.	blaue Farbstoffe.

A. Normale Harnfarbstoffe.

Normaler Harn zeigt keine Absorptionsbänder, er absorbiert nur das Licht in verschiedenen Regionen des Spektrums mit ungleicher Stärke, und zwar wächst diese Absorption des Lichtes in der Richtung von Rot gegen Violett; doch kommen bei verschiedenen Harnen erhebliche Schwankungen vor. Der Farbstoff des normalen Harnes lässt sich durch Bleiacetat,

¹⁾ Skand. Archiv Physiol. 1891. 3. 319.

Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure, wenn auch nicht vollständig, fallen und durch Tierkohle mehr oder weniger vollständig entfärben.

B. Uroerythrin (Purpurin).

Dieser Farbstoff, ein stark eisenhaltiger Körper, bedingt die ziegelrote Färbung der Uratsedimente und tritt sowohl im normalen Harne, besonders reichlich aber öfters im pathologischen Harne auf (bei Fieberkranken). Möglicherweise geht bei fieberhaften Prozessen ein Teil der Blutkörperchen zu Grunde und erleidet der Blutfarbstoff eine solche Veränderung, dass er den Körper als Uroerythrin verlässt. Das Uroerythrin befindet sich nach S. Zoja im Harne wahrscheinlich als Natriumsalz in Verbindung mit Uraten. Die Uroerythrinurie hängt wahrscheinlich stets von einer Affektion der Leber ab. Dieser Farbstoff wird durch Natronlauge grün gefärbt. Nach Heller giebt solcher uroerythrinhaltige Harn mit konzentrierter Bleizuckerlösung eine Fällung, die licht rosenrot ist.

C. Blutfarbstoffe (siehe S. 215).

D. Gallenfarbstoffe.

Die Gallenstoffe werden einzig und allein in der Leber bereitet und fließen bei normalen Verhältnissen in den Darm, um hier zur Verdauung beizutragen und besonders Fette resorbieren zu helfen, so dass im gesunden Zustande des Menschen im normalen Blute keine Galle vorhanden ist. Unter pathologischen Verhältnissen tritt die Galle vermittelt starken Druckes durch Resorption der Gallenbestandteile von den Lymphgefäßen in den Blutstrom (hepatogener Ikterus) und erzeugt dann die bekannten ikterischen Erscheinungen (Gelbfärbung der Haut, des Augapfels); ein Teil der in das Blut gelangten Galle wird durch die Nieren im Harne ausgeschieden und sind dann im Harne die Gallenfarbstoffe, selten auch die Gallensäuren (gallensauren Salze) vorhanden.

Die Gallenfarbstoffe sind sicher Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und werden durch die Leber aus dem Hämoglobin gebildet, indem dieses in Eiweiss und Hämatin zerfällt, welches letzteres nach Nencki und Sieber unter Austritt von Eisen

und Aufnahme von Wasser in Bilirubin umgewandelt werden soll.

Der hepatogene Ikterus wird veranlasst durch eine Hemmung oder durch Aufhebung des Abflusses der Galle aus der Leber infolge einer Verstopfung der Gallengänge durch Gallensteine oder nach zahlreichen Vergiftungen (Phosphor, Arsen).

Der hämatogene Ikterus, die Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoffe ausserhalb der Leber, scheint nicht zu existieren.

Ikterischer Harn zeigt eine safrangelbe, rötlichbraune, braune (bierähnliche), auch ins Grüne schillernde Farbe, schäumt stark beim Schütteln mit einem mehr oder weniger gelb gefärbten Schaume; die Färbung entspricht häufig nicht dem Gehalte an Bilirubin. Mit der Ausscheidung der Gallenbestandteile können auch Eiweissabsonderungen verbunden sein, der Harn kann trüb sein und ein Sediment bilden, das aus reichlichem Epithel, aus mit Farbstoffkörnern versehenen Cylindern, auch freien kleineren oder länglicheren Körnchen von grüner bis schwarzer Farbe, widerstandsfähig gegen Reagentien, bestehen kann. Von den verschiedenen Farbstoffen ist mit voller Sicherheit im frischen ikterischen Harne nur das Bilirubin (meist als Alkaliverbindung) aufgefunden worden. Dieses ist die Muttersubstanz der übrigen Gallenfarbstoffe, — Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Bilihumin — die sich leicht beim Stehen des Harnes bilden, also als Chromogene aufzufassen sind (s. S. 230).

Nachweis der Gallenfarbstoffe.

Enthält der Harn Blut und Blutfarbstoff neben dem Gallenfarbstoff, so fällt man den Gallenfarbstoff durch Bleiessig, filtriert den Niederschlag ab, zersetzt ihn nach dem Auswaschen mit kohlensaurem Natron und benützt das Filtrat oder die durch Ausschütteln mit Chloroform erhaltene Farbstofflösung zum Nachweis von Gallenfarbstoffen.

1. Methode von Gmelin-Tiedemann.

In ein Reagensglas giebt man ca. 5 ccm schwach gelbe Salpetersäure (am besten Salpetersäure, der man einen Tropfen rauchende Salpetersäure zugesetzt hat) und auf diese vorsichtig, ohne dass eine Vermischung der Flüssigkeiten eintritt, am Rande des Glases entlang mit einer Pipette ebensoviel Kubikcenti-

Bilirubin $C_{46}H_{78}N_2O_4$	Biliverdin $C_{46}H_{78}N_2O_4$	Biliprasin $C_{46}H_{78}N_2O_6$	Bilifuscin $C_{46}H_{78}N_2O_4$
Kommt in der Galle und in den Gallensteinen vor; scheint ein Umwandlungsprodukt des Binfarbstoffes zu sein. Es lässt sich aus seiner Chloroformlösung in roten, rhombischen Tafeln kristallisieren gewinnen. In Wasser ist es unlöslich, wenig löslich in Äther, leichter in Alkohol, leicht in Chloroform; in Alkalien löst es sich leicht und wird durch Säuren daraus wieder abgeschieden. Mit den alkalischen Erden und den Oxyden der Schwermetalle bildet es in Wasser unlösliche Verbindungen. In alkalischen Lösungen verwandelt sich das Bilirubin unter Absorption von Sauerstoff in grünes Biliverdin. Eine Bilirubinlösung in Chloroform färbt sich beim allmählichen Zusatz von Salpetersäure (etwas rauchende enthaltend) oder Bromwasser erst grün, dann blau, violett, rot und endlich gelb. Naszierender Wasserstoff färbt Bilirubin in Hydrobilirubin über, das mit Urobilin identisch sein soll.	Findet sich in der Galle und Gallensteinen, in ikterischen Harnen, die nach längerem Stehen grün geworden sind, und in den aus dem Magen erbrochenen grünen Massen. Es bildet ein amorphes, schwarzgrünes Pulver, unlöslich in Wasser, Äther und Chloroform, löslich in Äthyl- und Methylalkohol mit blaugrüner Farbe, die durch eine Spur Säure feurig grün wird. Es löst sich in Alkalien mit grüner Farbe und wird durch Säuren in Form von grünen Flocken gefällt. In konz. Essigsäure und Salzsäure löst es sich gleichfalls; mit Salpetersäure giebt es die gleichen Reaktionen, wie das Bilirubin.	Bildet ein amorphes, grünlich schwarzes Pulver; in Wasser, Äther, Chloroform unlöslich; löst sich in Alkohol mit rein grüner Farbe; auf Zusatz von Ammoniak wird die Lösung braun (Unterschied von Biliverdin). In Alkalien ist es leicht löslich mit brauner Farbe, die durch Säure in Grün übergeht (Unterschied von Bilifuscin). Man nimmt deshalb an, dass die braunen, ikterischen Harnen, die sich auf Zusatz einer konz. Mineralsäure grün färben, Biliprasin enthalten.	Nur in Gallensteinen, scheint aber doch auch im Harn vorzukommen. Dunkelbraun, unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform; löst sich in Gegenwart von fetten Säuren in Äther und Chloroform; die braune Lösung im Alkohol ändert sich durch Säuren nicht. Das Endprodukt der Oxydation aller Gallenfarbstoffe in alkalischer Lösung an der Luft ist das Bilinubin, das sich auch in den Gallensteinen als schwarzbrauner Körper findet.

meter Harn. Es entsteht bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen an der Berührungsstelle ein smaragdgrüner Ring, der allmählich höher steigt, und an der unteren Grenze nach und nach ein blauer, violettroter oder gelber Ring. Manchmal tritt infolge zu grossen Gehaltes der Salpetersäure an salpetriger Säure eine zu stürmische Entwicklung ein und die Reaktion wird undeutlich. Man kann die Probe auch nach Brücke-Fleischl so ausführen, dass man zu dem Harn eine konzentrierte Natriumnitratlösung giebt und dann konzentrierte Schwefelsäure langsam nachfliessen lässt. Die Reaktion tritt dann langsam ein und hält längere Zeit an. Die Reaktion beruht auf der Oxydation des Bilirubins zu Biliverdin (grüne Färbung).

2. Modifikation nach Rosenbach.

Man filtriert eine grössere Menge Harn durch ein Filter und betupft die innere Seite des Filters mit der etwas rauchende Salpetersäure enthaltenden Salpetersäure; man erhält das gleiche Farbenspiel, wie bei 1.

Beurteilung von 1 und 2.

Charakteristisch für die Gegenwart der Gallenfarbstoffe ist nur die auftretende Grünfärbung, da die blaue und rote Färbung auch andere Farbstoffe (Indican) geben.

Die Salpetersäure darf nicht zu viel salpetrige Säure enthalten, da die Reaktion sonst stürmisch und sehr schnell verläuft; es empfiehlt sich auch die Anwendung der modifizierten Methode von Brücke-Fleischl.

Urine mit geringem Gallenfarbstoffgehalt geben die Reaktion häufig nicht. Übrigens giebt die Rosenbach'sche Modifikation sichere Resultate oder ist schärfer, da man durch Filtrieren grösserer Harnmengen die Gallenfarbstoffe im Filter anreichern kann. Zu bemerken ist, dass auch nach Antipyringenus infolge Bildung von Nitrosoantipyrin ein grüner Ring entstehen kann.

Manche Harn, die Gallenfarbstoff enthalten, geben die Reaktion mit Salpetersäure nicht, da andere Farbstoffe (Urobilin) die Farbenentwicklung hindern; in solchen Fällen verfährt man nach Methode 5 oder 7.

3. Probe von Penzoldt.

Man filtriert Harn durch ein nicht zu grosses Filter, lässt dieses trocknen und bringt einige Kubikcentimeter konzentrierter Essigsäure auf das Filter; man lässt die Essigsäure in ein Glas ablaufen; die Essigsäure ist anfangs gelbgrün, später grün bis bläulichgrün gefärbt, während das Filter beim Trocknen grüne Ränder zeigt.

Beurteilung.

Die Methode ist sicher.

4. Ikterischer Harn färbt sich mit Jodtinktur smaragdgrün (Smith), ebenso mit Eisenchlorid.

Beurteilung.

Die Methode ist nicht allzu scharf; auch entsteht nach Jolles nach Antipyringenuss ebenfalls ein grüner Ring.

5. Um in dunklen, indicanreichen Harnen geringe Mengen Gallenfarbstoffe nachzuweisen, macht man den Harn (100—200 ccm) nach Huppert¹⁾-Hilger²⁾ mit kohlen-saurem Natron alkalisch, versetzt ihn mit Chlorbarium oder fällt ihn mit Barythydrat im Überschusse. Der Niederschlag aus ikterischem Harne ist gelb; wird der abfiltrierte Niederschlag mit Alkohol, der einige Tropfen Schwefelsäure enthält, gekocht, so entfärbt sich der Niederschlag und es entsteht eine sehr schöne grüne Lösung. Zum deutlicheren Nachweis schüttelt man diese Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und einigen Kubikcentimetern (5 ccm) Chloroform; dieses färbt sich tiefgrün.

Beurteilung.

Die Methode ist sehr sicher. Rheum- und Sennahaltige Harne geben eine gelbe Lösung.

6. Schüttelt man 30—50 ccm Harn mit Chloroform aus und überschichtet die Chloroformlösung mit Salpetersäure, die wenig salpetrige Säure enthält, oder mit Bromwasser, so tritt das oben angegebene Farbenspiel bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen ein. Lässt man das Chloroform im Uhrglase verdunsten, so bleiben rotgelbe oder rubinrote Krystalle von Bilirubin zurück, die mikroskopisch untersucht, auf Zusatz von rauchender Salpetersäure schön die Farbenreaktion geben.

7. Probe nach A. Jolles.³⁾

Diese Probe ist eine Modifikation der Huppert'schen. In einen mit Glasstöpsel versehenen Glaszylinder pipetiert man 50 ccm Harn ab, setzt einige Tropfen 10%

¹⁾ Archiv d. Heilkunde. 8. 351. 476.

²⁾ Archiv Pharm. [3] 6. 385.

³⁾ Pharm. Centrhalte. 1894. 35. 198.

Salzsäure, dann im Überschusse Chlorbariumlösung und 5 ccm Chloroform hinzu und schüttelt die Mischung kräftig durch. Nach ruhigem Stehen scheidet sich Niederschlag und Chloroform ab; diese beiden pipettiert man ab, bringt sie in ein Reagensglas und lässt im Wasserbade bei 80° das Chloroform verdunsten. Bringt man dann zu dem Rückstande im Reagensglase vorsichtig (an der Wand herabfliessen lassen) drei Tropfen der Salpetersäure, die etwas rauchende Salpetersäure enthält, so tritt die bekannte Färbung auf.

Beurteilung.

Die Methode ist eine sehr empfindliche.

8. Cholecyaninprobe von Stokvis.

Ist die Gmelin'sche Probe unsicher, so versetzt man 20—30 ccm Harn mit 5—10 ccm Zinkacetatlösung (20%) und stumpft die stark saure Reaktion mit kohlensaurem Natron ab; den entstandenen voluminösen Niederschlag wäscht man auf einem Filter aus und löst ihn in Ammoniak; es wird dadurch das Bilirubin in Cholecyanin (das blaue Oxydationsprodukt, der blaue Ring bei der Gmelin'schen Probe) übergeführt. Wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind, zeigt die ammoniakalische Lösung meistens Fluorescenz und im Spektrum charakteristische Streifen bei *C*, *D* und einen schwachen zwischen *D* und *E*.

9. In zweifelhaften Fällen kann man den reduzierbaren Stoff von Stokvis, der bei der vollständigen Oxydation der Gallenfarbstoffe entsteht, nachweisen. Man fällt den sauren Harn mit Bleizucker, wenn nötig mit Bleiessig, und entfernt den Bleiüberschuss durch Oxalsäure. Das Filtrat wird mit Kaliumhydroxyd alkalisch gemacht und gekocht; wird die Flüssigkeit mehr oder weniger rot, so sind Gallenfarbstoffe vorhanden; die Lösung zeigt im Spektroskop zwischen *D* und *E* einen Streifen oder verwaschenen Schatten.

Wahl der Methode.

Bei einer Prüfung auf Gallenfarbstoffe wird man stets erst die Gmelin'sche Probe I zu Rate ziehen. Bei negativem Ausfall kann man eine von den genauen Methoden (besonders 5 oder 7) in Anwendung bringen.

Zu bemerken ist noch, dass Harne, die nach Einnehmen von Rheum, Santonin oder Senna entleert worden sind, mit ikterischem Harne Ähnlichkeit besitzen. Solcher Harn wird aber auf Zusatz von Alkalien rot und bekommt nach dem Ansäuern seine ursprüngliche Farbe wieder.

Annähernde Bestimmung von Gallenfarbstoff nach A. Jolles.¹⁾

Das Verfahren gründet sich auf die Beobachtung, dass Bilirubin bei Einwirkung alkoholischer $\frac{1}{100}$ -Normaljodlösung quantitativ in einen grünen Farbstoff übergeführt wird, wobei auf 1 Mol. Bilirubin 4 Atome Jod verbraucht werden.

Ausführung.

In einen cylindrisch geformten graduierten Scheidetrichter werden zunächst 5 ccm Chloroform, dann je nach dem Gallenfarbstoffgehalt 5—25 ccm des klar filtrierten Harnes, hierauf 10 ccm einer 20% Chlorbariumlösung und 2 ccm 2% Schwefelsäure gebracht und das Volumen mit Wasser auf 50 ccm ergänzt. Nach kräftigem, mehrere Minuten anhaltendem Schütteln lässt man 5 Minuten lang absitzen und lässt dann 4 ccm des sich absetzenden Gemenges von Niederschlag und Chloroform abfließen. Man giebt nochmals 5 ccm Chloroform hinzu, wiederholt die geschilderte Operation, und so auch ein drittes Mal, nur dass jetzt beim Ablassen eine möglichst vollständige Trennung des Chloroforms von der überstehenden Flüssigkeit erzielt werden muss. Die Chloroformauszüge werden in einem etwa 200 ccm fassenden Erlenmeyer'schen Kolben vereinigt und unter Umschwenken tropfenweise mit alkoholischer $\frac{1}{100}$ -Normaljodlösung versetzt, bis die Lösung einen gleichmässig grünen Farbenton zeigt. Man setzt hierauf 2 ccm Stärkelösung hinzu und titriert, wenn Blaufärbung eintritt, den Jodüberschuss mit $\frac{1}{100}$ -Natriumthiosulfat zurück. Im anderen Falle setzt man den Jodzusatz so lange fort, bis die Chloformlösung einen blauen Stich zeigt, worauf der geringe Jodüberschuss durch 2—3 Tropfen des Thiosulfates zurückgenommen wird.

1 ccm der Jodlösung = 0,00144 g Bilirubin.

Werden mehr als 10 ccm Jodlösung verbraucht, so ist die Bestimmung mit einer geringeren Harnmenge zu wiederholen. Normale und pathologische, aber nicht ikterische Harne verbrauchen nach Jolles bei der angegebenen Verarbeitung 0,0—0,8 ccm Jodlösung auf 100 ccm.

¹⁾ Zeitschr. anal. Chem. 1895. 34. 127.

Im Anschlusse an die Prüfung des Harnes auf die Gallenfarbstoffe soll die Prüfung auf Gallensäuren angereicht werden, da diese Prüfung manchmal unmittelbar nach der Probe auf die Gallenfarbstoffe ausgeführt zu werden pflegt.

Die *Gallensäuren* sind amidartige Verbindungen der Fellin- und Cholsäure mit Glykokoll und Taurin, aus denen sich durch Alkalien oder Säuren die freien Säuren herstellen lassen.

Die Gallensäuren kommen selten im Harne vor; nur bei hepatogenem Ikterus werden sie angetroffen und auch da nur in geringer Menge.

Eigenschaften.

Die Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$ krystallisiert in mikroskopischen Krystallen, schwer in Wasser, leichter löslich in Alkohol und Äther, sehr leicht in Eisessig. Optisch aktiv.

Die Fellinsäure $C_{23}H_{38}O_4$ krystallisiert aus Benzol in glänzenden, rechtwinkeligen Täfelchen; sonst krystallisiert sie nur schwer.

Glykocholsäure und Taurocholsäure sind farblose Nadeln; kommen in der Rindsgalle und Hundsgalle vor.

Die Gallensäuren geben die Pettenkofer'sche Reaktion.

Nachweis.

Wegen des auch im normalen Harne vorhandenen Indikans und des normalen Vorkommens geringer Mengen von Kohlehydraten, von höheren Kohlenwasserstoffen und Säuren der Fett- und Benzolreihe, welche eine rötliche Färbung bei der Pettenkofer'schen Reaktion — einer Furfurolreaktion — veranlassen können, kann der Nachweis von Gallensäuren im ikterischen Harne nicht direkt erfolgen. Man muss daher die Gallensäuren aus dem Harne isolieren und dann die Pettenkofer'sche Reaktion anstellen.

Man fällt deshalb nach Plattner den Harn (100 bis 200 ccm) mit Bleiessig und Ammoniak aus, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen mehrmals mit absolutem Alkohol aus und filtriert heiss. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleies verdunstet man mit einigen Tropfen Sodalösung zur

Trockene, kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus und verdunstet die Lösung auf ein kleines Volumen; man schüttelt reichlich mit Äther, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; dieselben verwandeln sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Krystallnadeln. Man versetzt zur Ausführung der Pettenkofer'schen Reaktion die wässrige Lösung dieser Krystalle oder die wässrige Lösung des Verdampfungsrückstandes von der alkoholischen Lösung mit Soda (oben) mit einigen Tropfen Rohrzuckerlösung (1:10) und setzt dann vorsichtig konzentrierte Schwefelsäure hinzu; es entsteht bei Anwesenheit von Gallensäuren erst eine rote, dann sehr schön violettrote Färbung.

Die mit Wasser oder Alkohol verdünnte Lösung zeigt im Spektrum einen Streifen zwischen *D* und *E* und einen zweiten vor *F*.

Nach Udránszky setzt man zu 1 ccm der wässrigen oder alkoholischen Lösung der Gallensäuren 1 Tropfen 0,1% wässriger Furfurolösung, lässt dann 1 ccm konz. Schwefelsäure zufließen und kühlt ab. Es entsteht selbst bei geringen Mengen von Gallensäuren (Cholsäure) eine schöne pfirsichblütenrote Färbung.

E. Schwarze und braune Farbstoffe.

Dass aus Harnkörpern durch Einwirkung von Agentien Farbstoffe entstehen können oder dass chromogene Farbstoffe in wirkliche Farbstoffe umgewandelt werden, ist von Udránszky bewiesen worden, der durch Einwirkung von Säuren auf den Harn braune und schwarze Farbstoffe herstellen konnte. Es müssen diese in der angegebenen Weise hergestellten Substanzen als mehr oder minder reine Huminkörper bezeichnet werden; nach Udránszky rührt ein Teil der normalen Färbung des menschlichen Harnes von solchen Huminsubstanzen her (Umwandlung von Kohlehydraten in Huminsubstanzen im Körper).

Eigenschaften.

Die gewonnenen Huminsubstanzen bildeten spröde, glänzende, schwarzbraune Plättchen, unlöslich in Wasser, Alkohol,

Äther, Chloroform etc., leicht in Amylalkohol, konzentriertem Ammoniak, sehr leicht löslich in Kali- und Natronlauge.

Hierher gehören das Uromelanin, Urochrom, Urophaein.

Thudichum hält das Urochrom für den eigentlichen gelben Farbstoff des Harnes, aus dem durch Oxydation der rote Farbstoff (Uroerythrin S. 229) entsteht. Nach Maly soll das Urochrom identisch sein mit Urobilin.

Karbolharn.

Nach äusserlicher Anwendung von Phenol werden Harnen entleert, die, wenn anfangs auch normal oder grünlichbraun, bald dunkelbraun bis schwarz werden. Die Ursache dieser Färbung ist in der Gegenwart mehrerer Oxydationsprodukte des Hydrochinons nachgewiesen worden. Das Endprodukt ist Huminsubstanz. Solchen Harnen lässt sich durch Äther eine in Wasser lösliche Substanz entziehen, die durch Ammoniak schwarzbraun wird.

F. Urobilin.

Das Urobilin, von Jaffé aus dem Harn dargestellt, ist in manchen normalen Harnen nachzuweisen und wird sogar als ein Farbstoff des normalen Harnes betrachtet, wenngleich hervorgehoben werden muss, dass die gelbe Färbung des normalen Harnes nicht durch Urobilin bedingt ist. Die Pigmente oder Farbstoffe des normalen Harnes sind noch nicht untersucht und bekannt. Bei allen Krankheiten, durch welche ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlasst wird, ist der Urobilingehalt vermehrt; es würde diese Erscheinung sich mit der berechtigten Thatsache decken, dass Urobilin als ein Abkömmling des Hämoglobins anzusehen ist.

Nach Maly ist das Urobilin identisch mit dem durch Reduktion des Bilirubins im Darne entstandenen Hydrobilirubin, so dass das im Harn vorkommende Urobilin von reduziertem Gallenfarbstoff herrühren kann, wofür vielleicht die Thatsache spricht, dass Harn, der ikterisch gefärbt ist und der die sonstigen äusseren Merkmale eines ikterischen Harnes (gelben Schaum etc.) zeigt, der weitaus von Personen entleert ist, die Gelbfärbung der Haut etc. aufweisen, nur Urobilin enthält. Neuere, jedenfalls auch die richtigen Anschauungen

fassen das Urobilin als ein Oxydationsprodukt der Gallenfarbstoffe auf.

Das Urobilin bildet sich hauptsächlich beim Stehen des Harnes an der Luft aus dem Urobilinogen und findet sich besonders reichlich in dem stark gefärbten Harn von Fieberkranken, nach Antifebringebruch; in solchen Harnen sind dann häufig die Sedimente von harnsauren Salzen ziegelpurpurrot gefärbt.

Man hat zwei Urobiline, eines aus Fieberharn, das febrile und das andere aus normalem Harn, das normale hergestellt, die sich beide in nicht besonders bemerkenswerter Weise spektralanalytisch sicher unterscheiden sollen, was wohl aber darauf zurückzuführen sein wird, dass eine vollkommen reine Darstellung nicht möglich ist und ein Unterschied wohl nicht besteht.

Beim Prüfen eines Harnes auf Urobilin wird man auch zweckmässig die von A. Jolles (S. 240) angegebenen That-sachen berücksichtigen.

Darstellung und quantitativer Nachweis.

1. Man gewinnt das Urobilin aus dem Harn am besten nach dem von Méhu¹⁾ angegebenen Verfahren.

1 Liter Harn wird mit 2 g Schwefelsäure angesäuert und mit Ammonsulfat gesättigt; es wird filtriert und das auf dem Filter gesammelte, in roten Flocken abgeschiedene Urobilin mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen, dann in Alkohol gelöst. Die filtrierte alkoholische Lösung wird nun mit Chloroform gemischt und ein der alkoholischen Lösung gleiches Volumen Wasser hinzugegeben. Nach der Abscheidung der Chloroformlösung in einem Scheidetrichter trennt man diese, schüttelt dieselbe noch mit Wasser aus und entfernt aus der filtrierten Chloroformlösung das Chloroform durch Destillieren. Aus der konzentrierten Chloroformlösung fällt man mit Äther, sammelt das ausgeschiedene Urobilin auf einem Filter, löst den Farbstoff in Chloroform und verdunstet bei mässiger Wärme die Chloroformlösung, worauf man wiegt.

¹⁾ Journ. pharm. chim. 1878. August.

2. Darstellung nach Jaffé.¹⁾

Der mit Ammoniak schwach alkalisch gemachte Harn wird vom entstandenen Niederschlag abfiltriert und zum Filtrate eine konz. alkoholische oder wässrige Chlorzinklösung gesetzt. Die bei Urobilinanwesenheit schön rot oder rotbraun gefärbten Niederschläge werden mit kaltem und dann heissem Wasser ausgewaschen, bis kein Chlor mehr nachweisbar ist und mit Alkohol ausgekocht. Nach dem Trocknen werden die gepulverten Niederschläge in Ammoniak gelöst und diese Lösung mit Bleizucker ausgefällt. Den Niederschlag filtriert man ab, wäscht mit Wasser aus, bis sich Farbstoff zu lösen beginnt und digeriert den getrockneten Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol; diese alkoholische Lösung wird mit dem halben Volumen Chloroform und viel Wasser kräftig geschüttelt, das getrennte Chloroform mit wenig Wasser gewaschen (es geht leicht Farbstoff ins Wasser!) und das Chloroform abdestilliert. Der Rückstand wird mit Äther noch gereinigt, der eine Menge fremder Stoffe aufnimmt und Urobilin hinterlässt.

Urobilinarme Harne müssen nach Jaffé anders behandelt werden. Diese fällt man mit Bleiessig und kocht den abfiltrierten, ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol aus, worauf man die Lösung mit Ammoniak übersättigt und mit Chlorzink versetzt. Der braunrote Zinkniederschlag wird ebenso behandelt, wie der Bleiniederschlag (Darstellung aus urobilinreichen Harnen).

3. Mac Munn²⁾ fällt den Harn mit Bleizucker und Bleiessig und zieht die beiden Niederschläge mit schwefelsäurehaltigem Alkohol aus; die mit Wasser verdünnte Lösung wird mit Chloroform ausgeschüttelt, dieses verdunstet und der Rückstand wiederholt in Chloroform gelöst.

Nachweis im Harn.

Das Urobilin lässt sich nur an seinem spektroskopischen Verhalten und auch durch die Fluoreszenzprobe erkennen.

An Urobilin reicher Harn zeigt rote Färbung.

¹⁾ Archiv pathol. Anat. 1869. 47. 405.

²⁾ Berl. Berichte. 1881. 14. 1222.

1. Man untersucht den filtrierten und eventuell verdünnten sauren Harn direkt mit dem Spektroskope; verdünnte saure Lösungen zeigen einen Absorptionsstreifen an der Grenze von Grün und Blau zwischen den Linien *E* und *F*; wird die Lösung alkalisch gemacht (Kallauge), so wird das Absorptionsband wieder schärfer begrenzt und rückt mehr nach Grün nach der Linie *E* zu (Spektraltafel).
2. Fluoreszenzprobe.
Man versetzt den Harn mit einigen Tropfen (5) 10 % Chlorzinklösung und fügt Ammoniak hinzu, bis der entstandene Niederschlag beim Umschütteln sich löst. Die Lösung zeigt schön grüne Fluoreszenz.
3. Zweckmässig, zumal bei geringen Urobilinmengen, schüttelt man nach G. Salkowski 100 ccm Harn mit 50 ccm Äther oder noch besser Chloroform aus, lässt den Äther oder das Chloroform abfliessen, verdunstet und löst den Rückstand in wenig Alkohol; die Lösung prüft man spektroskopisch und chemisch.

In stark pigmentierten, gallenfarbstoffhaltigen Harnen gelingt der spektroskopische Nachweis schwer oder gar nicht; man beseitigt durch eine Merkurisulfatlösung (5 g HgO, 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser) die störenden Farbstoffe, indem man zu 10 ccm Harn 5 ccm der Lösung giebt und das klare Filtrat zur spektroskopischen Prüfung verwendet (Denigès).

A. Jolles¹⁾ unterscheidet von den im Harn auftretenden gewöhnlich als Urobilin bezeichneten Farbstoffen zwei Gruppen, solche, die eine scharfe Abgrenzung der Absorptionsstreifen darbieten und von Oxydationsmitteln (Salpetersäure und Jodlösung) wenig angegriffen werden — wesentlicher Bestandteil urobilinreicher Harn — und solche, die einen undeutlich begrenzten Absorptionsstreifen aufweisen und durch Oxydationsmittel leicht entfärbt werden und dann keine Fluoreszenz und kein Spektrum zeigen — Farbstoffe im normalen Harn. — Nur die ersteren besitzen klinische Bedeutung und können diese von den anderen folgendermassen getrennt werden.

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1896. 35. 640.

50 ccm Harn werden mit 5 ccm verdünnter Kalkmilch und 10 ccm Chloroform mehrere Minuten in einem Cylinder geschüttelt; den Bodensatz von Chloroform und Niederschlag lässt man in eine Porzellanschale abfließen, dampft ein und verreibt den Rückstand mit 5 ccm etwa 30% Alkohols und einigen Tropfen Salpetersäure, worauf man filtriert. Typisches Urobilin giebt dabei ein braun- bis granatrotes Filtrat, dessen Spektrum den Urobilinstreifen in scharfer Begrenzung zeigt.

Eigenschaften.

Das Urobilin ist amorph, zeigt in dünnen Schichten rosenrote, in dicken bräunlichrote Färbung, im auffallenden Lichte lebhaft gelbgrünen Metallglanz. Es löst sich wenig in Wasser, leicht in Äther und Chloroform, in wässriger Alkalilauge und Ammoniak. Die neutralen Lösungen sind rot, die alkalischen mehr gelb, die sauren rosa bis bräunlichrot. Durch basisch essigsaures Blei wird der Farbstoff gefällt; die ammoniakalische Lösung fluoresciert; durch Chlorzink und andere Zinksalze zeigt sich diese grüne Fluorescenz auch bei starker Verdünnung sehr vermehrt.

Die Lösung des normalen Urobilins wird durch Natron stärker rot gefärbt, die des febrilen gelb.

Der Streifen in alkalischer Lösung des normalen Urobilins verschwindet, kehrt beim Ansäuern wieder zurück; beim febrilen Urobilin rückt der Streifen mehr nach Grün (s. S. 238).

G. Melanin (*Melanogen*).

Dasselbe ist kein normaler Harnbestandteil, sondern kommt nur in pathologischen Verhältnissen, doch ziemlich selten vor — Melanurie. — Der Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, ist entweder gleich nach dem Entleeren dunkel oder nimmt beim Stehen an der Luft eine schwarzbraune bis schwarze Färbung an; das Melanin kann sich auch als fester Körper im Sedimente ausscheiden. Im Harne soll das Melanin als Melanogen, das Chromogen des Melanins, das erst durch Oxydation in Melanin übergeführt wird, vorhanden sein.

Das Melanin scheint nach neueren Untersuchungen aus dem Blutfarbstoff, aus Hämoglobin, entstanden zu sein.

Darstellung.

Man fällt den Harn mit essigsaurem Blei, zersetzt den Bleiniederschlag durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat ein, das dann einen schwarzbraunen Rückstand hinterlässt. Auch kann man den Harn mit Barytwasser fällen und die braungelbe Barytfällung mit Sodalösung behandeln, welche die Farbstoffe aufnimmt, die dann durch Übersättigen der Lösung mit Schwefelsäure ausgeschieden werden. Durch wiederholtes Auflösen in verdünnter Lauge und Fällen mit Essigsäure erhält man die Farbstoffe reiner; einheitliche Substanzen sind dieselben aber nicht.

Nachweis.

1. Beim Ansäuern von Harn mit verdünnter Schwefelsäure und Zusatz von Eisenchlorid oder Kaliumdichromatlösung zum Harn entsteht bei Anwesenheit von Melanin dunkle Färbung.
2. Bei Zusatz von Bromwasser und Schwefelsäure oder von Chlorwasser tritt auch Färbung ein; Überschuss von Brom- oder Chlorwasser entfärbt den Harn, wobei sich ein dichter schmutziggelber Niederschlag absetzt.

Eigenschaften.

Das Melanin ist ziemlich resistent gegen Säuren und Alkalien, durch Bleiessig, nicht durch neutrales Bleiacetat, wird es aus seinen Lösungen gefällt.

H. Rote und blaue Farbstoffe.

Die roten und blauen Farbstoffe bilden sich aus den im Harn vorhandenen, S. 181 u. 182 beschriebenen Verbindungen des Indoxyls und Skatoxyls mit Schwefelsäure, der Indoxylschwefelsäure und Skatoxylschwefelsäure, Produkte der Eiweissfäulnis, durch Einwirkung von nicht oxydierenden Säuren beim Stehen von Harn, der in alkalischer Gärung begriffen ist.

Zu den roten Farbstoffen, die erst von H. Rosin¹⁾ eingehender studiert worden sind, zählen das Urhoidin, das Urorubin, welche beide nach H. Rosin mit dem Indigorot identisch sind. Nach Rosin soll der in den meisten normalen und pathologischen Harnen bei der Behandlung mit Salzsäure

¹⁾ Virchow's Archiv 1891. 123. 519.

und beim ununterbrochenen Kochen dieser Harne sich bildende rote Farbstoff, der auch schon von Rosenbach beobachtet wurde, mit dem pflanzlichen Indigrot (Indirubin), welcher nach Baeyer's Untersuchungen dem Indigblau isomer ist, die grösste Übereinstimmung zeigen. Auch gelang Rosin die Gewinnung des Indigorot durch Sublimation des Indigoblau; Rosin hält das dem Indigoblau isomere Indigorot für ein Produkt der Wärmewirkung und betrachtet als Muttersubstanz des roten Farbstoffes in den meisten Fällen die Indoxylverbindung des Urins, welche durch Spaltung mit folgender Oxydation in zwei isomere Substanzen, in das Indigoblau und Indigorot übergehen. In der angegebenen Eigenschaft beim Erwärmen findet Rosin auch eine Erklärung für die in der Wärme vorgenommenen Reaktionen (Rosenbach'sche Reaktion — Kochen mancher Harne mit etwas Salpetersäure bewirkt burgunderrote Färbung), bei denen mehr Indigorot und weniger Indigoblau gebildet wird, während die Reaktionen auf kaltem Wege (Jaffé'sche Probe) umgekehrt verlaufen.

Nachweis des Indigorot.

Man neutralisiert den Harn mit Soda, schüttelt mit Äther aus und verdunstet die Ätherlösung. Der Rückstand muss sich in Alkohol mit schön roter Farbe lösen, die mit Traubenzucker und Alkali verschwindet, beim Schütteln an der Luft aber wieder rot wird.

Der Skatolfarbstoff von Brieger löst sich in saurem Harn zum Unterschiede von dem Indigorot nicht in Äther, auch nicht in Chloroform, nur von Amylalkohol wird er aus der sauren Lösung aufgenommen.

Urohämatin.

Urohämatin ist eine isenhaltiger, roter Körper aus dem Harn, der nur in Alkohol, Äther, Chloroform und in ätzenden Alkalien löslich ist und aus dem konzentrierten und dann mit Alkohol extrahierten Harn durch Fällen mit Kalkmilch in der Siedehitze gewonnen wird. Der Rückstand wird mit Wasser und Alkohol gewaschen, mit Salzsäure zerlegt und dann wieder mit Alkohol ausgezogen. Beim Schütteln der alkoholischen Lösung mit Äther geht in letzteren der Farbstoff.

Giacosas Farbstoff.

Ist ein Chromogen, nach Giacosa¹⁾ verwandt mit Urohämatin. Das Chromogen kann durch Amylalkohol ausgeschüttelt und durch Bleiessig grösstenteils gefällt werden.

Darstellung.

Man fällt mit Bleizucker, entfernt das Blei durch Schwefelwasserstoff, diesen durch Erhitzen und schüttelt die mit 0,8 Volumen Salzsäure (1,19 spez. Gew.) versetzte und rot gewordene Flüssigkeit mit Amylalkohol aus. Der Amylalkohol wird mit Wasser gewaschen, dann abdestilliert und der Rückstand mit warmem Wasser und Ammoniak (zur Entfernung von Urobilin) behandelt. Man trocknet, löst den Farbstoff in wasser- und alkoholfreiem Äther und verdunstet die Lösung.

Eigenschaften.

Der Farbstoff ist eine feste, braune Masse, bei 100—120° schmelzend. Die Lösung in Äther und Chloroform besitzt grüne Fluoreszenz. Die Asche besteht fast ganz aus Eisen.

Urorosein.

Ein im pathologischen Harn nach Nencki und Sieber bei Diabetes, Chlorose, Typhus, Nephritis, Carcinoma ventriculi vorkommender Farbstoff, der auf Zusatz einer Mineralsäure, nicht von Essigsäure, zum Harn sich zeigt.

Nachweis.

Schüttelt man den beim Ansäuern mit 0,1 Volumen 25 % Schwefelsäure oder Salzsäure rosenrot gewordenen Harn mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff auf. Diese Lösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* im Grün. In grösserer Menge erhält man den Farbstoff, wenn man grössere Mengen Harn konzentriert, diese ansäuert und den Farbstoff auf entfetteter Wolle, nach reichlichem Zusatz von essigsaurem Natron, fixiert. Aus der Wolle gewinnt man den Farbstoff durch Auskochen mit schwefelsäurehaltigem Alkohol.

Eigenschaften.

Löst sich mit roter Farbe in Wasser, saurem Alkohol, Amylalkohol, ist unlöslich in Chloroform, Äther, Benzol.

¹⁾ Berl. Berichte 1887. 20. 393 (Ref.).

Alkalien entfärben die rote Farbe sofort — Unterschied von Indigorot —; durch Säuren wird die rote Farbe wieder hergestellt. Der Farbstoff ist sehr unbeständig und wird auch durch Fäulnis zerstört.

Indigoblau. Indigo.

Ist ein Produkt der Eiweissfäulnis im Darmkanal und ist in kleinen Mengen normaler Harnbestandteil, in grösseren Mengen ist es ein pathologischer Bestandteil bei Verdauungsstörungen, Ileus, Magen- und Lebercarcinomen, Typhus, Darmtuberkulose, bei jauchigen Zersetzungen des Körpers. Es bildet sich aus dem Indikan — dieses aus Indoxyl — durch Oxydation und findet sich in faulendem Harn manchmal als rotschillernder Überzug auf dem Harn abgeschieden oder in kleinen rhombischen, nadelförmigen Krystallen am Boden des Gefässes.

Normaler Harn enthält im Mittel 6,6 mg Indigo; in manchen Fällen (Morb. Bright. etc.) wird bläulich gefärbter Harn abgeschieden; auch kleine aus Indigo bestehende Steine wurden schon entleert.

Nachweis.

Dunkle Harne müssen erst mit Bleiessig (Überschuss vermeiden!) entfärbt werden; eiweisshaltiger Harn ist vom Eiweiss zu befreien.

Man giebt zu 10 ccm Harn das gleiche Volumen konzentrierter Salzsäure, sowie 2—3 ccm Chloroform und einen Tropfen kaltgesättigte Chlorkalklösung (oder $\frac{1}{2}\%$ Kaliumpermanganat- oder Eisenchloridlösung) und schüttelt um. Das Chloroform wird mehr oder weniger gefärbt, je nach dem Gehalte des Indikans. (Dieses wird in Indoxyl und Schwefelsäure gespalten, das erstere durch Chlor zu Indigblau oxydiert; nimmt man die Probe in der Wärme vor, so entsteht Indigrot statt Indigblau.) Methode von Jaffé.¹⁾ Die Chloroformlösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen C und D.

Beurteilung.

Ein Überschuss des Oxydationsmittels (Chlorkalklösung) ist zu vermeiden, da sonst Indigo rasch zu Isatin — einem farblosen Körper — oxydiert wird. Sicherer

¹⁾ Pflüger's Archiv 3. 448.

ist es, die Oxydation durch Eisenchlorid zu bewerkstelligen, das auf den einmal gebildeten Indigo nicht weiter einwirkt.

Enthält der Harn Jodide, die das Chloroform violett färben, so giebt man etwas Thiosulfat nachträglich hinzu.

Den störenden Einfluss von Urobilin kann man dadurch beseitigen, dass man den angesäuerten Harn mit Ammonsulfat sättigt und das Urobilin durch Schütteln mit Essigäther entfernt.

Quantitative Bestimmung.

1. Ist viel Indikan vorhanden, dann lässt man die Lösung des Chloroforms auf einem Uhrglase verdunsten und wiegt den Rückstand; zur Schätzung geringer Mengen beobachtet man die Zahl der verbrauchten Tropfen der Chlorkalklösung, die nötig sind, um die stärkste Blaufärbung des Chloroforms hervorzurufen; bei normalem Harne wird auf Zusatz eines Tropfens höchstens eine schwach violette Färbung, die auf Zusatz eines weiteren Tropfens verschwindet, hervorgerufen. Grün- oder gar Blaufärbung des Chloroforms zeigt eine sehr vermehrte Ausscheidung des Indikans an.

2. Nach G. Sander¹⁾ versetzt man zur ungefähren Bestimmung des Indikans im Harne 4 ccm mit 2 ccm Salzsäure (1,171 spez. Gew.) und 0,25 ccm Chloroform; alsdann fügt man tropfenweise eine filtrierte 5% Chlorkalklösung unter fortwährendem Umschütteln hinzu, bis die Blaufärbung verschwindet. Normaler Harn gebraucht 6—8 Tropfen; 12—20 Tropfen haben pathologische Bedeutung; 40—80 Tropfen lassen auf grössere eitrige Geschwülste schliessen.

Eigenschaften.

Das Indigblau bildet ein dunkelblaues, amorphes Pulver oder mikroskopische Krystalle; aus dem Harne setzt es sich sogar in Nadeln ab; in dicken Massen zeigt es kupferroten Metallglanz und sublimiert mit violetter, jodähnlichem Dampf, der sich im Röhrchen an den kälteren Stellen in rhombischen Krystallen absetzt.

Es ist unlöslich in Wasser, wenig in heissem Alkohol und Äther, leicht in Chloroform. In der Wärme ist es in fetten Ölen, Benzol, Phenol löslich. In kalter Schwefelsäure ist es auch löslich.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1893. Nr. 36; Jahresber. Pharm. 1893. 28. 355.

Durch Reduktionsmittel (Zinnchlorür, Natronlauge und Eisenvitriol etc.) geht es in Indigweiss über; die Chloroform- und Schwefelsäurelösung zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*, über *D* noch hinausgehend bei konzentrierten Lösungen.

36. Cholesterin. $C_{26}H_{43}.OH$.

Das Cholesterin findet sich in allen Zuständen, welche einen reichlichen Gehalt an Fett bedingen (Chylurie, Lipurie).

Darstellung und quantitativer Nachweis.

Man nimmt zu seiner Gewinnung mehrere Liter Harn in Arbeit und verfährt nach einer der bei der Isolierung des Fettes angegebenen Methode (S. 75). Der Rückstand enthält neben Fett auch Cholesterin und Lecithin; um das Cholesterin von seinen Begleitern zu trennen, löst man den Rückstand in warmem Alkohol, giebt etwas alkoholische Kalilauge hinzu und erhitzt ca. $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflusskühler; hierdurch wird das Fett verseift und das Lecithin gespalten (in Cholin, Glycerinphosphorsäure und Stearinsäure). Man verdunstet die Lösung, löst die gebildete Seife in Wasser, schüttelt sie mit Äther aus, verdunstet die Lösung, löst in siedendem Alkohol und überlässt das Filtrat nach dem Verdunsten auf ein kleines Volumen der Krystallisation.

Quantitativ lässt sich das Cholesterin bestimmen, wenn man den Ätherauszug auf einem gewogenen Uhrglase verdunstet, den Rückstand über Schwefelsäure trocknen lässt und dann wiegt.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Das Cholesterin krystallisiert aus heissem Alkohol mit 1 Mol. Wasser in grossen rhombischen Tafeln (Fig. 41), aus wasserfreiem Äther, Chloroform oder Petroläther wasserfrei in feinen seidenglänzenden Nadeln. Cholesterin ist unlöslich in Wasser, Alkalien oder Säuren, auch kaltem Alkohol, leicht löslich in heissem Alkohol, Äther, Petroläther, Chloroform.

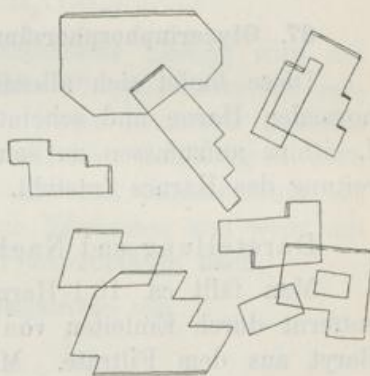


Fig. 41.

Nachweis.

1. Beim Behandeln mit konzentrierter Schwefelsäure entstehen rote und blaue Substanzen (Cholesteriline). Man behandelt die Krystalle auf dem Objektträger mit konzentrierter Schwefelsäure; die Ränder färben sich schön karminrot; mit Jod in wässriger Lösung behandelt, wird aus der roten eine violette Farbe.
2. Löst man etwas Cholesterin in Chloroform und setzt das gleiche Volumen konzentrierter Schwefelsäure hinzu, so färbt sich nach dem Umschütteln die Chloroformlösung schön blutrot, dann kirschrot bis purpurn. Die Schwefelsäure zeigt gleichzeitig stark grüne Fluorescenz. Giesst man die Chloroformlösung in eine Schale, so färbt sie sich durch Anziehen von Wasser aus der Luft schnell blau, dann grün, endlich gelb.
3. Man löst etwas Cholesterin durch Schütteln oder gelindes Erwärmen in wenig (ca. 1 ccm) Essigsäureanhydrid und fügt unter Abkühlen tropfenweise konzentrierte Schwefelsäure hinzu; die zuerst auftretende rosenrote Farbe verschwindet und es entsteht eine schöne blaue Farbe.

37. Glycerinphosphorsäure. $C_3H_5(OH)_2OPO(OH)_2$.

Diese findet sich allerdings in sehr geringer Menge im normalen Harn und scheint als ein Zersetzungsprodukt des Lecithins aufzufassen zu sein, aus dem dieselbe bei der Bereitung des Harnes entsteht.

Darstellung und Nachweis.

Man fällt ca. 10 l Harn mit Barytwasser, filtriert und entfernt durch Einleiten von Kohlensäure den überschüssigen Baryt aus dem Filtrate. Man dampft das Filtrat auf dem Wasserbade schliesslich im Vakuum ein, extrahiert den Rückstand mit absolutem Alkohol, kocht das ungelöst Gebliebene, den glycerinphosphorsauren Baryt, mit Wasser und etwas Salzsäure oder Schwefelsäure, filtriert und versetzt die Flüssigkeit mit Ammoniak und Magnesiamischung; ein nach 24—48 stündigem Stehen entstandener Niederschlag von phosphor-

saurer Ammoniakmagnesia zeigt die Anwesenheit der aus der Glycerinphosphorsäure abgespaltenen Phosphorsäure an.

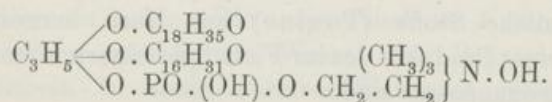
Die vom Niederschlag (Tripelphosphat) abfiltrierte Flüssigkeit prüft man auf Glycerin; man dunstet auf dem Wasserbade ein und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus; beim Verdampfen der alkoholischen Lösung bleibt ein süß schmeckender Rückstand, der beim Erhitzen mit saurem Kaliumsulfat Akrolein entwickelt (Glycerin).

Eigenschaften.

Sirupöse Flüssigkeit, zerfällt beim Kochen mit Wasser, Säuren und Alkalien in Glycerin und Phosphorsäure. Kalk- und Barytsalze sind löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol; durch essigsaures Blei wird die Glycerinphosphorsäure gefällt.

38. *Lecithin*. $C_{42}H_{86}NPO_9$.

ist als eine esterartige Verbindung von Cholin mit Glycerinphosphorsäure aufzufassen, welche mit Stearinsäure und Palmitinsäure zu einem Glyceride verbunden ist:



Die nach S. 75 hergestellte ätherische Lösung wird mit Wasser gut ausgeschüttelt, um alle Phosphorsäure zu entfernen, der Ätherrückstand mit Soda verrieben und das Gemisch in schmelzenden Natronsalpeter eingetragen. Man löst die Schmelze in Wasser, säuert mit Salpetersäure an, entfernt die salpetrige Säure durch Erwärmen und weist mit molybdänsaurem Ammon die Phosphorsäure nach.

Alle Reagentien müssen frei von Phosphorsäure sein.

Eigenschaften.

Das Lecithin bildet eine wachsähnliche, in Alkohol, Äther und viel Wasser lösliche Masse, die sich mit Basen und Säuren zu salzartigen Verbindungen vereinigt.

Mit Basen und Säuren gekocht zerfallen die Lecithine in Fettsäuren (Stearinsäure, Palmitinsäure, Ölsäure), in Glycerinphosphorsäure und Cholin.

39. Ptomaine.

Selmi bezeichnete mit diesem Namen die bei der Fäulnis von Lecithinen entstehenden alkaloidähnlichen, basischen Substanzen; Brieger versteht unter Ptomainen basische Stoffe, die durch die Lebensprozesse der Mikroorganismen gebildet werden und giftige Wirkung ausüben können.

Es ist festgestellt, dass sogar normaler Harn mehr oder weniger giftig sein kann; in pathologischen Harnen ist die Giftmenge eine grössere und wurden im Harn, besonders bei Personen, die an Cystinurie leiden, alkaloidähnliche Körper aufgefunden, die zur Gruppe der Ptomaine gerechnet werden.

Zu diesen Ptomainen, Diaminen gehören das Trimethylamin, das in faulendem Harn, das Tetramethyldiamin oder Putrescin, und das Pentamethyldiamin oder Cadaverin, die beide im Harne von Personen, die an Cystinurie leiden, aufgefunden wurden.

Auch eine Reihe anderer Basen, zum Teil unbekannter Natur, wurden aus dem Harne gewonnen, die sich als giftig erwiesen. So hat A. Albu¹⁾ bei akuten Infektionskrankheiten (Scharlach, Masern, Pneumonie, Erysipelas, Diphtherie, Phtisis) alkaloidähnliche Stoffe (Toxine) aus Harn hergestellt, die möglicherweise Produkte des im Fieber gesteigerten Stoffwechsels im Gesamtorganismus sind.

Auch von Griffiths²⁾ wurde in dem Harn eines an Scharlachfieber Erkrankten eine weisse krystallinische, wasserlösliche Base, in dem Harne von Diphtheriekranken ebenfalls ein weisser krystallisierter Körper und in dem Harn eines an der Bräune Erkrankten ebenfalls ein in weissen Nadeln krystallisierendes Ptomain gefunden. Auch aus Harn von an Ekzem Erkrankten konnte ein Ptomain isoliert werden. Einige dieser Ptomaine, die sämtlich sehr giftig wirken, wurden auch aus Reinkulturen von Bazillen (*Mikrococcus scarlatinae* und *Diphtheriebacillus*) gewonnen.

Für die Harnuntersuchung kommen wohl, und auch da nur ausnahmsweise, die erwähnten näher studierten Basen, das Cadaverin und Putrescin in Betracht, da diese beiden Begleiter der Cystinurie sein können.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1894. 8.

²⁾ Compt. rend. 1891. 113. 656; 1893. 116. 1206.

Darstellung und Nachweis.

1. Hierzu findet am besten die von Udránszky und Baumann¹⁾ empfohlene Methode Anwendung.

1 $\frac{1}{2}$ Liter (die Tagesmenge) Harn werden mit 200 ccm 10 % Natronlauge und 20—25 ccm Benzoylchlorid geschüttelt, bis der Benzoylgeruch verschwunden ist. Penta- und Tetramethylendiamin werden zum grössten Teil als Dibenzoylverbindungen abgeschieden neben unlöslichen Phosphaten und Benzoylverbindungen normaler Kohlehydrate. Der abfiltrierte Niederschlag wird in warmem Weingeist gelöst, die konzentrierte Lösung in etwa das 30fache Volumen kalten Wassers gegossen und nach mehrtägigem Stehen der Niederschlag (Dibenzoylbasen) von der milchig trüben Flüssigkeit abfiltriert und gut, bis das Filtrat klar abläuft, ausgewaschen. Der vom Benzoylniederschlag abfiltrierte Harn, sowie das Filtrat von dem Dibenzoylbasen-Niederschlag werden vereinigt, mit Schwefelsäure stark angesäuert und zur Gewinnung der in Lösung gebliebenen Reste der Dibenzoylbasen mit Äther dreimal ausgeschüttelt. Der Äther wird abdestilliert, der Rückstand mit 12 % Natronlauge im Überschusse versetzt und in der Kälte auskrystallisieren lassen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden durch Waschen mit kaltem Wasser von Benzoylcystin und Natron befreit, in wenig warmem Weingeist gelöst und aus dieser Lösung mit Wasser wie oben ausgeschieden. Diese Menge wird mit der schon gewonnenen vereinigt.

Zur Trennung der beiden Diamine werden die Krystalle mit wenig warmem Weingeist gelöst und die Lösung in das 20fache Volumen Äther gegossen. Die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins krystallisiert aus, die des Cadaverins bleibt in Lösung. Man krystallisiert beide aus Alkohol um.

2. A. B. Griffiths,²⁾ der Ptomaine aus dem Harn isolierte, die sich bei einigen infektiösen Krankheiten finden, befolgte zur Isolierung dieser Ptomaine nachstehendes Verfahren.

Der mittels wenig Natriumkarbonat alkalisch gemachte Harn wurde mit dem halben Volumen Äther und die Ätherlösung mit einer Weinsäurelösung zur Bildung löslicher Tartrate ausgeschüttelt. Die Weinsäurelösung wurde nach dem

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1889. 13. 564.

²⁾ Compt. rend. 1891. 113. 656; 1893. 116. 1206.

Alkalischmachen mit Soda mit dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung verdunstet; die Ptomaine blieben als Rückstand.

Eigenschaften.

Bilden beide farblose Flüssigkeiten vom Spermageruch, rauchen an der Luft, sind leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol und Äther. Cadaverin ist sehr schwer löslich in Äther. Die beiden Diamine sind zweisäurige Basen; sowohl die freie Basis, wie die Chloride geben mit den gebräuchlichen Alkaloidreagentien Niederschläge. Charakteristisch sind die Dibenzoylverbindungen, die krystallisieren.

40. Lösliche Fermente oder Enzyme.

Solche sind im Harne mit Sicherheit nachgewiesen worden: Pepsin, Trypsin und diastatisches Ferment (Béchamps Nephrozymase). Ein Labferment kommt nach Grützner¹⁾ im normalen Harn nur in sehr geringer Menge vor. Pepsin und das diastatische Ferment sind bei Diabetes vermehrt.

Nachweis.

Man verdünnt frischen Harn mit Wasser, versetzt mit Salzsäure, dass 0,20% vorhanden sind, bringt dann eine gekochte Fibrinflocke hinzu und lässt in einem Brutschranke stehen. Man nimmt die Anwesenheit von Pepsin an, wenn das Fibrin gelöst wird. Man kann auch dem Harn (200—500 ccm) durch eintägiges Digieren mit etwas gekochtem, fein verteiltem Fibrin die Fermente entziehen; lässt man dann die Fibrinflocken mit 0,1% Salzsäure bei Brutschranktemperatur stehen, so werden diese allmählich infolge des anhängenden Enzyms in Lösung gehen.

Das diastatische Ferment oder amylolytische Ferment weist man an der Bildung von Dextrin nach, das entsteht, wenn man den das diastatische Ferment enthaltenden Harn mit wenig frischem Stärkekleister mischt und auch bei Bluttemperatur stehen lässt; durch Jod kann man das Verschwinden der Stärke nachweisen. Eine Bildung von Zucker findet nicht statt; die Stärke scheint nur zu Dextrin umgewandelt zu werden.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1891. Nr. 21.

Dieses Ferment soll besonders im Nachmittagsharn vorkommen.

Trypsin ist sehr empfindlich gegen sauren Harn und gelingt der Nachweis desselben selten; wirkt alkalisch gemachter Harn fibrinverdauend, so soll diese Eigenschaft auf die Anwesenheit von Trypsin zurückzuführen sein.

Die Prüfung auf Labferment erfolgt am besten nach der von Helwes¹⁾ angegebenen Methode. Man bringt 5 ccm frische Milch, 1 ccm 0,6% Salzsäure und 5 ccm Harn zusammen. Die Milch gerinnt bei Körpertemperatur innerhalb weniger Minuten bei Vorhandensein von Labferment; zur Kontrolle führt man die gleiche Probe mit vorher gekochtem Harn aus; hier darf keine Gerinnung eintreten.

C. Zufällige Bestandteile des Harnes.

Nachweis von Arzneimitteln und Giften im Harn.

Bei dem Nachweis dieser Stoffe (S. 19) hat man einen Unterschied zu machen, ob anorganische (Metalle, Metallgifte), oder ob organische Körper im Harn vorhanden sind.

I. Anorganische Stoffe.

Wenn auch einige der Metalle im Harn direkt ausgefällt und eliminiert werden können, — diese Methoden werden besonders erwähnt — so wird doch zur Entdeckung und Isolierung der Metalle im grossen und ganzen die bei der gerichtlichen Analyse befolgte Methode anzuwenden sein, umsomehr, da mehrere Metalle, wie Blei, Kupfer, Quecksilber in organischen Verbindungen im Harn enthalten sein können, und manche andere Harnbestandteile die Fällung der Metalle im Harn direkt hindern (Eiweissstoffe, Zucker).

Im nachfolgenden soll der Gang kurz mitgeteilt werden.

Prüfung auf Metalle, Metallgifte.

Man dampft zweckmässig 1—2 Liter Harn in einer Schale auf ca. 100 ccm ein, setzt nun ganz reine Salzsäure und etwas chlorsaures Kali hinzu und erhitzt auf dem Wasserbade unter

¹⁾ Pflüger's Archiv 1888. 43. 391.