II. Teil. Chemische Untersuchung des Harnes. Die normalen und abnormen Harnbestandteile.

A. Die anorganischen Bestandteile des Harnes.

Basen (Kationen), Säuren (Anionen).

1. Natrium und Kalium. Na und K.

Von diesen beiden Basen erscheint im normalen Harne das Natrium stets in etwas größerer Menge, als das Kalium, besonders bei eiweißarmer Nahrung, so daß im normalen Harne nicht ganz doppelt soviel Natrium als Kalium zur Ausscheidung kommt. Ein Erwachsener scheidet bei gemischter Nahrung in 24 Sunden im Durchschnitte 4—7 g Natriumoxyd und 2,3—4 g Kaliumoxyd aus, wozu jedoch zu bemerken ist, daß die Menge dieser Alkalien in hohem Maße von der genommenen Nahrung abhängig ist. Bei überwiegender Pflanzennahrung ist die Kalimenge wegen des Reichtums der Pflanzen an Kalisalzen größer. Gewöhnlich ist das Verhältnis von K:Na wie 3:5. Citronensaures und kohlensaures Kalium steigern erheblich die Ausscheidung von Natrium, kohlensaures und citronensaures Natrium aber nur in geringerer Menge die des Kaliums. Muskeltätigkeit vermehrt die Ausscheidung von Kalium. Während das Natrium zum größten Teile in Form von Chlornatrium vorhanden ist, so daß bei der gewöhnlichen Prüfung mit der Chlorbestimmung eine annähernde Natriumbestimmung ausgeführt ist, ist das Kalium in Verbindung mit der Phosphorsäure als phosphorsaures Kalium zugegen; ein nur kleiner Teil kommt als Chlorkalium zur Ausscheidung.

In pathologischen Fällen wird von Fiebernden mehr Kalium wie Natrium, von Rekonvaleszenten mehr Natrium wie Kalium ausgeschieden. Durch Medikamente kann durch Kaliumsalze die Kaliausscheidung, durch Natronsalze die Abscheidung von Natrium gesteigert werden, wenn diese nicht abführend wirken. Im Hunger sinkt die Alkaliausscheidung und wird mehr Kalium (oft dreimal soviel) wie Natrium im Harne entleert, da die Kochsalzzufuhr fehlt, während andererseits die an Kaliumphosphat reichen Gewebe im Organismus immerwährend einem weiteren Zerfalle anheimfallen.

Qualitativer Nachweis.

Natrium.

In der Asche durch die Flammenreaktion (gelb); spektroskopisch an dem Auftreten der Linie *D* im Spektrum.

Natriumsalze geben mit einer Lösung von Kaliumpyroantimoniat einen weißen krystallinischen Niederschlag.

Kalium.

1. Man verdunstet 100—200 ccm Harn auf etwa 10—15 ccm und versetzt das Filtrat mit einer konzentrierten Weinsäurelösung im Überschuß; beim Stehen in der Kälte scheiden sich Krystalle von saurem weinsaurem Kalium ab.
2. Kaliumsalze färben die Flamme violett; diese Farbe wird durch Natriumsalze verdeckt und erst sichtbar, wenn man die gefärbte Flamme durch ein blaues Kobaltglas betrachtet, das die gelben Strahlen des Natriums nicht durchläßt.
3. Natriumkobaltnitrit gibt mit Kaliumsalzen einen gelben Niederschlag. S. Seite 64.

Quantitative Bestimmung.

Von den vielen empfohlenen Methoden geben die im nachstehenden mitgeteilten gute Resultate; nach diesen werden die Alkalien nach Abscheidung aller anderen Substanzen in Chloride verwandelt und diese gewogen; das Kalium wird als Kaliumplatinchlorid bestimmt; nach Abzug des aus diesem berechneten Chlorkaliums von der Summe der Gesamtchloride erhält man die Menge des Chlornatriums; ferner kann man — aber weniger genau — nach der indirekten Methode den Chlorgehalt der Gesamtchloride ermitteln und aus diesem und dem Gewichte der Chloride die Menge an Kalium und Natrium berechnen.

Ausführung.

1. Man dampft je nach der Konzentration 20—100 ccm Harn in einer Platinschale unter Zusatz von 3—4 g Ammoniumsulfat zur Trockne ein und verascht den Rückstand. Wird die Asche nicht ganz weiß, so raucht man sie mit einigen Tropfen Schwefelsäure ab und glüht. Die Asche wird in heißer, verdünnter Salzsäure aufgelöst, die Lösung filtriert, das Filter gut ausgewaschen und die heiße Lösung mit Chlorbarium so lange versetzt, als ein Niederschlag entsteht; dann wird bis zur stark alkalischen Reaktion Barytwasser hinzugefügt, filtriert und ausgewaschen. Aus dem Filtrate wird durch Ammoniak und kohlensaures Ammonium der vorhandene Baryt ausgefällt, der ausgefällte kohlensaure Baryt abfiltriert und ausgewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet und zur Entfernung der Ammoniumsalze schwach geglüht. (Man kann auch die Lösung mit Chlorbarium in der Siedehitze versetzen und noch heiß mit Ammoniak und Ammoniumcarbonat übersättigen, wodurch ebenfalls die Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kalk, Magnesia [wenigstens der größte Teil] und der im Überschuß vorhandene Baryt entfernt werden; das Filtrat wird eingedampft und schwach geglüht.) Der Rückstand wird in etwas Wasser gelöst, allenfalls ungelöst Bleibendes abfiltriert, das Filter gut ausgewaschen und das in einer gewogenen Platinschale zur Trockne eingedampfte Filtrat — das, auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Ammoniak und kohlensaurem Ammonium keinen Niederschlag mehr geben darf — schwach geglüht und gewogen. (Ich verfahre in der Weise, daß die mit Chlorbarium und Barytwasser versetzte Lösung eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt und dann zur Entfernung des im

Überschusse zugesetzten Barytes längere Zeit ein mäßiger Strom Kohlensäure eingeleitet wird; um das hiebei sich bildende doppeltkohlensaure Salz des Bariums in einfaches überzuführen, erhitzt man zum Kochen und filtriert. Das etwas konzentrierte Filtrat wird zum Entfernen noch gelöster Spuren von Bariumcarbonat mit Ammoniumcarbonat versetzt und dann, wie angegeben, weiter behandelt.) — Nun kann man zur Trennung der beiden Alkalien in etwas verschiedener Weise verfahren. Man löst entweder den Rückstand — Gesamtchloride des Kaliums und Natriums — in wenig Wasser und gibt so viel Platinchloridlösung hinzu, bis ein kleiner Überschuß vorhanden ist. Man konzentriert dann die Flüssigkeit ziemlich stark auf dem Wasserbade, bis die Lösung beim Erkalten erstarrt, befeuchtet zur Lösung des Natriumplatinchlorides mit einigen Tropfen Wasser und gibt eine Mischung von 4 Volumen absoluten Alkohols und 1 Volumen Äther hinzu. Man läßt einige Zeit stehen, sammelt den Niederschlag auf einem kleinen, 3 Stunden in einem Wägegläschen getrockneten und gewogenen Filter oder im Goochschen Tiegel, wäscht mit Alkohol (Äther-Alkohol) aus, trocknet bei 100—110° 3 Stunden lang und wägt nach dem Erkalten im Exsiccator. Man kann aber auch den fast trockenen Verdampfungsrückstand von der Behandlung mit Platinchlorid mit 80%igem Alkohol übergossen einige Zeit stehen lassen, das unlösliche Kaliumplatinchlorid abfiltrieren und den Filterrückstand oder den Tiegelinhalt erst mit Alkohol, dann mit Äther auswaschen. Aus dem gefundenen Kaliumplatinchlorid berechnet man die entsprechende Menge Chlorkalium. Gefundenes $K_2PtCl_6 \cdot 0{,}3067 = KCl$. Das gefundene Chlorkalium zieht man von der Gesamtmenge der Chloralkalien ab, der Rest ist Chlornatrium.

$$KCl \cdot 0{,}6317 = K_2O.$$

$$NaCl \cdot 0{,}5303 = Na_2O.$$

Der Zusatz von Ammoniumsulfat vor dem Veraschen des Harnes hat den Zweck, die Alkalien beim Veraschen in die feuerbeständigen Sulfate zu verwandeln, da die Chloride beim längeren Glühen bekanntlich etwas flüchtig sind. Durch die Fällung mit Chlorbarium werden die Alkalisulfate wieder in Chloride verwandelt.

Für die Alkalienbestimmung wird auch die von A. Neumann[1]) angegebene Vorbereitung des Harnes, die sog. Veraschung auf feuchtem Wege empfohlen, die auf der Zerstörung der organischen Substanzen mit Hilfe eines aus gleichen Teilen konz. Schwefelsäure und konz. Salpetersäure bestehenden Säuregemisches beruht.

Die Veraschung, wohl zutreffender gesagt Zerstörung, nimmt man in einem schiefliegenden Rundkolben aus Jenaer Glas von etwa $^3/_4$—1 Liter Inhalt vor. Man wird bei Anwendung von etwa 100 ccm Harn (zur Alkalienbestimmung) diesen erst auf etwa 25 ccm konzentrieren. Durch einen Hahntrichter, Scheidetrichter, der sich in einem Stativ befestigt befindet und dessen längeres Abflußrohr unmittelbar unter dem Hahne eine fast rechtwinklige Biegung erhalten hat, während das Ende des Rohres nach unten wieder abgebogen wurde, wird die Säure zugegeben; dieser Scheidetrichter hat die angegebene Form erhalten, um zu verhindern, daß bei der Regulierung des Hahnes beim Zutropfen der Säure die Hände mit den Säuredämpfen in Berührung kommen.

Den Kolbeninhalt — den konzentrierten Harn — versetzt man mit 5—10 ccm Säuregemisch und erwärmt mit nicht zu großer Flamme, wobei man die erste stärkere Reaktion ohne Erhitzen des Kolbeninhalts vorübergehen lassen kann. Wenn die Entwickelung der nitrosen Dämpfe geringer geworden ist, dann läßt man aus dem Scheidetrichter tropfenweise Säuregemisch hinzufließen und fährt mit dem Zusatze und dem Erwärmen fort, bis die Flüssigkeit keine Gasentwicklung mehr zeigt und sich beim weiteren Erhitzen nicht mehr dunkel färbt, sondern hellgelb und beim

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **37**. 117; Engelmann, Archiv Physiol. 1905. 208.

Erkalten farblos ist. Man verdünnt dann mit der 3fachen Menge Wasser und kocht zur Entfernung der Nitrosylschwefelsäure etwa 5—10 Minuten.

Zur Alkalienbestimmung wird die Lösung in einer Schale über kleiner Flamme möglichst eingeengt, es wird durch vorsichtiges Abrauchen die Schwefelsäure entfernt und dann in der angegebenen Weise mit Chlorbarium, Barytwasser usw. verfahren.

2. Nach der indirekten Methode zur Bestimmung von Kalium und Natrium geht man von den geglühten Chloriden aus (Gesamtchloride). Man löst die Salzmasse in Wasser und füllt in einem Meßkolben zu 100 oder 200 ccm auf. Hievon pipettiert man 10 ccm ab und titriert nach Zusatz einiger Tropfen Kaliumchromatlösung mit $^1/_{10}$ Normalsilberlösung, bis eine rötliche Färbung (Bildung von Silberchromat) eintritt (Methode von Mohr). (Siehe Bestimmung der Salzsäure.)

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10} \text{ Silberlösung} = 0{,}003546 \text{ g Cl.}$$

Oder man bestimmt das Chlor in der Lösung der Chloride gewichtsanalytisch (siehe Bestimmung der Salzsäure).

Berechnung von Kalium und Natrium als Chloride.

Man multipliziert die gefundene Chlormenge mit 2,1039, zieht von dem Produkte die Summe der Chloride ab und multipliziert den Rest mit 3,6392. Das Produkt ist NaCl.

Beurteilung.

Die sog. indirekte Bestimmung gibt nicht die genauen Werte; unter Umständen, je nach den vorhandenen Mengen der Alkalien, können sogar größere Unterschiede eintreten.

3. Bestimmung des Kaliums allein nach W. Autenrieth und R. Bernheim.[1])

Prinzip.

Die Verfasser verwenden das schon von de Koninck u. a. empfohlene Natriumkobaltnitrit ($CO(NO_2)_6Na_3$) zur Abscheidung des Kaliums und bestimmen dieses schließlich als Kaliumperchlorat.

Erforderliche Lösungen.

1. 30 g kryst. Kobaltnitrates werden in 60 ccm Wasser gelöst und mit 100 ccm einer konzentrierten Natriumnitritlösung (entsprechend 50 g NO_2Na) gemischt; zur Mischung werden 10 ccm Eisessig gegeben. Nach eingetretener Reaktion (Stickoxydgasentwicklung) läßt man über Nacht stehen und filtriert. Die Lösung bleibt mindestens 3 Wochen brauchbar (Erdmann).

2. 18%ige Überchlorsäure (E. Merck).

Ausführung.

Man versetzt 50 ccm des filtrierten Harnes (bei kaliarmem 100 ccm oder mehr) mit 6—10 ccm Kobaltreagens, schüttelt gut durch, läßt über Nacht absetzen, bringt den Niederschlag „Kobaltgelb" auf ein nicht zu kleines aschefreies Filter, wäscht ihn mit 40—60 ccm kalten Wassers, das mit einigen Kubikzentimetern Kobaltreagens versetzt ist, aus und trocknet den Niederschlag im Luftbade bei 110—120°. Den trockenen Niederschlag bringt man durch Aneinanderreiben der Filterflächen in eine flache Porzellanschale, verascht das Filter im Platintiegel, zieht die Asche mit heißem Wasser aus und bringt die filtrierte Lösung zum Niederschlage; nun läßt man **tropfen-**

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **37.** 29; auch L. Garnier, Compt. rend. soc. biol. 1905. **58.** 549.

weise etwa 10 ccm einer 25%igen Salzsäure zufließen und erhitzt das mit einem Uhrglase bedeckte Schälchen gelinde auf dem Wasserbade, um ein zu starkes Schäumen und Verspritzen zu verhindern. Die blaue Lösung dampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, übergießt den Rückstand mit etwas Wasser, dann mit 10 ccm einer reinen kalium- und schwefelsäurefreien 18%igen Überchlorsäure, rührt gut durch und dampft auf dem Wasserbade ein; man erhitzt noch so lange, bis reichlich weiße Nebel von Überchlorsäure auftreten und der Rückstand staubtrocken ist. Das trockene Gemenge der Perchlorate wird mit 10 ccm eines 96%igen Alkohols, der 0,2% Überchlorsäure enthält, gut durchgerührt, wobei nur das Kaliumperchlorat (ClO_4K) ungelöst bleibt; dieses wird im Goochtiegel gesammelt, erst mit einigen Kubikzentimetern überchlorsäurehaltigem Alkohol und dann mit einer Mischung aus gleichen Teilen Alkohol und Äther so lange ausgewaschen, bis eine Probe des Filtrates beim Eindunsten im Uhrschälchen kaum einen Rückstand mehr zurückläßt. Der Tiegel mit Inhalt wird im Luftbade bei 120—130° bis zum konstanten Gewichte getrocknet.

Die dem Kaliumperchlorat entsprechende Kaliummenge erfährt man, wenn man das Gewicht des gefundenen Perchlorates mit 0,28247 multipliziert, die des Kaliumoxydes (K_2O) durch Multiplikation des Perchlorates mit 0,34019.

Beurteilung.

Nach den Verf. genaue und leicht ausführbare Methode, doch ist sie bei Gegenwart von Jodkalium nicht verwendbar; auch Ammoniak ist zu entfernen.

Wahl der Methode.

Sind sämtlich brauchbar und zu empfehlen; wegen der Genauigkeit der sog. indirekten Methode siehe das dort Angegebene.

2. Ammonium. Ammoniak. NH_3. In wässeriger Lösung $NH_4(OH)$.

Im normalen Menschenharne ist immer Ammoniak enthalten (0,6—0,8 g, ja sogar bis 1,2 g in der 24stündigen Harnmenge, Grenzwerte 0,3—1,2 g beim Gesunden), das durch Nahrungsmittel und Getränke, sowie durch Einatmen ammoniakhaltiger Luft dem Körper zugeführt wird; Fleischkost, Eiweiß, erhöht die Ammoniakausscheidung, reine vegetabilische Nahrung verringert sie. Durch den Genuß von Rettigen kann die ausgeschiedene Ammoniakmenge gesteigert werden, ebenso durch Einatmen einer mit Tabaksrauch erfüllten Luft; auch mit Arzneien eingenommene Ammoniumsalze werden im Urin ausgeschieden.

Der größte Teil des Ammoniaks stammt aus dem Eiweißzerfalle innerhalb des Organismus. Vom Gesamtstickstoff erscheinen 4—5% in normalem Harne in der Form von Ammoniak. Die Ausscheidung des Ammoniaks steht mit der Acidität des Harnes im Verhältnis; sie steigt oder fällt mit dieser. Zufuhr von Säuren erhöht nämlich die Ausscheidung, da der Organismus durch Bildung von Ammoniak und Bindung der Säuren die Reaktion des Blutes und damit der Gewebe in normalen Grenzen zu halten bestrebt ist. Vermehrter Ammoniakgehalt zeigt erhöhte Säurebildung im Organismus an. Zufuhr von Alkalien setzt die Ausscheidung herab.

Die Ammoniakausscheidung steht auch mit der Harnstoffbildung im engen Zusammenhange; wir finden deshalb bei pathologischen Verhältnissen, bei allen Leberkrankheiten eine im Vergleiche zur Stickstoffausscheidung vermehrte Ammoniakausscheidung. Der Harnstoff wird in der Leber aus Ammoniak, der von Aminosäuren abgespalten wird, gebildet (s. Harnstoff), so daß bei Leberkrankheiten, wie bei interstitieller Hepatitis, die Ammoniakausscheidung mit einer Insuffienz der Harnstoffbildung verbunden sein kann. Auch bei akuten fieberhaften Krankheiten, bei Pneumonie, bei Infektionskrankheiten (Typhus), bei Cholera, bei Diabetes findet Vermehrung (10—25%, seltener 35—40%) des Ammoniaks statt, so daß eine Ammoniakbildung durch Behinderung der Harnstoffsynthese (bei Leberkrankheiten), nach Säureintoxikationen (bei Vergiftungen, Phosphor, Diabetes) und durch Bakterienzersetzung im Organismus zustande kommt. (F. Blumenthal.) Bei diabetischer Azidose kann die Größe der Ammoniakausscheidung einen ungefähren Begriff von dem Grade der bestehenden Acidose geben, s. auch β-Oxybuttersäure.

Qualitativer Nachweis.

Die Untersuchung kann nur in ganz frischem Harne erfolgen, d. h. von Wert sein, da besonders in warmer Zeit bald die ammoniakalische Gärung des Harns beginnt, wobei Harnstoff in kohlensaures Ammonium übergeführt wird, oder der Harn muß mit Toluol, Chloroform konserviert werden.

1. Versetzt man eine Ammoniumsalze enthaltende Lösung mit Kalkmilch — Natron- und Kalilauge dürfen nicht verwendet werden, da diese Harnstoff zersetzen —, so wird Ammonium aus seinen Verbindungen ausgeschieden und kann an folgenden Reaktionen und Eigenschaften erkannt werden. Man versetzt in einem Becherglase Harn mit Kalkmilch und bedeckt das Becherglas mit einem Uhrglase, an dessen unterer Seite sich ein feuchtes Curcumapapier befindet (Braunfärbung desselben — Ammoniak); beim Darüberhalten eines in verdünnte Salzsäure getauchten Glasstabes über das Becherglas entwickeln sich am Glasstabe Nebel (Chlorammonium).
2. Neßlers Reagens (alkalische Quecksilberjodidjodkaliumlösung) gibt mit Ammoniumsalzen gelbbraune Fällung.

Quantitative Bestimmung.

Die Ermittelung der Ammoniakmenge stellt eine der wichtigen Untersuchungen dar, zumal da Ammoniak und Harnstoff in einem bestimmten Verhältnis stehen; die Vermehrung oder Verminderung des ersteren erfolgt auf Kosten des letzteren.

1. Nach Schloesing-Neubauer[1]) werden 10—25 ccm frischen filtrierten Harnes in einer flachen Schale (sog. Krystallisierschale von einem solchen Durchmesser, daß die Flüssigkeitsschicht möglichst dünn ist und 2 mm nicht übersteigt) mit 10 ccm Kalkmilch versetzt; auf die Schale wird ein Glasdreieck gelegt und auf dieses eine zweite mit 10—20 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure gefüllte Glasschale gebracht. Das Ganze stellt man auf eine mattgeschliffene Glasplatte, bedeckt mit einer gut schließenden, angefetteten Glasglocke und titriert nach 3—4tägigem Stehen bei etwa 18—20° C die Schwefelsäure, die alles Ammoniak absorbiert hat, mit $^1/_{10}$ Normalkali unter Umrühren mit einem Glasstabe und unter Verwendung von Lackmus- oder Cochenilletinktur oder am besten von Luteollösung zurück.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. 1852. **64.** 177.

Man vergesse nicht, einen etwaigen Wandbeschlag an der Innenseite der Glasglocke abzuspülen und mit zu titrieren.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure = 0,001703 g NH_3.

Beurteilung.

Bei sehr niederen Temperaturen (etwa 10°) gelingt es nicht, alles Ammoniak zu erhalten. Die Methode ist zwar einfach in ihrer Ausführung, gibt aber nicht jedesmal zuverlässige Resultate: meist fallen sie zu niedrig aus. Endlich nimmt die Ausführung der Methode auch längere Zeit in Anspruch.

2. Nach O. Folin.[1])

Prinzip.

Der das Ammoniak enthaltenden Flüssigkeit wird ein schwaches Alkali, Natriumcarbonat oder Calciumhydrat zugesetzt; darauf wird das freigemachte Ammoniak durch einen starken Luftstrom ausgetrieben und in titrierter Säure aufgefangen.

Dieses Prinzip ist seinerzeit schon von Boussingault[2]) empfohlen worden; er hat auch eine Methode, nach der das freigemachte Ammoniak im Vakuum abdestilliert wird, angegeben; dieses Verfahren wurde später von Wurster[3]), Nencki und Zaleski[4]), Söldner[5]) zur Anwendung vorgeschlagen. Th. Koch[6]) empfiehlt die Destillation des Harnes mit Kalkmilch im luftverdünnten Raume, Auffangen des Destillates in Normalsäure und Zurücktitrieren mit Normallauge.

Bei den Bestimmungen ist zu berücksichtigen, daß wirklich alles präformierte Ammoniak in Freiheit gesetzt wird, daß durch die Reagenzien und das Verfahren keine Hydrolyse der anderen stickstoffhaltigen Bestandteile (Harnstoff) erfolgen kann, daß frischer oder gut konservierter Harn Verwendung findet und daß über 40° liegende höhere Temperaturen vermieden werden.

Ausführung.

25 ccm Harn werden in einen Aräometerzylinder von etwa 45 cm Höhe und 5 cm Durchmesser abgemessen (der Zylinder kann auch kleiner sein), dann werden 8—10 g Natriumchlorid, 5—10 ccm Petroleum oder Toluol zur Verhinderung des Schäumens — van Slyke gibt 2—3 Tropfen Kaprylalkohol hinzu — und zuletzt etwa 1 g getrocknetes Natriumcarbonat oder 1,5 g Barythydrat dem Harne zugesetzt. Mit Hilfe eines Wasserstrahlgebläses wird ein starker Luftstrom durch den Harn geleitet, bis alles Ammoniak ausgetrieben ist, was bei 20—25° C unter Anwendung von 600—700 Liter Luft pro Stunde 1—$1^1/_2$ Stunden in Anspruch nimmt. Die aus dem Harne ausströmende, Ammoniak enthaltende Luft geht zuerst durch einen Baumwollepfropf, damit Spuren von mechanisch mitgerissenem Alkali zurückgehalten werden und wird durch zwei $^1/_{10}$n-Säure (je 20—40 ccm) und Wasser enthaltende Vorlagen oder durch eine Vorlage unter Anwendung einer Absorptionseinrichtung, die in die Säure eintaucht und wobei jede Spur von Säure in der Vorlage zurückgehalten wird, geleitet. Der Ammoniakgehalt des Harnes wird bestimmt durch Zurücktitrieren der in der Vorlage enthaltenen Zehntelnormalsäure unter Anwendung eines geeigneten Indicators. Folin verwendet 2 Tropfen 1%iger Alizarinrotlösung und titriert bis zur Rotfärbung, nicht bis zur Violettrotfärbung. Ich möchte als Indicator das Luteol empfehlen (Seite 57).

1 ccm $^1/_{10}$Normalsäure = 0,001703 g NH_3.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **37.** 161.
[2]) Memoir. d. chim. agricol. 291; Journ. prakt. Chem. 1850. **51.** 281.
[3]) Zentralbl. Physiol. 1887. 485; Berl. Bericht. 1889. **22.** 1903.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **33.** 237.
[5]) Zeitschr. Biolog. 1899. **38.** 237.
[6]) Südd. Apoth.-Ztg. 1907. **47.** Nr. 63 u. 64.

Um alles Ammoniak (bis zu 40 ccm $^1/_{10}$ NH_3) in einer einzigen Vorlage zurückzuhalten, hat Folin folgenden Apparat (Fig. 26) benützt.

A ist ein Glasrohr (8 mm Durchmesser), das bei *a* in eine kleine Kugel ausgeblasen ist, in die mit einem erhitzten Platindraht 5—6 kleine Öffnungen (1 mm Durchmesser) gestoßen werden. *C* ist ein etwa 7,5 cm vom oberen Ende abgeschnittenes Reagenzglas (2,5 cm Durchmesser), in dem sich bei *b* etwa 6 oder 7 Öffnungen in einer Entfernung von 3 cm vom oberen Ende des Reagenzglases befinden; die Löcher sind etwas größer als die in Röhre *A*.

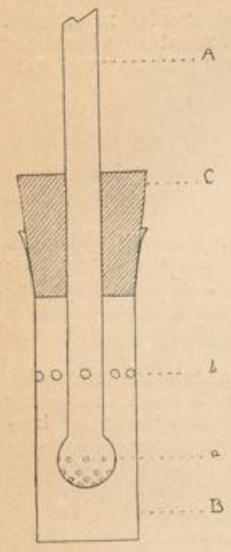


Fig. 26.

Wenn die Röhren *A* und *B* durch den Gummistopfen *C* zusammengefügt und in die Vorlage eingebracht sind, so kommt die Ammoniak enthaltende Luft zuerst bei *a* und später auch bei *b* mit der Säure der Vorlage in Berührung. Jede Spur von Ammoniak wird dadurch in der Säure enthaltenden Vorlage zurückgehalten, auch wenn nur ein verhältnismäßig kleiner Überschuß (5—10 ccm) von $^1/_{10}$ n-Säure in der Vorlage vorhanden ist.

Beurteilung.

Shaffer erhielt sehr gute Resultate; auch ich kann die Methode als brauchbar empfehlen.

Ich habe folgendermaßen verfahren.

Der Zylinder wurde mit einem doppeltdurchbohrten Stopfen verschlossen, in dessen einer Bohrung sich ein bis tief in die Harnflüssigkeit reichendes Glasrohr, rechtwinklig gebogen, befand, während in der anderen ein ebenso gestaltetes Rohr angebracht wurde, das nur einige Zentimeter unter dem Stopfen in den Zylinder reichte. Der äußere Teil dieses Rohres wurde mit einem U-Röhrchen, mit etwas loser Watte oder Chlorcalcium gefüllt, und dieses wieder mit zwei je 20—40 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure und etwas Wasser enthaltenden Erlenmeyerkölbchen verbunden, die mit doppeltdurchbohrtem Kautschukstopfen und mit zwei rechtwinklig gebogenen Röhrchen versehen waren, von denen die eine längere in die verdünnte Säure eintauchte, während die andere zur Verbindung mit der zweiten Vorlage diente. Die Verbindungen mit Schläuchen müssen luftdicht schließen. An Stelle der Erlenmeyerkolben können auch zwei Peligotsche Röhren Verwendung finden; die ersteren haben den Vorzug, daß man darin direkt die Titration vornehmen kann. Man saugt mit der an die Wasserleitung angeschlossenen Saugpumpe (Leitung ganz öffnen!) Luft durch den Zylinder; die Luft wird durch vorheriges Durchleiten durch eine mit Schwefelsäure gefüllte Waschflasche von Ammoniak befreit.

Das Erwärmen auf 20—25° erreicht man durch Einstellen des Zylinders in etwas angewärmtes Wasser.

K. Spiro[1]) verwendet Barythydrat und verbindet mit der Ammoniakbestimmung auch die Harnstoffbestimmung. Siehe diese.

Eine kolorimetrische Bestimmung geben O. Folin und A. B. Macallum[2]) an.

1—5 ccm Harn versetzt man mit einigen Tropfen einer Lösung, die 10% Kaliumkarbonat und 15% Kaliumoxalat enthält, fügt etwas rohes Maschinenöl hinzu, leitet 10 Minuten lang einen starken Luftstrom durch die Flüssigkeit, sammelt das übergehende Ammoniak in einem 100 ccm fassenden Kolben, der 20 ccm Wasser und 2 ccm $n/_{10}$ Säure enthält, versetzt mit Nesslerschem Reagens und ermittelt den Ammoniakgehalt kolorimetrisch durch Vergleichen mit einer aus 0,001 g Stickstoff in Form von Ammoniumsulfat bereiteten Standardlösung.

Ein Verfahren zur direkten Neßlerisierung von Ammoniak im Harne bespricht J. B. Summer.

3. Nach Krüger-Reich[3]), modifiziert von A. Schittenhelm.[4])

Prinzip.

Ist im Prinzipe ganz ähnlich den von Boussingault, Wurster, Folin angegebenen Verfahren.

Ausführung der Bestimmung.

In einem Destillationskolben werden 25—50 ccm Harn mit 10 g Natriumchlorid und mit so viel Natriumcarbonat versetzt, bis deutliche alkalische

---

[1]) Beiträge chem. Physiol. Pathol. 1907. **9.** 481; Chem. Centralbl. 1907. **78.** II. 947.
[2]) Journ. of Biolog. Chem. 1912. **11.** 523; Chem. Centralbl. 1912. **83.** II. 761.
[3]) Dissertation von Reich. Breslau 1912. Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **39.** 163.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **39.** 73.

Reaktion eingetreten ist. Hiezu genügt meistens 1 g. Der Kolben (Jenaer Glas) wird mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen; in der einen Bohrung befindet sich ein nicht zu enges, knieförmig gebogenes, am besten mit einer Kugelvorrichtung (um Übersteigen zu verhindern) versehenes Destillationsrohr, in der anderen Bohrung ein bis fast zum Boden reichendes, aber mit einem Stück Gummischlauch versehenes Glasrohr; am Gummischlauche ist ein Quetschhahn angebracht. Das Destillationsrohr wird mit gutem Gummischlauche mit einem rechtwinklig gebogenen Glasrohre verbunden (die Enden der beiden Röhren im Schlauche sollen nahe beisammen liegen, damit der Schlauch nicht eingezogen werden kann), das mit Hilfe eines gut schließenden Gummistopfens in den einen Schenkel der Peligotschen Röhre und zwar etwas in die darin vorgelegte Säure, 10 bis 30 ccm $^1/_{10}$-Normalsalzsäure oder $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure, mündet. Die Peligotsche Röhre wird in Eis gut gekühlt. Der zweite Schenkel der Peligotschen Röhre wird mit einem Gummistopfen und mit einer rechtwinklig gebogenen Röhre mit der Wasserstrahlpumpe durch einen Gummischlauch, an dem ein Quetschhahn angebracht ist, verbunden. (Man kann auch an das Destillationsrohr an Stelle des gewöhnlichen Glasrohres einen kleinen Kühler anschließen und diesen luftdicht mit der Vorlage verbinden.) Der Apparat muß luftdicht schließen. Es wird nun evakuiert, dann läßt man durch den Quetschhahn 20 ccm Alkohol nachfließen, worauf die Destillation durch Erwärmen des Kolbens im Wasserbade, dessen Temperatur 43° nicht übersteigen soll, unter einem Drucke von 30—40 mm Quecksilber erfolgt. Von 10 zu 10 Minuten werden 15—20 ccm Alkohol zugegeben, nötigenfalls auch 10—15 ccm Wasser, wenn die Flüssigkeit zu rasch eindampfen sollte. Zum Schlusse läßt man nochmals 10 ccm Alkohol zufließen, der den Kolbeninhalt wieder in lebhaftes Sieden bringt und die in der Überleitungsröhre befindlichen Wassertropfen wegspült. Jetzt wird die Wasserstrahlpumpe nach vorherigem Abklemmen der Verbindung mit der Peligotschen Röhre abgestellt, darauf durch den am Destillationskolben angebrachten Quetschhahn die Luft in den Kolben und in die Vorlage eingelassen und endlich der Inhalt der Peligotschen Röhre mit $^1/_{10}$ Normallauge zurücktitriert. Die Bestimmung dauert etwa 1 Stunde.

Beurteilung.

Die Methode liefert sehr gute Ergebnisse. M. Krüger und O. Reich bedienten sich des in Fig. 27 abgebildeten Apparates.

4. Henriques und Sörensen[1]) neutralisieren 50 ccm Harn nach Zusatz von 2 g festem Bariumchlorid und 1 Tropfen Phenolphthalein mit gesättigter Bariumhydratlösung, fügen noch 5 ccm Barytlauge hinzu, füllen auf 100 ccm auf und filtrieren. Ein abgemessener Teil des Filtrates wird mit 10 ccm methylalkoholischer Barytlauge (etwa $^1/_2$ normal) nach Krüger-Reich destilliert. Nach dem Abdestillieren muß der Rückstand noch einen deutlichen Überschuß an Bariumhydroxyd enthalten. Während der Destillation, die bei dem durch eine gute Wasserstrahlpumpe erreichbaren Vakuum (von 15 mm Druck) ausgeführt werden muß, wird der Kolben in Wasser von 40° C erwärmt und ein schwacher Strom von kohlensäurefreier Luft durch den Kolbeninhalt geleitet. Das übergehende Destillat wird gekühlt, bevor es in die Peligotsche Röhre eintritt.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 120.

5. Bestimmung nach H. Malfatti[1]), A. Ronchèse.[2]) Klinische Methode.

Prinzip.

Die Ammoniumsalze reagieren mit Formaldehyd bei neutraler Reaktion unter Bildung von Hexamethylentetramin und freier Säure.

$$4\,NH_4Cl + 6\,HCOOH = N_4(CH_2)_6 + 6\,H_2O + 4\,HCl.$$

Ausführung der Bestimmung.

10 ccm Harn werden genau wie zur üblichen Aciditätsbestimmung mit Wasser ungefähr auf das 5—6fache verdünnt und nun nach Zusatz stets gleicher Mengen von Phenolphthalein mit $^1/_{10}$ n-Lauge titriert, bis eben ein wahrnehmbarer Farbenumschlag auftritt, zu dessen genauer Erkennung die übliche Vergleichsprobe sehr vorteilhaft ist. Nachdem so die Harnacidität festgestellt ist, fügt man 3 ccm käufliches Formalin zu, das aber vorher durch Zusatz von Phenolphthalein und einigen Tropfen Lauge eben neutralisiert wurde; die eingetretene Färbung verschwindet; man titriert weiter, bis der gleiche Farbenwechsel eintritt, den man als Endpunkt der Aciditätsbestimmung erkannte. Die nach dem Formalinzusatze noch verbrauchte Laugenmenge ergibt unmittelbar das vorhandene Ammoniak in ccm $^1/_{10}$ Normalammonium oder man multipliziert die Zahl der nach dem Formalinzusatze verbrauchten ccm Lauge mit 0,0017, um den Gehalt an Ammoniak in 10 ccm Harn zu erhalten.

Obwohl 3 ccm Formalin in den meisten Fällen für das im Harne vorhandene Ammoniak ausreichen, fügt man doch zum Schlusse noch etwas neutralisiertes Formalin zu und beobachtet, ob die Färbung verschwindet. Geschieht dies, so muß natürlich unter erneutem Zusatze von Formalin (1 ccm) weiter titriert werden. War zu wenig Formalin zugesetzt worden, so läßt sich das leicht auch an einer anderen auffallenden Erscheinung erkennen; in diesem Falle verstärkt sich nämlich die eben eingetretene schwache Rötung sehr bald zu deutlichem, ja tiefem Rot, während, wenn die Reaktion tatsächlich beendet ist, der entstandene Farbenton sich kaum mehr verändert.

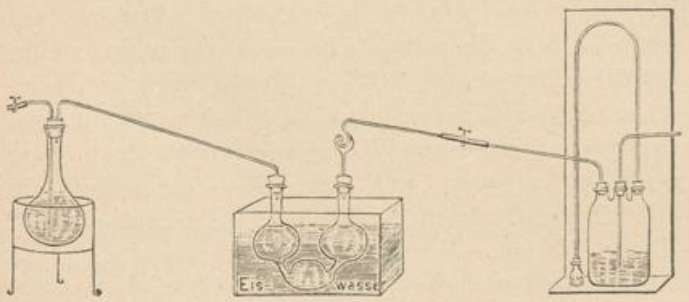


Fig. 27.

In einer Anzahl pathologischer Harne stimmten die auf diese Weise gefundenen Ammoniakwerte gut mit den nach der von Schloesing angegebenen bekannten Methode überein, in anderen Fällen wieder nicht; die nach Folins Verfahren gewonnenen Werte fielen dagegen fast immer bedeutend niedriger aus. Die Substanz, die in manchen Harnen die nach der Formaldehydtitration gewonnenen Ammoniakwerte zu hoch erscheinen läßt, muß unter den bekannten stickstoffhaltigen Substanzen des Harnes gesucht werden; als solche kommen in Betracht substituierte Ammoniake (Derivate von Trimethylamin und Propylamin) und, was von Bedeutung ist, Aminosäuren, in erster Linie Glykokoll, das nach den neueren Untersuchungen gar nicht so selten zu sein scheint. Diese können also bei Verwendung der Formaldehydtitration Ammoniak vortäuschen und den Ammoniakgehalt zu hoch erscheinen lassen. Dies wäre ein Fehler dieser klinischen Methode, doch könnte dieser Fehler sogar einen Vorteil bieten; wenn der Arzt aus der Art der Krankheit und der großen Menge des scheinbar gefundenen Ammoniaks den Verdacht schöpft, daß in einem Harne neben Ammoniak auch Aminosäuren vorliegen, kann er stets durch gleichzeitige Aufstellung einer Schloesingschen Ammoniakbestimmung erkennen, ob wirklich diese unvollständigen Abbauprodukte des Eiweißstoffwechsels im Harne vorhanden sind und

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1908. **47.** 274.

[2]) Bullet. de la société chim. de Paris 1907. 899; Chem. Centralbl. 1907. **78.** II. 1115. 1710; Zeitschr. analyt. Chem. 1908. **47.** 757; Journ. Pharm. Chim. 1908. **15.** 611.

ungefähr in welcher Menge. Die genauere Untersuchung muß dann allerdings dem Fach-Sachverständigen überlassen bleiben.

6. Mathison[1]) verfährt ganz ähnlich. 20 ccm Harn bringt man in ein 250 ccm fassendes Gefäß und verdünnt mit 50 ccm destilliertem Wasser. Nach Zusatz von 4 Tropfen Phenolphthaleinlösung läßt man aus einer Bürette $^1/_{10}$ n-Natronlauge zufließen, bis eine Rotfärbung eintritt, die auf Schütteln nicht mehr verschwindet. Auf diese Weise wird der Säuregehalt des Harnes ermittelt. Nun werden 5 ccm Formalin mit 5 ccm Wasser, einem Tropfen Phenolphthaleinlösung und so viel der Natronlauge vermischt, daß Rosafärbung erzielt wird. Diese Mischung gibt man zu dem Harne, worauf die Rosafärbung sofort verschwindet. Alsdann setzt man von der Natronlauge bis zum Wiedererscheinen der Rosafärbung hinzu. Die hiezu erforderliche Menge von Natriumhydrat ist chemisch äquivalent dem Ammoniak, das vorher als Ammoniumsalz im Harne vorhanden war und nun in Hexamethylentetramin verwandelt ist. Zur Erhöhung der Genauigkeit dieses Verfahrens setzt man dem Harne 15 g gepulvertes neutrales Kaliumoxalat

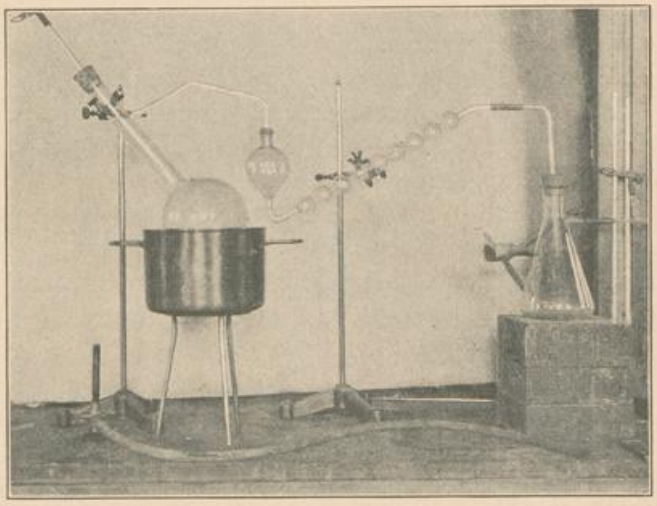


Fig. 28

zu und schüttelt vor dem Titrieren 2 Minuten gut durch. 1 ccm $^1/_{10}$ Lauge = 0,0017 g Ammoniak oder 0,0014 g Stickstoff.

A. A. Bonnema[2]) gibt zur klinischen Bestimmung des Ammoniaks das Formolverfahren, wie von Malfatti empfohlen, an.

7. Eine Säure- und Ammoniakbestimmung wenden H. Björn-Andersen und M. Lauritzen[3]) an. Sie destillieren das Ammoniak in einem besonderen Apparate (Fig. 28) bei 50° im Vakuum ab. Die Säurebestimmungen führen sie einmal nach Folins Methode aus unter Anwendung von neutralem oxalsaurem Kalium und dann nach Formalinzusatz. Die letzte Titration gibt die Säuremenge an, die an Ammoniak gebunden ist.

Beurteilung.

Die Verfahren der Ammoniakbestimmung nach der Formoltitration sind nach dem Gesagten nicht so ganz einwandfrei, aber zur schnellen Orientierung wertvoll.

Eine Ammometer genannte Vorrichtung zur Ammoniakbestimmung empfiehlt R. Weiss.[4])

Wahl der Methode.

Das Schloesingsche Verfahren ist zwar einfach und leicht ausführbar, doch zeitraubend und nicht in allen Fällen vollkommen sicher. Für genaue Untersuchungen wähle man eine der unter 2 oder 3 angegebenen Methoden.

---

[1]) Südd. Apoth. Ztg. 1910. **50.** 30.
[2]) Chem. Ztg. 1915. **39.** 319.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 21.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1919. **63.** 1547

3. Calcium und Magnesium. Ca, Mg.

Die alkalischen Erden sind im Harne hauptsächlich an Phosphorsäure, nur geringe Mengen sind an Schwefelsäure, Oxalsäure, Kohlensäure gebunden. Die phosphorsauren Salze werden im Harne durch die saure Reaktion des Harnes und durch die Temperatur, sowie durch die übrigen Harnbestandteile in Lösung gehalten; beim Alkalischwerden oder nach Zusatz von Alkali scheidet sich der größte Teil der Erden in Form von phosphorsaurem Kalk, phosphorsaurer Magnesia, als oxalsaurer Kalk ab. Erfolgt diese Abscheidung innerhalb der Harnwege, so kann dieses zur Bildung der Harnkonkremente, Harnsteine führen.

Die in 24 Stunden im Harne ausgeschiedene Gesamtmenge der Erdphosphate beträgt nach Neubauer etwa 1,2 g, die des phosphorsauren Kalkes allein 0,31—0,37, die der phosphorsauren Magnesia im Durchschnitte 0,64; nach anderen Angaben werden 0,2—0,4 g Kalk (CaO) und 0,4—0,5 g Magnesia (MgO) in 24 Stunden ausgeschieden.

Die Menge der Kalk- und Magnesiaausscheidung hängt aber selbstverständlich vom Körpergewichte, von der Nahrung und von der Verdauungskraft des Darmes ab; es kann dadurch auch das Verhältnis des Kalkes zur Magnesia ein ganz anderes werden. So wurden z. B. nach der Ernährung mit Fleisch, Milch, Käse, Eier, Brot 0,49 g Kalk und 0,29 g Magnesia ausgeschieden. Renwall und Groß[1]) u. a. fanden entgegen anderen Angaben im Harne mehr Kalk wie Magnesia.

Vermehrte Ausscheidung der Kalksalze ist beobachtet bei Hunger wegen Verbrauchens von Knochensubstanz, dann nach Trinken von viel Wasser, weiter bei Phthise, bei Diabetes, nach Quecksilbervergiftungen, bei Nierenkrankheiten, verminderte bei Fieber, Schwangerschaft.

Über Magnesiaausscheidung im Harne ist wenig bekannt.

Qualitativer Nachweis.

Man löst den durch Zusatz von Ammoniak zum Harne erhaltenen Niederschlag (phosphorsauren Kalk und phosphorsaure Ammoniakmagnesia) in Essigsäure, setzt etwas Chlorammonium und eine Lösung von oxalsaurem Ammonium hinzu; es wird oxalsaurer Kalk ausgefällt; im Filtrate wird die Magnesia nachgewiesen durch Zusatz von Ammoniak, wodurch wieder phosphorsaure Ammoniakmagnesia ausgeschieden wird.

1. Quantitative gewichtsanalytische Bestimmung

a) des Kalkes.

100—200 ccm des filtrierten Harnes bringt man in ein Becherglas, versetzt mit Ammoniak und löst den abgeschiedenen Niederschlag wieder in wenig Essigsäure; nun gibt man oxalsaures Ammonium hinzu und filtriert den nach 10—12stündigem Stehen an einem warmen Platze abgesetzten

[1]) Dissertation Freiburg 1905.

Niederschlag von oxalsaurem Kalk ab, indem man zuerst die klare Flüssigkeit durch das Filter laufen läßt, den Rückstand mit warmem Wasser durch Dekantieren auswäscht und dann aufs Filter bringt. Das Filtrat dient zur Magnesiabestimmung. Das getrocknete Filter mit dem Niederschlage wird im Platintiegel verascht, der Platintiegel auf dem Gebläse $^1/_4$ Stunde geglüht und nach dem Erkalten gewogen. Man glüht nochmals und wägt, um zu sehen, ob Gewichtskonstanz vorhanden ist.

Rückstand = Calciumoxyd, CaO.

$$CaO \cdot 0{,}7149 = Ca.$$

$$1\,g\ CaO = 1{,}844\,g\ Ca_3(PO_4)_2 = 3{,}07\ CaHPO_4 + 2H_2O$$
$$= 4{,}5\ CaH_4(PO_4)_2 + H_2O.$$

K. Aron[1]) bestimmt den Kalk als Calciumsulfat. Man kann, wenn ein Gebläse fehlt, den oxalsauren Kalk durch schwaches Glühen unter Zugabe von Ammoniumcarbonat in kohlensauren Kalk überführen.

$$1{,}78\ CaCO_3 = 1\ CaO.$$

b) der Magnesia.

Zum nötigenfalls eingeengten Filtrate vom abgeschiedenen oxalsauren Kalke gibt man etwa $^1/_3$ Volumen 10%igen Ammoniaks (0,96 spez. Gew.), läßt 12 Stunden stehen und sammelt die phosphorsaure Ammoniak-Magnesia auf einem Filter; man wäscht Filter mit Rückstand mit ammoniakhaltigem Wasser ($^2/_3$ Wasser, $^1/_3$ 10%iges Ammoniak) aus. Vom getrockneten Filter entfernt man den Niederschlag, bringt ihn in einen Platintiegel, verascht das Filter in der Platinspirale, bringt die Filterasche zum Niederschlage und glüht über einer gewöhnlichen Flamme, zuletzt einige Minuten auf dem Gebläse oder $^1/_4$ Stunde auf dem Teclubrenner. Der Platintiegel mit Inhalt wird nach dem Erkalten gewogen; der Inhalt ist pyrophosphorsaure Magnesia ($Mg_2P_2O_7$).

Wenn der Tiegelinhalt sich schwer weiß brennen sollte (organische Substanz, Harnsäure usw.), dann bringt man zu diesem (aber nach dem Erkalten) eine kleine Menge Ammoniumnitrat und einige Tropfen Wasser oder einige Tropfen Salpetersäure, erwärmt recht vorsichtig zur Entfernung der Feuchtigkeit auf einem Asbesttellerchen und glüht schließlich.

$$Mg_2P_2O_7 \cdot 0{,}3621 = MgO.$$

$$Mg_2P_2O_7 \cdot 0{,}2187 = Mg.$$

Stark eiweißhaltiger Harn muß verascht werden. Man nimmt die Asche mit heißer Salzsäure auf, dampft zweimal mit Salzsäure zur Trockne ein, behandelt den Rückstand mit Wasser, filtriert die ausgeschiedene Kieselsäure ab, versetzt mit Ammoniak und bestimmt in der Lösung den Kalk und die Magnesia, wie angegeben. Bei ganz genauen Untersuchungen wird man die Bestimmung des Kalkes und der Magnesia stets in der Asche vornehmen; man wird die mit Ammoniak in geringem Überschusse versetzte filtrierte salzsaure Lösung erhitzen, bis das Ammoniak verjagt ist und einen entstandenen Niederschlag von Eisen- und Aluminiumhydroxyd abfiltrieren; das Filter wird gut ausgewaschen, im Filtrate werden nach Zusatz von Ammoniak Kalk und Magnesia wie erwähnt bestimmt. Noch genauer ist es, die mit Salzsäure eingedampfte und bei 100° zwei Stunden getrocknete Asche mit Wasser aufzunehmen und die abgeschiedene Kieselsäure erst abzufiltrieren. Das Filtrat wird mit Ammoniak versetzt usw. Nach Wolff soll im Harne ein Teil des Kalkes, zwischen 0,9—18,1%, in einer nicht mit Oxalsäure fällbaren Form vorhanden sein. Wenn die Asche verwendet wird, würde auch dieser Kalk durch die Oxalsäure gefällt und mitbestimmt werden.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1907 **4**. 268.

Zweckmäßig kann man die nach Neumanns Verfahren (Bestimmung der Alkalien und des Eisens) vorbereitete Lösung verwenden. Zuerst sind auch hier Eisen, Tonerde, Kieselsäure abzuscheiden.

2. Bestimmung des Kalkes und der Magnesia auf maßanalytischem Wege.

Der Kalk wird, wie angegeben, ausgefällt und geglüht. Den Tiegelinhalt — CaO — (oder, wenn er mit Ammoniumcarbonat nur über der Flamme geglüht wurde, $CaCO_3$) bringt man in ein Becherglas, spritzt den Tiegel aus und gibt nun 20 ccm $^1/_{10}$ Normalsalzsäure zu. Man läßt stehen oder erwärmt höchstens sehr schwach (da Salzsäure etwas flüchtig ist), bis die Kohlensäure entfernt und bis Lösung erfolgt ist; man titriert dann unter Zusatz von Phenolphthalein oder Lackmus als Indicator mit $^1/_{10}$ Normalkalilauge den Überschuß an Säure zurück. Die verbrauchten ccm $^1/_{10}$ Normallauge werden von den zugegebenen 20 ccm Säure abgezogen, der Rest wird auf Kalk (CaO) berechnet.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Säure = 0,0028 g CaO.
= 0,002 g Ca

Den gut ausgewaschenen feuchten Niederschlag von Calciumoxalat kann man auch mit verdünnter Schwefelsäure auf dem Filter lösen und die heiße trübe Lösung mit $^1/_{10}$ n-Permanganatlösung (S. 41) titrieren. 1 ccm der Permanganatlösung = 0,002 CaO.

Die Magnesia wird, wie bei der quantitativen Bestimmung ausgeführt, gefällt und der Niederschlag auf einem Filter gesammelt. Der mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschene Niederschlag wird in ein Becherglas gespritzt, in Essigsäure gelöst und in der Flüssigkeit die Phosphorsäure titrimetrisch mit Uran bestimmt.

Gefundene Phosphorsäure · 0,5676 = MgO.
· 0,3426 = Mg.

Man kann den Niederschlag der phosphorsauren Ammoniakmagnesia auch mit $^1/_{10}$ Säure titrieren; zu diesem Zwecke muß aber aus dem Niederschlage das vom Auswaschen mit verdünntem Ammoniak noch vorhandene Ammoniak entfernt werden, was man durch Behandeln des Niederschlages mit Alkohol erreicht. Man gibt den Niederschlag in ein Becherglas, suspendiert ihn in Wasser, fügt Cochenilletinktur hinzu und titriert mit der $^1/_{10}$ Säure oder Normalsäure, bis die violettrote Farbe in gelbrot umschlägt.

1 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure = 0,002016 g MgO.

Zur kolorimetrischen Bestimmung kleiner Magnesiummengen geben F. G. Hammett und E. T. Adams[1]) ein Verfahren an.

Wahl der Methode.

Wenn nicht eine Wage zum Abwägen der Platintiegel fehlt, dann wird man sich immer der gewichtsanalytischen Bestimmung, die sehr schnell erledigt ist, bedienen; bei ganz genauen Untersuchungen verwendet man am besten die Harnasche oder auch die nach Neumann vorbereitete Lösung.

4. Eisen. Fe.

Der Eisengehalt ist im normalen Harne ein nur geringer und schwankt nach den Angaben der verschiedenen Autoren in der 24stündigen Harnmenge zwischen 0,001—0,010 g. Nach den einwandfreien Untersuchungen von F. Kobert und von seinen Schülern N. Damaskin[2]) und P. Hoffmann[3]), nach O. Wolter[4]) beträgt der Eisengehalt im Durchschnitte nur ungefähr 1 mg; die Befunde wurden auch von A. Neumann und A. Meyer[5]) als richtig bestätigt; die Letztgenannten fanden als Durchschnittswert 0,983 mg Fe im Tagesharne. Das Eisen ist organisch gebunden (eisenhaltige Farbstoffe). Nach O. Wolter kommt das Eisen in nicht jonisierter Form in organischer Bindung vor; die Zusammensetzung der Eisenverbindung ist

[1]) Journ. Biol. Chem. 1922. **52.** 211; Chem. Centralbl. 1922. **93.** IV. 1194.
[2]) Dorpater Arbeiten. 1891. **7.** 40.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1901. **40.** 73.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1910. **24.** 108. 125.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **37.** 141.

nicht bekannt; das Eisen soll in fest gebundener Form und als locker gebundenes Eisen vorkommen; in normalem Harne soll aber letzteres meist in nicht meßbarer Menge vorhanden sein, während bei einer Reihe von Krankheiten locker gebundenes neben dem festgebundenen auftreten soll (besonders bei Blutkrankheiten). Im allgemeinen ist der sog. Nachtharn reicher an Eisen als der des Tags über entleerte Harn. In an Eiweiß reichem Harne, bei Diabetes mellitus und perniziöser Anämie wurde eine Steigerung der Eisenausscheidung beobachtet.

Qualitativer Nachweis.

1. Man löst die Asche in eisenfreier Salzsäure und prüft einen Teil der Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure und nach dem Kochen mit Rhodankalium oder Rhodanammonium — blutrote Färbung (Eisenrhodanid).
2. Den anderen Teil versetzt man nach dem Kochen mit etwas Salpetersäure mit Ferrocyankalium — Entstehen einer Blaufärbung bei Anwesenheit von Eisen und Abscheidung eines blauen Niederschlages (Berlinerblau) nach einiger Zeit.
3. Ein weiterer Teil der Lösung gibt nach dem Absättigen der Salzsäure mit Ammoniak mit Schwefelammonium einen schwarzen Niederschlag von Schwefeleisen, der sich in Salz- und Salpetersäure leicht löst.

Quantitative Bestimmung.

Zur sicheren Bestimmung des Eisens im Harne kann man sich zweckmäßig zweier Verfahren bedienen. Nach dem einen Verfahren wird der Harn verascht und die Asche verwendet, nach dem anderen geschieht die Beseitigung der organischen Substanz durch Oxydation auf nassem Wege.

1. Bestimmung in der Harnasche unter Anwendung der von A. Jolles[1]) angegebenen Verbesserungen:

200—500 ccm Harn werden in einer Platin- oder Porzellanschale (die ersteren werden stark angegriffen) eingedampft; der Rückstand wird im Luftbade bei etwa 180° getrocknet und dann mit kleiner Flamme verascht, bis die organischen Stoffe möglichst verkohlt sind. Man kann die Masse nach dem Trocknen im Luftbade auch mit absolutem Alkohol befeuchten und abbrennen, wodurch die Veraschung beschleunigt werden kann. Man zieht die gut zerriebene Kohle mit kochendem Wasser aus und filtriert durch ein kleines quantitativen Zwecken dienendes Filter. Nach dem Auswaschen wird das Filter mit Rückstand in die Platinschale gegeben, getrocknet und von neuem verascht. Zur Asche gibt man das Filtrat, dampft zur Trockne ein und glüht den Rückstand nochmals, bis eine weiße Asche erhalten ist. Die weiße Harnasche wird nun mit siedendem Wasser so lange extrahiert, bis das wässerige Filtrat mit Silbernitrat keine Trübung mehr zeigt. Hiebei werden Harnsalze, darunter auch die bei der Titration mit Kaliumperman-

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1897. **36.** 149.

ganat störend wirkenden Chloride, entfernt. Der Filterrückstand samt Filter wird in einen Platintiegel oder in eine Platinschale gebracht, verascht und der Tiegelinhalt mit reinem, wasserfreiem saurem schwefelsaurem Kali geschmolzen; man läßt den Tiegel oder die Schale erkalten, bringt diese in ein Gefäß (Becherglas) mit heißem Wasser, um die Lösung der Masse zu erzielen, nimmt Tiegel oder Schale heraus, spült ab und gibt die Lösung in das mit dem Bunsenschen Ventil (Fig. 29) versehene Kölbchen. Nach Zugabe von verdünnter Schwefelsäure und von 2 g chemisch reinem Zink wird der Kolben mit dem Ventil verschlossen, auf dem Wasserbade, auch auf dem Drahtnetze, bis zum Lösen des Zinks erwärmt und der Inhalt des Kölbchens mit Kaliumpermanganat, wie bei der Titerstellung angegeben, titriert.

Fig. 29.

Da nach Versuchen von A. Jolles das chemisch reinste Zink Spuren Eisen enthält und diese Spuren im Harne, wo es sich um relativ minimale Eisenmengen handet, eine Rolle spielen, so bringt man den vorher ermittelten Eisengehalt des Zinks von dem gefundenen in Abzug. Man stellt in einer bestimmten Menge des Zinks den Eisengehalt (durch Auflösen des Zinks in verdünnter Schwefelsäure im sog. Bunsenschen Ventilkölbchen und Titrieren der Lösung mit Permanganat) fest und verwendet zur Reduktion der Lösung der Harnasche bestimmte Mengen (2 g) Zink; den dieser Zinkmenge entsprechenden Eisengehalt bringt man, wie erwähnt, von dem gefundenen Eisengehalte in Abzug. Von einigen Autoren wurde empfohlen, als Eisengehalt des Zinks 0,23—0,242 mg in Rechnung zu setzen. Dies geht nicht an, der Eisengehalt des Zinks ist genau zu ermitteln.

Man muß bei der Eisenbestimmung im Harne sehr vorsichtig verfahren, damit nicht Eisen von der Verwendung eiserner Gerätschaften in den Harn gelangt; natürlich müssen auch die übrigen Reagenzien eisenfrei sein.

Titerstellung der Kaliumpermanganatlösung.

Die Kaliumpermanganatlösung wird zweckmäßig mit metallischem Eisen eingestellt. Die Einstellung kann auch mit einer Lösung von Oxalsäure vorgenommen werden (s. unten).

0,03—0,05 g feinster, nicht rostiger, am besten erst noch mit Glaspapier abgeriebener Klavierdraht wird in dem sog. Bunsenschen Ventilkölbchen in der Wärme in verdünnter Schwefelsäure gelöst; die Lösung wird in ein mindestens 1000 ccm fassendes Becherglas gebracht, das Kölbchen mit warmem Wasser ausgespült, die Flüssigkeit mit kochend heißem, durch längeres Sieden vollkommen luftfreiem Wasser stark verdünnt, mit verdünnter Schwefelsäure im großen Überschusse versetzt und dann aus einer Gay-Lussacschen oder einer Glashahnbürette von der Permanganatlösung (1:1000 ccm Wasser) bis zur bleibenden Rosafärbung zugegeben. Die angewandte Menge Eisen dividiert durch die verbrauchten Kubikzentimeter Kaliumpermanganatlösung ergibt die Menge Eisen, der 1 ccm Permanganatlösung entspricht.

Die für das im Harne vorhandene Eisen verbrauchten Kubikzentimeter Permanganatlösung werden mit dem Titer dieser Lösung multipliziert.

Beispiel.

0,05 g Klavierdraht erforderten 28,25 ccm Permanganat; 1 ccm der Lösung = 0,0017 g Fe.

Für den Versuch sind verbraucht 3 ccm Permanganat; diese entsprächen 0,0051 g Eisen in der angewendeten Harnmenge (500 g); in Abzug zu bringen wäre noch der für die 2 g Zink allein ermittelte Eisengehalt.

Die Titerstellung der Permanganatlösung kann wie erwähnt auch durch $^1/_{100}$ n-Oxalsäurelösung vorgenommen werden; man verwendet dann zweckmäßig auch eine $^1/_{100}$ n-Kaliumpermanganatlösung, mit der man das aus dem Harne abgeschiedene reduzierte Eisen titriert.

Man wägt 0,3163 g reines Kaliumpermanganat genau ab, löst dieses in Wasser und füllt zum Liter auf (bei 15°). Andererseits wägt man von der reinen wasserfreien nochmals getrockneten Oxalsäure (s. Seite 52) genau 0,4501 g ab, bringt diese in einen Literkolben und füllt mit Wasser von 15° zum Liter auf.

(Von der reinen wasserhaltigen, nicht verwitterten Oxalsäure [$C_2H_2O_4 + 2H_2O$] müßte man 0,63024 g abwägen.)

25 ccm der Oxalsäurelösung versetzt man mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure (1:3), erhizt zum Sieden und läßt aus einer Glashahnbürette von der Permanganatlösung so lange zufließen, bis beim Umschütteln eben eine schwache rötliche Färbung bestehen bleibt. Es werden 25 ccm verbraucht werden, wenn die Permanganatlösung genau normal ist. 1 ccm derselben = 0,0005585 g Fe. Verbraucht man statt der 25 ccm vielleicht 25,8 ccm Permanganatlösung, dann entspricht 1 ccm dieser etwas zu dünnen Lösung

$$\frac{25 \cdot 0{,}0005585}{25{,}8} = 0{,}0005411 \text{ g Fe.}$$

2. Bestimmung des Eisens nach der von Neumann[1]), Rohmann und Steinitz[2]) empfohlenen Methode von P. Hoffmann.[3])

Prinzip.

Die Zerstörung der organischen Substanz erfolgt durch Oxydation mit Salpetersäure, Ammoniumnitrat und Schwefelsäure.

Ausführung der Bestimmung nach Hoffmann.

500 ccm Harn werden mit 30 ccm konzentrierter Salpetersäure versetzt und in einem ungefähr 1 Liter fassenden Kolben (Schottenkolben) auf einem Asbestdrahtnetze bis zu einem kleinen Volumen eingedampft. Am besten geschieht dies portionsweise; zum gleichmäßigen Sieden fügt man Glasscherben bei. Nach dem Abkühlen trägt man 5 g Ammoniumnitrat ein und gibt 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu. Hat sich die unter Ausstoßen dicker roter Dämpfe vor sich gehende Reaktion gemäßigt, so erwärmt man vorsichtig. Es werden abwechselnd Mengen von etwa 3 g Ammoniumnitrat und je 5—10 ccm Salpetersäure und andererseits von Schwefelsäure zugegeben, bis auch nach längerem Erwärmen keine Gelbfärbung mehr eintritt und aus der dickflüssigen, beim Erkalten meist erstarrenden Masse Schwefelsäuredämpfe entweichen. Durchschnittlich werden zur Oxydation der pathologischen Harne 50 ccm Salpetersäure, 10 g Ammoniumnitrat und 40 ccm Schwefelsäure verbraucht. (Am langwierigsten ist die Zerstörung von Diabetes-Harn). Normaler Harn erfordert etwa 35 ccm Salpetersäure, 5 g Ammoniumnitrat, 30 ccm Schwefelsäure. Nach dem Erkalten wird mit Wasser verdünnt und die Lösung ammoniakalisch gemacht. Es sind dabei stets kleine Mengen zuzufügen, da starke Erwärmung eintritt. Man setzt dann Schwefelammonium zu, läßt über Nacht stehen, filtriert und wäscht den Filterrückstand mit ammoniakalischem Wasser aus. Nach dem Trocknen des Filters mit Rückstand verascht man das Filter und bringt das Eisen mit Hilfe von saurem Kaliumsulfat, wie bei 1. angegeben, zur Lösung. Man verfährt weiter, wie S. 76 ausführlich beschrieben wurde; man reduziert also die eisenhaltige Lösung im Kölbchen mit Bunsenventil und titriert das erhaltene Eisenoxydul mit der Permanganatlösung.

3. Eine quantitative gewichtsanalytische Bestimmung des Eisens gründet sich auf folgendes

Prinzip:

Das Eisen wird aus salzaurer Lösung durch eine konzentrierte Nitroso-β-Naphthollösung in 50—52%iger Essigsäure als Ferrinitrosonaphthol $\begin{matrix} C_{10}H_6NO \cdot O \\ C_{10}H_6NO \cdot O \\ C_{10}H_6NO \cdot O \end{matrix}\!\!>\!\!\text{Fe}$ abgeschieden. (G. v. Knorre.[4])

A. Jolles[5]) wendet diese Bestimmung für die Harnanalyse an.

Erforderliche Lösungen.

1. Nitroso-β-Naphthol.

1,2 g Nitroso-β-Naphthol krystallisiert (das nicht krystallisierte grüne Pulver ist unbrauchbar), werden in 100 ccm 50%iger Essigsäure unter Erwärmen auf etwa 90° C gelöst. Von einem auftretenden minimalen Rückstande wird abfiltriert.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **37.** 115.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1899. **38.** 433.
[3]) Ebenda 1901. **40.** 73.
[4]) Berl. Bericht. 1887. **20.** 283.
[5]) Zeitschr. analyt. Chem. 1897. **36.** 149; Pharm. Post 1897. **30.** 59.

2. Essigsäure.

250 ccm des reinen Eisessigs werden mit 150 ccm destilliertem Wasser vermischt. Die erhaltene Lösung hat ein spez. Gewicht von 1,0631.

Ausführung.

Die vollkommen weiße Harnasche wird mit Wasser extrahiert und das darin Unlösliche in wenig konzentrierter Salzsäure unter Erwärmen gelöst; das Eisen geht vollständig in Lösung. Der nötigenfalls nochmals filtrierten Lösung wird in der Kälte das Nitroso-β-Naphthol so lange zugesetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Beim Veraschen von 500 ccm Harn sind ungefähr 5—10 ccm Reagens erforderlich. Nach erfolgter Fällung rührt man mit einem Glasstabe um, läßt 5 Minuten absetzen, bringt den Niederschlag auf ein mit 50%iger Essigsäure befeuchtetes Filter, wäscht mit der gleichen Essigsäure aus und verascht den getrockneten Niederschlag mit Filter im Platin- oder Porzellantiegel Nach dem Erkalten wird das erhaltene Eisenoxyd gewogen.

Gefundenes $Fe_2O_3 . 0{,}7 = Fe$.

Beurteilung.

Beim Filtrieren der Eisenchloridlösung bleiben öfters Spuren von dieser im Filter hängen und sind selbst nach langem Auswaschen mit heißem Wasser nicht immer daraus zu entfernen.

Wahl der Methode.

Das Verfahren nach 1. oder nach 2. kann empfohlen werden.

5. Chlorwasserstoff. Salzsäure. Chlornatrium. HCl. NaCl.

Die bei weitem größte Menge der im Harne ausgeschiedenen Salzsäure ist an Natrium gebunden, weshalb man auch allgemein von einem Kochsalz- oder Chlornatriumgehalte des Harnes spricht. Ein nur kleiner Teil des Chlors wird als Chlorkalium ausgeschieden. Die Frage, ob ein Teil des im Harne ausgeschiedenen Chlors in organischer Bindung vorkommen kann, ist noch strittig.

Unter normalen Verhältnissen ist die Ausscheidung des Kochsalzes abhängig von der mit der Nahrung eingeführten Menge; Pflanzennahrung bewirkt eine vermehrte Ausscheidung. Nach reichlichem Wassergenusse werden mit dem Harne größere Chlormengen als gewöhnlich ausgeschieden. Am stärksten ist die Ausscheidung der Chloride nach Mahlzeiten, am geringsten in der Nacht; sie wird vermehrt durch körperliche Bewegung, vermindert durch Ruhe.

Die vom gesunden Menschen in der 24stündigen Harnmenge abgeschiedene Kochsalzmenge beträgt zwischen 10—15 g, nach Heger bis 17,5 g. Normal werden auf 25 g Harnstoff 11 g Chlornatrium im Harne ausgeschieden. (Bouverets Koeffizient, Verhältnis = 2,3.) Die Menge der Chloride schwankt mit der des Harnstoffes.

Die Ansichten über den Wert und die Brauchbarkeit der Ambardschen[1]) Konstante (des hämorenalen Koeffizienten), durch die gesetzmäßige Beziehungen zwischen Harnstoff- oder Kochsalzausscheidung im Harne und dem gleichzeitigen Gehalte des Blutplasmas an dem betreffenden Bestandteile ausgedrückt werden sollen, sind nach O. Hammarsten noch etwas divergierend.

In pathologischen Fällen wird eine Verminderung, Rentention — und zwar zum Teil eine sehr beträchtliche — der Ausscheidung der Chloride herbeigeführt bei allen akuten fieberhaften Krankheiten, besonders bei

[1]) Journ. d. Physiol. et d. Patholog. gén. 1912. 14.

croupöser Pneumonie, bei Typhus, Scharlach, Erysipel durch Zerstörung von Organeiweiß und Überführung in zirkulierendes Eiweiß, das einen Teil des im Blutplasma zirkulierenden Kochsalzes in Anspruch nimmt; das Blut bewahrt sich aber einen möglichst gleichmäßigen Kochsalzgehalt und scheidet erst Kochsalz aus, wenn es selbst die genügende Menge besitzt. Die Tatsache, daß bei allen akuten fieberhaften Krankheiten die Ausscheidung der Chloride ganz bedeutend abnimmt, ja daß die Chloride zum Teil ganz verschwinden, daß aber nach der Krise der Kochsalzgehalt sehr schnell ansteigt und dann sogar höhere, als normale Werte zeigen kann, ist besonders für die klinische Diagnostik von Wert und ist somit auch die quantitative Bestimmung wohl häufiger geboten.

Weiter ist eine Verminderung vorhanden bei den mit Albuminurie einhergehenden Nierenerkrankungen, besonders bei der zu Hydrops und Ascites führenden und bei der Entstehung seröser Transsudate in der Körperhöhle, weil hier Kochsalz im Blute, in den Geweben und im Transsudate zurückgehalten wird, bei chronischen Consumptionskrankheiten mit darniederliegendem Stoffwechsel, dann auch bei großen Wasserverlusten des Körpers nach starkem Schweiß, nach heftigem Erbrechen bei Magenkrankheiten (ungenügende Absorptionsfähigkeit), bei vielen kachektischen Zuständen. Bei Skorbut kann auf dem Höhepunkte der Krankheit das Chlornatrium fast ganz verschwinden. Eine Vermehrung der Chloride findet sich bei der Aufsaugung größerer Exsudate, bei Rachitis, Prurigo, nach Chloroformnarkose und nach Einnehmen verschiedener Arzneien, so nach Digitalis, bei Pyrogallolvergiftung, bei Krankheiten, die Erythrocytenzerfall bedingen.

Bei chronischen Krankheiten ist die quantitative Bestimmung des Chlornatriums aus dem Grunde wichtig, weil sie Aufschluß über die Verdauungskräfte des Kranken gibt.

Sagt doch schon J. Fl. Heller 1847 „Die Bestimmung der Menge des Chlorkali im Harne ist für die Diagnose von größter Wichtigkeit, denn die quantitative Ausscheidung desselben mit dem Harne ist in manchen Krankheiten, besonders aber in gewissen Krankheitsstadien, eine so auffallend verschiedene, daß die genaue Kenntnis von diesen Erscheinungen für den praktischen Arzt wahrlich unentbehrlich ist.“ (E. Ebstein a. a. O.)

Qualitativer Nachweis.

Wird in einem Reagenzglase ein mit Salpetersäure angesäuerter Harn mit Silbernitrat (1:10) versetzt, so entsteht bei reichlichem Chlorgehalte ein käsiger, starker Niederschlag von Chlorsilber: bei geringen Chlormengen erhält man nur eine weiße Trübung.

Die Probe kann als Abschätzungsprobe des Gehaltes an Chlornatrium in Anwendung kommen; bei einiger Übung wird man die Menge ungefähr abschätzen lernen.

Eiweißhaltiger Harn ist vorher von dem Eiweiß zu befreien, auch dürfen Jod und Brom nicht vorhanden sein.

Mit Salpetersäure muß genügend angesäuert werden, sonst fallen die Phosphate aus.

Quantitative Bestimmung des Chlors.

Die Bestimmung des Chlorgehaltes, sei es auf gewichtsanalytischem oder auf titrimetrischem Wege, kann im Harne nicht direkt durch Ausfällen mit Silbernitratlösung vorgenommen werden, weil der Harn mehr oder weniger andere Stoffe enthält, die durch Silbernitrat ebenfalls gefällt werden (z. B. Harnsäure, Xanthinbasen, Farbstoffe usw.).

Die schnelle Bestimmung des Chlors im Harne direkt wird nach der von C. Arnold[1]) und E. Salkowski[2]) abgeänderten Methode von J. Volhard[3]) — F. A. Falck[4]) ausgeführt; in der Asche des Harnes kann die Titration auch nach der gewöhnlichen Mohrschen Methode vorgenommen werden.

1. Verfahren nach J. Volhard.

Prinzip der Methode.

Fließt in eine saure Silberlösung, die etwas Ferrisulfat enthält, eine Rhodanammoniumlösung, so wird Silber als käsiges Rhodanid gefällt.

$$AgNO_3 + NH_4CNS = AgCNS + NH_4NO_3.$$

Gleichzeitig tritt stets blutrote Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid ein.

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6\,NH_4CNS = 2\,Fe(CNS)_3 + 3\,(NH_4)_2SO_4.$$

Diese Rotfärbung verschwindet aber zunächst immer wieder, indem das Eisenrhodanid sich mit dem Silbersalz umsetzt:

$$2\,Fe(CNS)_3 + 6\,AgNO_3 = 2\,Fe(NO_3)_3 + 6\,AgCNS.$$

Die blutrote Färbung bleibt erst dann bestehen, wenn sämtliches Silber als Rhodanid gefällt ist.

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{10}$ n-Silberlösung. Man löst 16,99 g reinstes Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser und füllt genau bis zur Marke auf. (Man kann auch 10,788 g reines metallisches Silber in Salpetersäure von 1,2 spezif. Gew. lösen, die salpetrige Säure verjagen und nach dem Erkalten zum Liter verdünnen.)

2. Salpetersäure, die von Chlor und salpetriger Säure vollkommen frei sein muß.

3. Ferriammoniumsulfat, Eisenoxydammoniakalaun. Kalt gesättigte Lösung; zweckmäßig versetzt man die Lösung mit konz. Salpetersäure bis zum Verschwinden der Braunfärbung.

4. $^1/_{10}$ n-Rhodanammoniumlösung, die 7,612 Ammoniumrhodanid in L. enthält. Man löst aber, da das hygroskopische Salz nicht in dieser genauen Menge abgewogen werden kann, 8 g Rhodanammonium in einem Liter Wasser und ermittelt den wahren Gehalt dieser Lösung mit der $^1/_{10}$ Silberlösung wie folgt:

10 ccm der Silberlösung gibt man in ein Becherglas, fügt 5 ccm der Eisenalaunlösung und 50 ccm Wasser, dann so viel Salpetersäure hinzu, daß die Flüssigkeit farblos ist und läßt nun unter Umschütteln oder Umrühren die Rhodanlösung zufließen, bis bleibend schwach rötliche Färbung eintritt.

Gesetzt, man habe hiebei 9,8 ccm Rhodanlösung verbraucht, so hätte man 980 ccm der Lösung auf 1000 ccm zu verdünnen, um eine wirkliche $^1/_{10}$ Normallösung zu erhalten; mit dieser Lösung wiederholt man die Prüfung, es müssen dann für 10 ccm Silberlösung genau 10 ccm Rhodanlösung gebraucht werden. Übrigens ist es gar nicht nötig, daß die Rhodanlösung genau $^1/_{10}$-normal ist; man stellt den Wirkungswert mit der ganz genau stimmenden Silberlösung fest und bringt den Titer in Rechnung.

Ausführung der Bestimmung.

Von dem zu prüfenden Harne, der eiweißfrei (S. 36) und frei von salpetriger Säure sein muß (salpetrige Säure entfernt man durch Erwärmen des mit Salpetersäure angesäuerten Harnes), werden 10 ccm in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen abpipettiert und etwa 3—4 ccm einer 30%igen reinen chlor- und salpetrigesäurefreien Salpetersäure hinzugegeben. Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmäßig, 3—4 Tropfen einer konzentrierten Kaliumpermanganatlösung (1:30) zuzusetzen. Nach mehrmaligem Umschwenken ist die Farbe in weingelb übergegangen. Nun läßt man aus einer

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1881. **5.** 81; Pflügers Archiv 1885. **35.** 541; Annal. Chem. 1877. **190.** 1.

[2]) Ebenda. 1881. **5.** 290.

[3]) Journ. prakt. Chemie. 1874. [2] **9.** 217.

[4]) Berl. Bericht. 1875. **8.** 12

Bürette eine bestimmte Menge der Silberlösung im Überschusse (30 ccm) zufließen. Man füllt bis zur Marke (100 ccm) mit destilliertem Wasser auf, schüttelt kräftig um, filtriert und titriert in 50 ccm des Filtrates, die man abpipettiert hat, nach Zugabe von 2—4 ccm der Eisenalaunlösung das im Überschusse zugesetzte Silber zurück, bis die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit eine bleibende rötliche Farbe angenommen hat.

Die verbrauchten Kubikzentimeter Rhodanlösung mit 2 multipliziert werden von den zugegebenen Kubikzentimetern der Silberlösung (30 ccm) in Abzug gebracht; aus dem Reste wird der Gehalt an Chlor oder Chlornatrium berechnet.

1 ccm n/10 Silberlösung = 0,003545 g Chlor,
= 0,00585 g Chlornatrium,
= 0,00365 g Salzsäure (HCl).

Ist die Rhodanlösung nicht genau $^1/_{10}$-normal, so muß dies in Rechnung gezogen werden. Z. B. 10 ccm $^1/_{10}$ Silberlösung = 9,6 ccm Rhodanlösung.

Zum Zurücktitrieren in 50 ccm des Filtrates = 15 ccm Silberlösung enthaltend, sind verbraucht 6 ccm, für die 100 ccm also 12 ccm Rhodanlösung. Da nach dem Titer 9,6 ccm Rhodanlösung = 10 ccm Silberlösung entsprechen, so müssen statt der 12 ccm 12,5 ccm von den 30 ccm Silberlösung in Abzug gebracht werden, denn:

9,6 ccm Rhodanlösung : 10 ccm Silberlösung = 12,0 ccm : x.

$$x = 12{,}5.$$

30 ccm — 12,5 = 17,5 ccm verbraucht; $17{,}5 \cdot 0{,}00585 = 0{,}10237$ g Chlornatrium in 10 ccm Harn oder 1,0237 g in 100 ccm.

Man kann sich auch eine Silberlösung herstellen, von der 1 ccm 0,01 g Chlornatrium oder 0,006 g Cl anzeigt; man muß 29,042 g reines krystallisiertes Silbernitrat in 1 Liter Wasser lösen. Die zum Zurücktitrieren dienende Rhodanammoniumlösung muß 12,984 g Rhodanammonium enthalten; man wägt etwa 14 g des Salzes ab, löst es in 1 Liter Wasser und titriert 10 ccm Silberlösung in der angegebenen Weise mit der Rhodanammoniumlösung, die noch zu stark sein wird, und die man entsprechend verdünnt

W. M. Dehn[1]) behandelt 10 ccm Urin in einer Schale mit Natriumsuperoxyd; man gibt einen kleinen Löffel davon zum Harne, rührt gut um und verdampft auf dem Wasserbade. Man fügt zuerst etwa 10 ccm Wasser, darauf so lange verdünnte Salpetersäure hinzu, bis ein Stück Lackmuspapier deutlich saure Reaktion zeigt. Man titriert hierauf nach Volhard.

Ekehorn[2]), H. Strauss verwenden zur approximativen Bestimmung der Chloride die Volhardsche Methode unter Benutzung eines graduierten Chlorometer, bzw. Chloridometer genannten Rohres.

Da die gleichen Lösungen Verwendung finden müssen, wird man ebenso rasch die Volhardsche Methode ausführen.

K. O. Larssons Verfahren.[3]) Nach Mohr. 20 ccm Harn von saurer Reaktion — bei einem höheren spezifischen Gewichte als 1,025 ist der Harn mit Wasser zu verdünnen — werden mit einem guten Teelöffel voll Blutkohle (Mercks Präparat puriss. pr. analysi) versetzt und stark geschüttelt. Nach mindestens 5 Minuten langem Stehen wird durch ein trockenes Filter in ein trockenes Becherglas filtriert. 10 ccm des farblosen, wasserhellen Harnes werden mit 3—4 Tropfen gesättigter Kaliumchromatlösung versetzt und mit n/10 Silberlösung bis zur entstehenden schwachen, aber bleibenden Braunrotfärbung von Silberchromat titriert. Bei stark gefärbtem Harne muß, wenn das Filtrat nach der Behandlung mit Blutkohle noch eine gelbe Farbe zeigen sollte, die Behandlung mit Kohle wiederholt werden. Durch die Blutkohle sollen mit Silbernitrat reagierende Purinbasen usw. außer den Chloriden entfernt werden.

Ein besonderes Verfahren gibt E. Votoček[4]) an; er empfiehlt ebenfalls eine Chloridometer genannte Bürette.

Über die Bestimmung der Chloride im Harne berichtet auch F. Utz.[5])

---

[1]) Zeitschr physiol Chem. 1905. **44.** 11.
[2]) Archiv f. klin. Chirurg. 1906. **79.** Heft 1.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1913. **49.** 474.
[4]) Chem. Ztg. 1918. **42.** 317.
[5]) Pharm. Centrlh. 1922. **63.** 251.

2. Die Bestimmung des Chlorgehaltes in der Asche des mit Soda und Salpeter eingedampften Harnes.

a) nach der Mohrschen Methode.

Prinzip.

Diese Methode beruht darauf, daß in der neutralen Lösung eines chlorwasserstoffsauren Salzes durch Silber erst alles Chlorsilber ausgefällt wird; in dem Momente, wo dies geschehen, wird erst rotes neutrales chromsaures Silber ausgeschieden, erkenntlich an der roten Farbe.

Ausführung:

10 ccm Harn werden mit 1—2 g reinem chlorfreiem Natriumcarbonat und 1—2 g Natriumnitrat in einer Platinschale eingedampft und vorsichtig verascht. Man löst die Schmelze in Wasser, säuert mit Salpetersäure an, bis schwach saure Reaktion eingetreten ist und neutralisiert genau mit kohlensaurem Natron oder mit kohlensaurem Kalk.

Zur Flüssigkeit setzt man einige Tropfen einer Kaliumchromatlösung (10 g K_2CrO_4:100 ccm Wasser) und titriert mit der $^1/_{10}$ n-Silberlösung, bis eine rötliche Färbung entsteht, bis der Niederschlag eine rötliche Färbung (Stich ins Rote) erkennen läßt.

Maurice Bernard[1]) fällt nach dem Neutralisieren durch Barytmischung noch die Phosphorsäure und titriert dann erst.

1 ccm n/10 Silberlösung = 0,003545 g Chlor,
= 0,00585 g Chlornatrium.

b) Viel genauer, ja sogar vollkommen sicher ist die Bestimmung in der folgenden Weise.

Man säuert die gelöste Schmelze mit Salpetersäure an und titriert den Chlorgehalt nach der bei 1. angegebenen Methode nach Volhard.

c) Endlich kann die Chlorbestimmung in der mit Wasser aufgenommenen und mit Salpetersäure angesäuerten Schmelze gewichtsanalytisch ausgeführt werden.

Man fällt das Chlor aus der Lösung durch Zusatz von salpetersaurem Silber (5%ige Lösung) im Überschusse vollständig aus und erwärmt nun erst gelinde unter häufigem Bewegen der Flüssigkeit, um ein Zusammenballen des Chlorsilbers zu bewirken. Man läßt etwas stehen (an einem dunklen Orte) und sammelt den Niederschlag am besten in dem Goochschen Tiegel. Man trocknet bei 110° und wägt. Oder man filtriert das Chlorsilber durch ein Filter, wäscht mit salpetersäurehaltigem Wasser nach, trocknet das Filter und bringt den Niederschlag vom Filter möglichst vollständig in einen Porzellantiegel, dazu auch die Filterasche. Man dampft den Inhalt des Tiegels mit einigen Tropfen Salpetersäure und einem Tropfen Salzsäure ein, glüht den Tiegel bis zum Schmelzen des Chlorsilbers und wägt.

Gef. $AgCl \cdot 0{,}24726 = Cl$.

Eiweißhaltiger Harn wird am besten in der angegebenen Weise verascht und in der Asche die Chlorbestimmung vorgenommen.

Sind Jodide oder Bromide vorhanden, so verfährt man nach der nachfolgend mitgeteilten Methode.

[1]) Pharm. Ztg. 1902. 47. 656.

3. E. Riegler[1]) empfiehlt ein Verfahren, das auf der Umsetzung von Chloriden mit Hydrazinsulfat beruht, wodei Stickstoff frei und im Azotometer gemessen wird.

Nachweis und quantitative Bestimmung von Chlor neben Jod und Brom.

Am zweckmäßigsten und am sichersten ist es, wenn man den Harn verascht und die Asche verwendet, da bei geringem Gehalte an Jod und Brom die gewöhnlichen Methoden zum Nachweise (siehe zufällige Bestandteile) versagen können, wenn man den Harn direkt verwendet.

Man verascht den Harn — gegebenenfalls größere Mengen — in der oben angegebenen Weise. Zu bemerken ist, daß stärkeres längeres Glühen zu vermeiden ist. Zu der wässerigen, in einem Scheidetrichter befindlichen filtrierten Lösung der Schmelze fügt man, wenn die Schmelze unter Verwendung von Salpeter hergestellt wurde, vorsichtig verdünnte Schwefelsäure, außerdem eine konzentrierte Lösung von salpetrigsaurem Kali oder eine Auflösung von salpetriger Säure in Schwefelsäure, säuert bei Anwendung von salpetrigsaurem Kali mit chlorfreier verdünnter Schwefelsäure stark an und schüttelt das freigewordene Jod mit 10—20 ccm rektifiziertem Schwefelkohlenstoff[2]) aus. Den gefärbten Schwefelkohlenstoff läßt man in einen Erlenmeyerkolben abfließen und behandelt den Inhalt im Scheidetrichter wiederholt mit Schwefelkohlenstoff, bis dieser nicht mehr rot gefärbt wird.

Man gibt auch diese Schwefelkohlenstoffmengen zu der ersten.

Der violett gefärbte Schwefelkohlenstoff wird mit Wasser durch kräftiges Schütteln gewaschen und das Wasser vorsichtig durch ein kleines angenäßtes Filter abfiltriert; allenfalls auf das Filter gelangte Schwefelkohlenstofftröpfchen spült man in den Erlenmeyerkolben zurück, gibt 25 ccm einer 0,5%igen Lösung von sodafreiem Natriumbicarbonat hinzu und titriert nach dem Umschütteln das Jod mit unterschwefligsaurem Natrium (man verwendet, wenn es sich um nur geringe Jodmengen handelt, zweckmäßig $^1/_{100}$ n-Thiosulfatlösung) bis zur Entfärbung des Schwefelkohlenstoffes.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{100} \text{ n-Thiosulfatlösung} = 0{,}0012692 \text{ g Jod.}$$

Die erhaltene Färbung des Schwefelkohlenstoffes oder Chloroforms kann auch mit einer solchen von bekanntem Jodgehalte verglichen werden und so eine annähernde Bestimmung erfolgen.

Aus der vom jodhaltigen Schwefelkohlenstoff getrennten Flüssigkeit, einschließlich des Waschwassers vom Schwefelkohlenstoff — gegebenenfalls verwendet man einen abgemessenen Teil der zu einem bestimmten Volumen aufgefüllten Flüssigkeit — fällt man vorhandenes Brom und Chlor in Form ihrer Silberverbindung und bestimmt Silberchlorid und -bromid gewichtsanalytisch in der S. 82 angegebenen Weise.

Um Brom **neben** Chlor zu bestimmen, glüht man einen genau abgewogenen Teil von diesem geglühten Chlor- und Bromsilber in einem Kugelrohre gelinde im Chlorstrome und bestimmt das Brom durch die Gewichtsabnahme; aus

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1901. **40.** 633.
[2]) Statt Schwefelkohlenstoff kann auch Chloroform verwendet werden.

der auf die ganze Menge Silberchlorid und -bromid umgerechneten Differenz ergibt sich nach folgender Gleichung das vorhandene Brom:

$$\frac{AgBr}{AgBr - AgCl} = \frac{187{,}89}{187{,}89 - 143{,}38} = 4{,}22.$$

Der Gewichtsverlust mit 4,22 multipliziert = dem durch Chlor zersetzten AgBr.

Zur quantitativen Jodbestimmung kann man auch nach M. Nencki u. Schoumow-Simanowsky[1]) verfahren, wobei nur das Jod zur Abscheidung gelangt. Man verascht 10 ccm Harn oder mehr, je nach dem vermuteten Gehalte nach Zusatz von 1 g Natriumcarbonat wie angegeben. Die in Wasser gelöste Asche wird mit Essigsäure angesäuert und die Flüssigkeit eine Stunde lang mit einer Lösung von Wasserstoffsuperoxyd behandelt, wodureh das Jod quantitativ frei gemacht wird, das man mit Chloroform auszieht. Die Chloroformlösung wird mit Wasser bis zum vollständigen Entfernen des Superoxydes gewaschen und das Jod titrimetrisch mit $n/_{10}$ oder besser $n/_{100}$ Thiosulfatlösung wie angegeben bestimmt.

Einfach und genau gestaltet sich die Jodbestimmung in jodhaltigem Harne nach dem colorimetrischen Verfahren von W. Autenrieth[2]); die Färbung der jodhaltigen Chloroformlösung wird mit einer solchen von bestimmtem Jodgehalte im Colorimeter nach Autenrieth-Koenigsberger verglichen und der Jodgehalt berechnet.

Zum Nachweis von Bromverbindungen **neben** solchen des Jods entfernt man erst letzteres, wie eben erörtert, gibt zu der vom Jod befreiten Flüssigkeit vorsichtig Chlorwasser und Schwefelkohlenstoff und schüttelt am besten in einem Scheidetrichter gut um. Der Schwefelkohlenstoff färbt sich, wenn Brom vorhanden ist, gelb.

Zur quantitativen Brombestimmung kann man die wässerige Lösung der Asche in einem Kolben mit Chromsäure behandeln, das Brom in eine Vorlage mit einer verdünnten Jodkaliumlösung überdestillieren oder durch Durchleiten von Kohlensäure das Brom in die Vorlage übertreiben und das ausgeschiedene, der vorhandenen Brommenge entsprechende Jod bestimmen. 1 ccm $n/_{10}$ Thiosulfatlösung = 0,007996 g Brom. Auch zum Bromnachweis wird von W. Autenrieth[3]) ein kolorimetrisches Verfahren mit dem Autenriethschen Colorimeter empfohlen.

Das Veraschen des Harnes erfolgt mit einer kleinen Menge Soda und Salpeter. Die weiße Schmelze wird mit verdünnter Schwefelsäure aufgenommen, so daß neutrale Reaktion vorhanden ist. Die gelöste Schmelze bringt man mit 10—20 ccm Kaliumbisulfatlösung in einen Scheidetrichter, fügt 20 ccm Chloroform und tropfenweise 3%ige Kaliumpermanganatlösung dazu, bis diese nicht mehr entfärbt wird, und schließlich noch 15—20 Tropfen davon. Nun schüttelt man die Mischung durch, trennt die Bromchloroformlösung, schüttelt den Inhalt des Scheidetrichters noch einigemale mit Chloroform und ermittelt die Farbstärke der auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Bromchloroformlösung unter Zuhilfenahme einer Vergleichslösung von bekanntem Gehalte.

6. Fluorwasserstoff. HFl.

Ist im Harne nur in Spuren vorhanden. Er wurde zuerst von Berzelius im Harne nachgewiesen.

7. Schwefel. Schwefelsäure. S. H_2SO_4 (SO_3 Anhydrid).

Im Harne kommt der Schwefel in zwei Hauptgruppen vor, als vollkommen oxydierter saurer Schwefel in der Schwefelsäure und als unvollkommen oxydierter oder neutraler Schwefel.

[1]) Archiv exp. Patholog. 1894. **34.** 319.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 2737. Dem von der Firma F. Hellig & Co. in Freiburg i. Br. zu beziehenden Colorimeter ist die Anweisung zur Ausführung der Bestimmung beigegeben.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1918. **65.** 750.

Zu der letzten Gruppe gehören die unterschweflige Säure, die Rhodanwasserstoffsäure, der Gallenschwefel (Abkömmlinge des Taurins und Cystins), die Chondroitinschwefelsäure, die Oxyproteinsäuren, Uroferrinsäure. Diese lassen sich sämtlich — die beiden ersten schon durch einfache Oxydation mit Chlor oder Brom — beim Schmelzen mit Soda und Salpeter in die Sulfate umwandeln. Die Menge des unoxydierten Schwefels ist immerhin eine nicht gerade geringe, es treffen von der Gesamtmenge des Schwefels etwa 15%, nach anderen Angaben 20—24% auf diese Gruppe. M. Weiß[1]) fand als mittlere tägliche Ausscheidung des Neutralschwefels bei Erwachsenen etwa 16,5% des Gesamtschwefels. Anderweitig wird das Verhältnis vom Gesamtschwefel zum neutralen Schwefel zu 4,0 bis 7,0:1 angegeben (Brugsch-Schittenhelm). Durch Behinderung des Gallenabflusses bei Carcinom, bei Gallensteinkolik, bei chronischem Ikterus kann die Menge des neutralen Schwefels etwas vermehrt werden. Nach den Untersuchungsergebnissen von Weiß[1]) wird bei Zuständen, die mit vermehrtem Eiweißzerfalle einhergehen, der Neutralschwefel relativ vermehrt ausgeschieden; beim Carcinom wurden die höchsten relativen Neutralschwefelwerte beobachtet; die Lungentuberkulose geht mit der Erhöhung der absoluten und relativen Neutralschwefelwerte einher; diese Ausscheidung hier zeigt deutliche Beziehungen zur Ehrlichschen Diazoreaktion. Der Neutralschwefel kann als ein Maß für die Ausscheidung der Proteinsäuren im Harne angesehen werden.

Die Schwefelsäure kommt im Harne in zwei verschiedenen Formen und Verbindungen vor, nämlich in Form der schwefelsauren Salze (Sulfatschwefelsäure, präformierte Schwefelsäure) und in Verbindung mit aromatischen Alkoholen, wie Phenol, Kresol, Indoxyl, Brenzkatechin, als Ätherschwefelsäure (gebundene, gepaarte, abspaltbare Schwefelsäure.) Die Gesamtmenge der Schwefelsäure beträgt in der 24stündigen Harnmenge des Erwachsenen 1,5—3 g SO_3 und steigt und fällt mit der Menge der im Körper umgesetzten Eiweißsubstanz. Das Verhältnis der präformierten Schwefelsäure zu der in Gestalt der Ätherschwefelsäuren vorhandenen ist im normalen Harne durchschnittlich 10:1 (Baumann-Morax-Koeffizient), nach Brugsch-Schittenhelm etwa 12,0 bis 15,0:1, ist demnach großen Schwankungen unterworfen.

Die im Harne vorkommende präformierte Schwefelsäure, mit Ausnahme der mit der Nahrung in Form von Salzen eingeführten, ist ein Produkt des Eiweißzerfalls und bildet sich durch Oxydation der schwefelhaltigen Proteinsubstanzen. Sie gewährt aber nur bei gleichzeitiger Berücksichtigung der Harnstoffausscheidung ein Bild dieses Zerfalls, da die Schwefelsäuremenge mit der Stickstoffausscheidung in einem sich ziemlich gleichbleibenden Verhältnis steht ($N:H_2SO_4 = 5:1$ oder Harnstoff:H_2SO_4 = 10,7:1); N:S = etwa 14,0—16,0:1.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. 27. 203.

Wieviel von der vorhandenen Schwefelsäure im Organismus an die aromatischen Paarlinge gebunden ist, hängt von den die abnormale und normale Bildung dieser letzteren beeinflussenden Momenten ab.

Die Größe der Ausscheidung der Sulfate sinkt bei geringerer Nahrungszufuhr.

Vermindert sind in pathologischen Zuständen die Sulfate nach fieberhaften Krankheiten in der Rekonvaleszenz, bei Gelbsucht (hier Ausscheidung von verhältnismäßig viel sogenanntem neutralem oder Gallenschwefel), bei Hautkrankheiten, Anämie; eine vermehrte Ausscheidung findet man beim Fieber, bei Rheumatismus.

Die gepaarten Schwefelsäuren, die Ätherschwefelsäuren, werden vermehrt durch Einführung von Phenol, Kresol, Resorcin, nach Phosphorvergiftungen usw., außerdem bei vermehrter Eiweißfäulnis im Darme — chronischer Darmkatarrh bedingt eine Vermehrung, akuter aber eine Verminderung der Ätherschwefelsäureausscheidung —, bei eiterigen Abszessen, so daß ein ganz anderes Verhältnis zur präformierten, lediglich von der umgesetzten Eiweißsubstanz gebildeten Schwefelsäure eintreten kann. Es läßt sich deshalb die Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure im Harne insofern diagnostisch verwerten, als wir einen Einblick in die Intensität der Bakterienfäulnis im Darme gewinnen können (v. Bunge); doch kommt hiebei nur die relative Menge der Ätherschwefelsäure, weniger das Verhältnis dieser zur präformierten Schwefelsäure in Betracht, da dieses Verhältnis auch im normalen Harne in weiten Grenzen schwanken kann.

Eine Verminderung der Ätherschwefelsäure ergibt sich durch alles, was die Eiweißfäulnis im Darme herabdrückt; in diesem Sinne wirken Kohlenhydrate und einseitige Milchnahrung.

Die Menge der Ätherschwefelsäure gibt ein sichereres Maß für die Ausscheidung von aromatischen Substanzen, als die der Glykuronsäure. Doch ist nach F. Blumenthal (a. a. O.) auch der Ermittelung der Ätherschwefelsäure nicht die Bedeutung beizumessen, die man ihr früher zuerkannte; man hat sie zum Teil verlassen, da man in ihr weder die Summe aller aromatischen Körper, noch einen bestimmten aromatischen Körper bestimmen kann, sondern nur den Anteil, der sich mit der Schwefelsäure gebunden hat; man weiß auch gar nicht, warum bald größere, bald kleinere Mengen der aromatischen Körper sich mit Schwefelsäure binden und warum umgekehrt so häufig die Bindung an Glykuronsäure prävaliert.

Nach Blumenthal ist es weit wertvoller und richtiger, wenn man einigermaßen die schädliche bakterielle Zersetzung der Eiweißkörper im Darme durch die Fäulniserreger beurteilen will, eine quantitative Indican- und Phenolbestimmung vorzunehmen, da diesen beiden Produkten ein giftiger Einfluß auf den Gesamtorganismus zugeschrieben werden darf. (Siehe Phenole.)

Qualitativer Nachweis der Schwefelsäure.

1. Chlorbarium verursacht in dem mit Salzsäure angesäuerten Harne eine weiße Fällung von Bariumsulfat.

2. Benzidinchlorhydrat fällt Schwefelsäure und schwefelsaure Salze. Diese Reaktion ist auch zur quantitativen Bestimmung (Titration) empfohlen worden. (W. Müller.[1]) F. Raschig.)[2]) Die in einem Benzidinsalz gebundene Säure läßt sich scharf titrieren (Phenolphthalein), da die Salze der schwachen Base Benzidin weitgehend hydrolytisch gespalten sind.

Qualitativer Nachweis der Ätherschwefelsäure. Siehe quantitative Bestimmung S. 88.

Qualitativer Nachweis des neutralen Schwefels.

Man bringt in ein Kölbchen einige Stückchen Zink (reines, das durch Säure etwas angeätzt ist), ungefähr 50 ccm Harn und so viel Salzsäure, daß eine Wasserstoffentwicklung eintritt. In die Öffnung des Kölbchens bringt man einen Kork mit einem eingeklemmten, mit Bleiessig getränkten Filtrierpapierstreifen. Nach einiger Zeit tritt Schwärzung des Papieres durch Bildung von Bleisulfid aus dem entwickelten Schwefelwasserstoff auf.

Quantitative Bestimmung.

Man hat zu unterscheiden zwischen einer Bestimmung des vollkommen oxydierten, in Form von schwefelsauren Verbindungen vorhandenen Schwefels und zwischen einer solchen des gesamten und indirekt des neutralen Schwefels.

Bei der Analyse der Sulfate muß wieder die in zwei Formen im Harne erscheinende Schwefelsäure berücksichtigt werden, erstens die in Form der schwefelsauren Salze vorhandene und zweitens die in Gestalt der Ätherschwefelsäure vorkommende Schwefelsäure, die gepaarte Schwefelsäure.

I. Bestimmung der Sulfate.

1. Gewichtsanalytische Bestimmung.

Früher hat man nach der Methode von E. Baumann[3]) die Bestimmung und die Trennung der beiden Schwefelsäuren vorgenommen; das Verfahren beruhte darauf, daß die in Form der schwefelsauren Salze vorhandene Schwefelsäure durch Chlorbarium nach dem Ansäuern mit Essigsäure in mäßiger Wärme gefällt wurde; das Bariumsulfat wurde abfiltriert. Die in Gestalt der Ätherschwefelsäure vorhandene Schwefelsäure (gepaarte Schwefelsäure), bei der Bestimmung im Filtrate vorhanden, wurde aber erst nach dem Kochen mit Mineralsäuren (10%iger Salzsäure) während einer Viertelstunde abgespalten und nun auch durch Bariumchlorid ausgefällt. Diese Methode hat aber ihre großen Schattenseiten insofern, als sich der schwefelsaure Baryt, aus der essigsauren Lösung abgeschieden, oft recht schwer filtrieren läßt; auch ist das Bariumsulfat hier stets mit Bariumphosphat verunreinigt und müßte erst mit Salzsäure gereinigt werden. Ich empfehle deshalb, die Bestimmung nach folgender Methode (Salkowski) auszuführen, deren Genauigkeit auch wieder A. Desmoulière nachgewiesen hat.

a) Bestimmung der Sulfate, der Gesamtschwefelsäure.

50—100 ccm klaren oder vorher filtrierten Harnes werden in einem Becherglase mit mindestens dem doppelten Volumen Wasser verdünnt, mit 5—10 ccm Salzsäure (1,12 spez. Gew.) versetzt, zum Kochen erhitzt und etwa 10—15 Minuten im schwachen Kochen erhalten, um auch die gepaarten Schwefelsäuren zu spalten. Man gibt dann vorher erhitzte Bariumchloridlösung (10%ige) tropfenweise in geringem Überschusse hinzu und läßt das

[1]) Berl. Bericht. 1902. **35.** 1587.
[2]) Zeitschr. angew. Chem. 1903. **16.** 617.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1877/78. **1.** 70.

Becherglas noch einige Stunden auf einem warmen Sandbade oder in einem warmen Wasserbade und endlich am zweckmäßigten in der Kälte über Nacht stehen. Die Flüssigkeit wird, ohne daß der abgesetzte Niederschlag aufgerührt wird, durch ein aschefreies gehärtetes Filter abfiltriert, der noch zurückgelassene Niederschlag mit heißem Wasser gewaschen, wieder absitzen gelassen, die Flüssigkeit abfiltriert und endlich der Niederschlag selbst aufs Filter gebracht und chlorfrei gewaschen. Selbstverständlich muß das Filtrat klar sein, trübes müßte aufs Filter zurückgebracht werden. (Das Filtrat prüft man der Vorsicht wegen durch Zusatz von Schwefelsäure, ob genügend Chlorbarium zugesetzt war.) Der Filterrückstand wird zur Entfernung harzartiger, überhaupt organischer Substanzen mit warmem Alkohol und mit Äther gewaschen und dann in der bekannten Weise im Platintiegel verascht, geglüht und schließlich gewogen.

Da das ausgefällte Bariumsulfat durch organische Substanzen verunreinigt sein kann, so kann beim Veraschen des Filters der an diesem noch in geringen Mengen haftende schwefelsaure Baryt reduziert worden sein; man dampft deshalb das in den Platintiegel gebrachte Bariumsulfat mit etwas Schwefelsäure ein, erhitzt erst langsam und vorsichtig und glüht schließlich.

$$\text{Gef. } BaSO_4 \cdot 0{,}3429 = SO_3.$$

Von R. v. Lengyel[1]) wurde auch die Anwendung des R. Silberbergschen Verfahrens empfohlen. Dieses beruht auf der Bestimmung der Sulfate mit alkoholischer gesättigter Strontiumchloridlösung. Das Verfahren ist viel umständlicher und wohl auch nicht genauer.

b) Bestimmung der Ätherschwefelsäuren.

125 ccm Harn werden mit 125 ccm einer Mischung aus 2 Teilen gesättigter Barythydratlösung (Barytwasser) und 1 Teil gesättigter Chlorbariumlösung versetzt; man schüttelt um und filtriert nach einigen Minuten durch ein trockenes Filter. Vom klaren Filtrate, das nur die in Form der ätherschwefelsauren Salze vorhandene Schwefelsäure enthält — die Sulfate wurden durch die Barytmischung entfernt —, werden 200 ccm = 100 ccm ursprünglichen Harns mit Salzsäure schwach angesäuert und noch 20 ccm Salzsäure hinzugesetzt; der nach $^1/_4$stündigem Kochen der Flüssigkeit ausgeschiedene schwefelsaure Baryt wird in der angegebenen Weise auf einem Filter gesammelt, geglüht und gewogen.

Die gefundene Schwefelsäure entspricht der in Form von Ätherschwefelsäure (gepaarter Schwefelsäure) vorhandenen.

Die Differenz zwischen dieser Schwefelsäure und zwischen der Gesamtschwefelsäure entspricht der Schwefelsäuremenge, die in Form von Sulfaten (präformierter Schwefelsäure) vorhanden ist.

2. Bestimmung der Sulfat- und Gesamtschwefelsäure durch Titrieren.

Erforderliche Lösung.

Zur Bereitung der Benzidinlösung werden 4 g Benzidin Kahlbaum oder Merck mit etwa 10 ccm Wasser zu Brei verrieben, mit ungefähr 500 ccm Wasser in einen 2 Liter Meßkolben gespült und mit 5 ccm 37%iger Salzsäure versetzt. Man schüttelt um und füllt nach vollständiger Lösung mit Wasser bis zur Marke auf. 150 ccm genügen zur quantitativen Fällung von 0,1 g Schwefelsäure.

[1]) Archiv Physiol. 1904. **104.** 514.

a) Zur Ausführung der Bestimmung der Sulfatschwefelsäure werden 25 ccm filtrierter Harn in einem Becherglase tropfenweise mit 25%iger Salzsäure versetzt, bis Kongopapier deutlich blau gefärbt wird; es genügen etwa 1—2 ccm. Dann gibt man 100 ccm der Benzidinlösung hinzu, schüttelt um und läßt das Gemisch einige Minuten stehen. Die Flüssigkeit filtriert man durch ein kleines Filter ab. Den weißen, seidenglänzenden, kristallinischen Niederschlag, den man gar nicht ganz auf das Filterchen zu bringen braucht, wäscht man im Becherglase und auf dem Filter mehrmals mit je 10 ccm mit Benzidinsulfat gesättigtem Wasser aus, bis Kongopapier von dem Filtrate nicht mehr verändert wird; Filter mit Niederschlag bringt man zu dem noch im Becherglase befindlichen Niederschlage zurück, setzt 20—30 ccm Wasser hinzu und erhitzt die Flüssigkeit zum Kochen. Nach Zugeben von etwa $^1/_2$—1 ccm Phenolphthaleinlösung titriert man mit $n/_{10}$ Kali- oder Natronlauge bis zur bleibenden Rotfärbung, wobei man mit einem Glasstabe zur Zerteilung des Filters tüchtig umrührt.

$$1 \text{ ccm } n/_{10} \text{ Lauge} = 0{,}049 \text{ g } H_2SO_4 .$$

Man kann das Benzidinsulfat auch auf einem Saugfilter oder im Goochschen Tiegel sammeln usw.

b) Die gesamte Schwefelsäuremenge bestimmt man nach dem Benzidinverfahren dadurch, daß man zuerst die Ätherschwefelsäure durch 15 Minuten langes Kochen mit Salzsäure (25 ccm Harn und 20 ccm 25%iger Salzsäure) spaltet. Nach der Hydrolyse muß man die Salzsäure erst größtenteils neutralisieren, bevor man die Benzidinlösung zugibt. Gesamtschwefelsäure — Sulfatschwefelsäure = Ätherschwefelsäure.

Wahl der Methode.

Die beiden Verfahren geben brauchbare Werte.

II. Die Bestimmung des gesamten und indirekt des neutralen Schwefels.

Diese Bestimmung führt man am besten in der folgenden Weise aus:

50 ccm Harn (von Cystin enthaltendem Harne nur 25 ccm) werden mit 10—20 g einer Mischung aus Natriumnitrat und Soda (4:1), die natürlich ganz frei von Sulfaten sein müssen, in einer Platinschale eingedampft und verascht. Die vollkommen weiße Asche wird in heißem Wasser gelöst, die Lösung in eine Porzellanschale gebracht und mit Salzsäure eingedampft. Dieses Abdampfen des Rückstandes mit konzentrierter ganz reiner Salzsäure wiederholt man noch einige Male, um alle Salpetersäure zu entfernen und nimmt schließlich den Rückstand mit Wasser auf. Man filtriert von der ausgeschiedenen Kieselsäure ab, wäscht das Filter gut aus, erhitzt das Filtrat und fällt mit heißer Bariumchloridlösung usw., wie oben eingehend geschildert wurde. (Salkowski.)

Zieht man die nach I 1a oder 2b bestimmte Menge der Gesamtschwefelsäure von der in der Schmelze gefundenen Schwefelsäure ab, so ergibt sich als Rest die Menge Schwefelsäure, die aus den anderen schwefelhaltigen Substanzen des Harnes gebildet worden ist.

Die Salzsäure muß ganz frei von Schwefelsäure sein, am besten destilliert man sie nochmals (Salkowski).

Man kann den neutralen Schwefel auch im Filtrate von der Bestimmung der Gesamtschwefelsäure bestimmen. Man dampft dieses nach dem Alkalischmachen mit Soda ein, verascht mit Soda und Salpeter und verfährt, wie angegeben. Die gefundene Schwefelsäure entspricht direkt dem in den oben erwähnten schwefelhaltigen Verbindungen vorhandenen Schwefel.

Die Oxydation des Harnes kann auch durch konzentrierte Salpetersäure erfolgen. 10 ccm Harn werden in einer Porzellanschale eingedampft und nach dem Erkalten vorsichtig nach und nach mit 10—14 ccm konzentrierter Salpetersäure versetzt; nach einstündigem Stehen der Lösung verjagt man die Salpetersäure auf dem Wasserbade. Man muß ebenfalls einige Male mit konzentrierter Salzsäure abrauchen, um alle Salpetersäure entfernt zu haben. Die weitere Bestimmung geschieht wie geschildert. (Methode nach Mohr.[1])

[1]) Zeitschr. physiol. Chem 1895. **20.** 556.

O. Folin[1]), G. Modrakowski[2]), E. Abderhalden und C. Funk[3]), M. Weiß[4]) empfehlen zur Oxydation Natriumsuperoxyd, das zuerst von H. Pringsheim für die Halogenbestimmung verwendet wurde.

Nach Folin verfährt man in folgender Weise. In einem großen Nickeltiegel werden 25 ccm Harn — von sehr verdünntem Harne 50 ccm — mit 3 g Natriumperoxyd bis zur Sirupkonsistenz eingedampft und vorsichtig zur Trockne gebracht. Der erkaltete Rückstand wird mit 1—2 ccm Wasser befeuchtet, mit 7 g Natriumperoxyd gemischt und etwa 10 Minuten bis zum vollständigen Schmelzen erhitzt. Nach dem Erkalten kocht man das Gemisch wenigstens $^1/_2$ Stunde mit 100 ccm Wasser, um unverändert gebliebenes Peroxyd zu zersetzen, spült die Lösung in einen Erlenmeyerkolben, verdünnt auf 250 ccm, setzt zu der fast kochenden Lösung langsam konzentrierte Salzsäure (auf 8 g Peroxyd 18 g Säure), filtriert, bringt zum Filtrate 5 ccm verdünnten Alkohol, kocht noch einige Minuten lang und fügt dann 10 ccm 10%iger Bariumchloridlösung tropfenweise hinzu. Nach zweitägigem Stehenlassen in der Kälte wird das Bariumsulfat wie üblich zur Wägung gebracht. Es muß genügend Peroxyd genommen werden; die Schmelze darf z. B. beim Ansäuern mit Salzsäure keinen Schwefelwasserstoff entwickeln. St. R. Benedict[5]) verwendet zur Oxydation Cuprinitrat.

H. Salomon u. P. Saxl[6]) erwähnen und beschreiben eine sog. Schwefelreaktion im Harne Krebskranker, die nach ihrer Ansicht auf einen dem Neutralschwefel angehörigen Harnbestandteil zurückzuführen wäre, dessen Schwefel durch gelinde Oxydation mit Perhydrol abspaltbar ist und als Bariumsulfat nachgewiesen wird; dieser Körper oder sein Schwefel soll sich in erheblicherer Menge nur bei Krebskranken finden. 150 ccm Harn werden mit 100 ccm Wasser verdünnt — eiweißhaltiger Harn wird in entsprechender Weise vom Eiweiß befreit — und mit der Salkowskischen Barytmischung ausgefällt und filtriert; zur Abscheidung der Ätherschwefelsäure wird nach Zusatz von Salzsäure 1 Stunde lang gekocht.

Das Filtrat von dem Niederschlage versetzt man mit 3 ccm Perhydrol und kocht $^1/_2$—4 Stunden lang; man sieht dann in einem Spitzglase sich einen Niederschlag absetzen, der in erheblicher Menge nur im Harne Krebskranker, in Spuren im normalen Harne vorkommen soll.

Nach R. Kaldeck[7]) ist die Reaktion nicht spezifisch für Karzinom.

8. Unterschweflige Säure. Thioschwefelsäure. $H_2S_2O_3$.

Diese ist einmal im Menschenharne bei Typhus von v. Strümpell und in einem Falle bei Cystinurie von A. Spiegel angetroffen worden. Im Harne der Katzen und Hunde ist sie konstant enthalten.

Jedenfalls wird sie bei den Reduktionsvorgängen im Darme gebildet und steht ihr Vorkommen zum Cystin in Beziehung.

Qualitativer Nachweis.

1. Bei Zusatz von Silbernitrat zum Harne entsteht ein weißer Niederschlag, der beim Erwärmen sofort schwarz wird (Schwefelsilber).
2. Nach Zusatz von starker Salzsäure trübt sich der Harn nach einiger Zeit milchig vom ausgeschiedenen Schwefel.
3. Nach E. Salkowski[8]) wird Harn mit 0,1 Volumen Salzsäure (1,12 spezifisches Gewicht) destilliert; es tritt beim Vorhandensein dieser Säure der frei gewordene Schwefel in Form eines fingerbreiten Beschlages — bei Spuren nur als ein bläulichweißer Hauch — am oberen Teile des Kühlrohres auf. Im Destillate ist schweflige Säure, die man in verdünnter Jodlösung (Jod in Jodkalium) auffangen und zu Schwefelsäure oxydieren kann, vorhanden.

---

[1]) Journ. of Biolog. chem. 1906. **1.** 131; Zeitschr. analyt. Chem. 1907. **46.** 269.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **38.** 562.
[3]) Ebenda 1909. **58.** 331; **59.** 121.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1910. **27.** 175.
[5]) Journ. of Biolog. chem. 1909. **6.** 363.
[6]) Wien. klin. Wochenschr. 1911. **24.** 449; Berl. klin. Wochenschr. 1912. **38.** 53.
[7]) Wien. med. Wochenschr. 1911. **61.** 1681.
[8]) Archiv Physiol. 1886. **39.** 213. 221.

Erhitzt man nach Zusatz von etwas Salzsäure das Destillat zur Verflüchtigung des Jods und gibt Bariumchlorid zu, so entsteht eine Fällung von Bariumsulfat.

9. Rhodanwasserstoff, Sulfocyanwasserstoff. CN · SH.

Zu den im Harne auftretenden Schwefelverbindungen gehört auch die Rhodanwasserstoffsäure, die aus den Speicheldrüsen stammt und im Speichel vorkommt. Im Liter Harn sind nach R. Gscheidlen und J. Munk 0,035 bis 0,11 g, nach anderer Mitteilung 3—35 mg Sulfocyankalium vorhanden. Tabakrauchen, körperliche Bewegung und Fieber sollen den Rhodangehalt steigern.

Nach P. Saxl[1]) soll die Rhodanausfuhr im Harne Krebskranker vermehrt sein; auch eine vermehrte Ausscheidung von Ammoniak, Neutralschwefel und von Oxyproteinsäuren wäre zu beobachten; die gleichen Erscheinungen fanden sich nach Saxl nach der Verfütterung kleiner Rhodanmengen an gesunde Menschen. Die täglich im Harne Krebskranker ausgeschiedenen Rhodanmengen betrugen häufig 150—200 mg, bei anderen Kranken in der Regel 30—100 mg, selten 150 mg.

Die Muttersubstanz des Rhodans ist unbekannt, vielleicht ist sie in den Aminosäuren zu suchen. Nach dem Einnehmen soll Rhodan ziemlich vollständig ausgeschieden werden; nach anderer Ansicht ist dies nicht der Fall.

Nachweis.

1. Nach J. Munk[2]) wird der mit Salpetersäure angesäuerte Harn — 200 ccm — mit salpetersaurem Silber ausgefällt; der abfiltrierte, aus Chlorsilber und Rhodansilber bestehende Niederschlag wird in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das vom Schwefelsilber getrennte Filtrat destilliert.

   Das Destillat versetzt man mit einer eisenoxydhaltigen Eisenvitriollösung, macht mit Kalilauge alkalisch und säuert mit Salzsäure an; beim Erwärmen bildet sich Berlinerblau, wenn Rhodan im Harne vorhanden war.
2. Mit Zink und Salzsäure liefert der Rhodanwasserstoff Schwefelwasserstoff.
3. Beim Versetzen eines Rhodansalzes mit Eisenchlorid entsteht eine blutrote Farbe, die auf Zusatz von Salzsäure nicht verschwindet, auch geben die Lösungen des Rhodaneisens beim Kochen keinen Niederschlag von basischem Salz (Unterschied von essigsaurem und ameisensaurem Eisenoxyd). Die Färbung beruht nach G. Krüss und von H. Moraht auf der Bildung eines Doppelsalzes, nach N. Tarugi einer Peroxysulfocyansäure.
4. O. Adler[3]) beobachtete im Harne nach Vergiftung mit Rhodanammonium starke Tollenssche Naphthoresorcinprobe; Rhodan war 12 Tage lang mit Sicherheit nachzuweisen (Probe mit Eisenchlorid). Weiter beobachtete Adler bei der Legalschen Probe (auf Aceton), daß nach Zusatz von Essigsäure an Stelle der raschen Vergilbung des roten Farbtones allmählich eine intensive Blaufärbung auftrat, die an die von Thormählen[4]) an-

[1]) Biochem. Zeitschr. 1913. **55.** 224; Münch. med. Wochenschr. 1913. **60.** 1236.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1876. **2.** 46.
[3]) Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1911. **102.** 606.
[4]) Virchows Archiv 1887. **108.** 313.

gegebene, später von v. Jaksch[1]), v. Zeynek[2]) u. H. Eppinger[3]) studierte Reaktion erinnert. Auch bei Merkaptanen, bei Äthylsulfid wurde sie beobachtet, von v. Zeynek bei Thioharnstoff.

Es empfiehlt sich, zum Nachweise den Rhodanwasserstoff nach 1. zu isolieren und mit dem Destillate die Reaktionen anzustellen.

Eine quantitative Bestimmung könnte colorimetrisch durch Vergleich der Färbung mit der in einer Probe von bestimmtem Gehalte an Rhodankalium mit der Eisenchloridreaktion erhaltenen vorgenommen werden.

Nach Munk fällt man 100 ccm Harn nach dem Ansäuern mit Salpetersäure mit Silbernitrat aus. Den abfiltrierten und ausgewaschenen Silberniederschlag schmilzt man mit Soda und Salpeter und bestimmt die aus dem Schwefel der Rhodanwasserstoffsäure gebildete Schwefelsäure in bekannter Weise.

1 Teil $BaSO_4 = 0{,}253$ g Rhodanwasserstoffsäure.

10. Methylmerkaptan. CH . SH.

Kommt nach dem Genusse von Spargel, Kohl besonders im Harne vor, sonst als Gärungsprodukt des Eiweißes unter den Darmgasen. Bei der Destillation des Harnes mit Oxalsäure gehen Spuren von Merkaptan in den Harn über.

Nachweis.

Papier, das mit einer Lösung von Chlor-, Cyansilber, Platin- oder Goldchlorid befeuchtet ist, wird durch Methylmerkaptan im Harndestillate geschwärzt (J. Bang).

11. Äthylsulfid. $C_2H_5—S—C_2H_5$.

Ob die im Hundeharne gefundene widrig riechende Substanz im Menschenharne vorkommt, ist zweifelhaft.

12. Schwefelwasserstoff. H_2S.

Gewöhnlich tritt der Schwefelwasserstoff nicht ins Blut ein; wenn er aber bei der Fäulnis von Eiweiß im Dünndarme entsteht, dann ist die Möglichkeit eines Überganges in den Blutstrom und somit in den Harn gegeben. Es besteht in solchen Fällen gewöhnlich Cystitis, der Harn ist trüb; ist er klar, so kann fertig gebildetes Gas aus dem mit stagnierendem Kot erfüllten Darme usw. in den Harn gelangt sein (echte Hydrothionurie). Bei trübem Harne ist die Ursache der Schwefelwasserstoffanwesenheit auch in dem Vorhandensein von besonderen Fermentorganismen, Bakterien (Bact. col. comm.), die schwefelhaltige Bestandteile des Harnes innerhalb der Blase zerlegen, zu suchen.

Vermutet wird, daß der Schwefelwasserstoff sich vielleicht aus dem sog. neutralen Schwefel bildet.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1889. **13.** 385.
[2]) International. Physiologenkongress. Wien 1910 (Vortrag).
[3]) Biochem. Zeitschr. 1910. **28.** 181.

Meistens hat sich Schwefelwasserstoff erst nach der Entleerung des Harnes durch Gärung oder Fäulnis aus Eiweißstoffen oder anderen Schwefelverbindungen entwickelt (unechte Hydrothionurie). Man muß sich deshalb bei der Prüfung des Harnes auf Schwefelwasserstoff versichern, daß der Harn vollkommen frisch ist und nicht vielleicht erst längere Zeit gestanden hat.

Nachweis.

1. Außer durch den Geruch weist man den Schwefelwasserstoff an seiner Eigenschaft nach, essigsaures Blei zu schwärzen.

   Man gießt Harn in einen Kolben und verschließt diesen mit einem Korke, in dessen unterem Ende ein mit Bleiessig und verdünntem Ammoniak getränktes Stückchen Filtrierpapier eingeklemmt ist. Das Papier wird bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff gebräunt oder geschwärzt, zumal wenn man den Kolben mit Inhalt auf einem Wasserbade bis 50° erwärmt.

2. Überschichtet man Harn vorsichtig mit einem Reagens, bestehend aus einigen Körnchen p-Aminodimethylanilin in 2—3 ccm Wasser, einigen Tropfen konz. Schwefelsäure und 1—2 Tropfen verdünnter (weingelb) Eisenchloridlösung, so bildet sich an der Berührungsfläche bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff ein blauer Ring. (Caro-Fischersche Methylenblaureaktion.)

   Bei Anwendung von Paraphenylendiamin entsteht Lauthsches Violett. Das Methylenblau läßt sich durch Amylalkohol, das Lauthsche Violett durch Äther in Lösung bringen.

3. Ein weiterer Nachweis und zugleich die quantitative Bestimmung wird in nachstehender Weise erbracht:

   Man füllt einen Liter Harn in einen Kolben, verschließt diesen mit einem doppeltdurchbohrten Korke, in dessen Durchbohrungen je ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr sich befindet, wovon der Schenkel des einen bis fast auf den Boden des Kolbens, also durch den Harn reicht, während der Schenkel des anderen unmittelbar unter dem Korke abgeschnitten ist. Der Schenkel über dem Korke vom kurzen Rohre wird mit einer mit verdünnter Natronlauge beschickten Waschflasche verbunden, ebenso der andere Schenkel. Man saugt dann ungefähr 1 Stunde lang mit der Saugpumpe Luft durch den Kolben, der auf einem Wasserbade auf etwa 50° erwärmt wird. In der ersten Flasche wird die Luft gewaschen, die aus dem Kolben den Schwefelwasserstoff mitnimmt, der in der zweiten Flasche von der Lauge absorbiert wird; in dieser Lauge wird der Schwefelwasserstoff durch Bleilösung oder Nitroprussidnatrium nachgewiesen. Letztere, die frisch bereitet wird und nur schwach gelblich sein soll, färbt sich mit Schwefelwasserstoff in alkalischer Lösung schön violettrot.

Zur quantitativen Bestimmung kann man das auf Zusatz von Bleilösung ausgefällte Schwefelblei auf einem Filter sammeln, trocknen, in einem Porzellantiegel verbrennen, den Rückstand in etwas Salpetersäure lösen, einige Tropfen Schwefelsäure dazugeben und vorsichtig eintrocknen. Man glüht endlich über der Flamme und wägt.

Gefundenes Bleisulfat $\cdot 0{,}1124 = H_2S$.

13. Phosphorsäure. $H_3PO_4 \cdot (P_2O_5$ Anhydrid.)

Die Phosphorsäure findet sich im Harne in den Alkali- (Natrium, Kalium, Ammoniak) und Erdphosphaten (Calcium, Magnesium), und zwar in Form zweifach saurer Salze (primäre Salze, Monophosphate NaH_2PO_4) und einfach saurer Salze (sekundäre Salze, Diphosphate Na_2HPO_4), je nach der Stärke der sauren Reaktion des Harnes vor. Im sauren Harne kommen nach A. Ott etwa 60% der Gesamtphosphorsäure als zweifach saures und etwa 40% als einfach saures Salz vor, doch können diese Verhältnisse sehr wechseln, in vielen Fällen soll der Harn nur zweifach saures Phosphat enthalten. In sehr geringer Menge kann die Phosphorsäure als Glycerinphosphorsäure, als Nukleinsäure und in Verbindung mit Neurin als Lecithin in den Harn übergehen. Eine phosphorhaltige andere Substanz, Phosphorfleischsäure genannt, isolierte W. C. Rockwood. Die Meinung von H. Dreser, daß die saure Reaktion des Harnes außer durch saure Phosphate durch freie Phosphorsäure bedingt sein möchte, ist nach Malfatti nicht erwiesen.

Die Phosphorsäure des Harnes stammt aus den mit den Nahrungsmitteln (Fleisch, Cerealien, Leguminosen) eingeführten phosphorsauren Salzen, ferner, wenn auch zum kleineren Teile, aus den der Verbrennung unterliegenden organischen phosphorhaltigen Substanzen, Lecithin, Nuclein, die gleichfalls Bestandteile der Nahrung sind.

Die durchschnittliche Menge der innerhalb eines Tages mit dem Harne in Form von Phosphaten entleerten Phosphorsäure eines Erwachsenen beträgt 1—5 g, im Mittel 3,5 g P_2O_5; hievon sind $^2/_3$ an Alkalien, $^1/_3$ an Erdalkalien gebunden. Die Erdalkaliphosphate bestehen wieder zu $^1/_3$ aus Calciumphosphat, zu $^2/_3$ aus Magnesiumphosphat.

Das Verhältnis der ausgeschiedenen Phosphorsäure zum ausgeschiedenen Stickstoff beträgt etwa 0,18 (100 N:17—20 H_3PO_4; nach anderen $N:P_2O_5$ = etwa 8,1:1) (15 Harnstoff = 7 Stickstoff) (Zülzers Koeffizient). Dieses Verhältnis $\frac{P_2O_5}{N}$ = relativer Wert der Phosphorsäureausscheidung.

Säuglinge scheiden 0,04—0,12 g Phosphorsäure aus.

Das Verhältnis der Gesamtphosphorsäure zur Glycerinphosphorsäure, zur organisch gebundenen Phosphorsäure ist 100:1 (Lépines Koeffizient). Bei Tuberkulose mit Leberverfettung, Bauchtyphus, Pneumonie, bisweilen bei Ikterus kann die Glycerinphosphorsäure 5—10mal vermehrt sein.

Das Verhältnis der gesamten Phosphatmenge zu den sauren Phosphaten im Harne ist 1:0,6 (Pöhls Koeffizient der Blutalkalescenz).

Die Ausscheidungsmenge der Phosphorsäure ist abhängig von der absoluten Menge der in der Nahrung zugeführten Phosphorsäure und der Resorption der Phosphate aus dem Darme, ferner von den Schwankungen der Körpertemperatur, von der Menge der zugeführten Erden und der lösend wirkenden Alkalisalze.

In pathologischen Fällen kann die Ausscheidung der Phosphorsäure im Harne erniedrigt werden bei Fieber, in den meisten Fällen von akuten Infektionskrankheiten, bei Nervenleiden, bei Nierenkrankheiten, Rachitis, Gicht, chronischem Rheumatismus; bei gelber Leberatrophie kann die Phosphorsäure ganz verschwinden. Erhöht kann der Phosphorsäuregehalt im Harne sein bei Diabetes mellitus, bei Meningitis, bei Neurasthenie, bei intensiver geistiger Arbeit, bei Oxalurie. Beim Hungern können nach K. Tigerstedt die phosphorhaltigen Bestandteile des Körpers in größerer Menge als bei Einnehmen phosphorarmer Nahrung zugrunde gehen; das Verhältnis von $N:P_2O_5$ wird nach der Richtung verändert, daß mehr Phosphorsäure (P_2O_5) als bei ausschließlicher Fleischfütterung ausgeschieden wird, es muß anderes phosphorreiches Gewebe zerfallen; nach den Versuchen ist es hier das Knochengewebe. Von Phosphaturie spricht man, wenn sich im Harne bei dessen Entleerung ausgeschiedene Erdphosphate vorfinden, wenn ein durch diese getrübter Harn entleert wird. Die Erscheinung wird hervorgerufen durch eine Veränderung der sauren Reaktion in eine neutrale oder alkalische; diese Änderung der Reaktion kann veranlaßt werden durch eine Einwirkung von Bakterien auf den Harnstoff unter Bildung von Ammoniumcarbonat, also durch eine ammoniakalische Fermentation innerhalb des Organismus (bakterielle Phosphaturie, bei der im Sedimente namentlich größere Mengen Tripelphosphate gefunden werden) oder durch eine Verminderung der Säure infolge von alimentären Einflüssen, so bei Genuß von reichlicher vegetabilischer Nahrung, die bei der Verbrennung im Körper Carbonate gibt, beim Einnehmen von alkalischen Medikamenten, alkalischen Wässern usw., man spricht in diesem Falle von einer alimentären Phosphaturie. Hier sind im Sedimente meist amorphe Erdphosphate vorhanden und vorherrschend. Endlich kann es auch, wie wir wissen, zu einer Ausscheidung von schwachsaurem, neutralem oder alkalischem Harne kommen bei Hyperacidität und Hypersekretion des Magensaftes, nach Einnehmen reichlicher Mahlzeiten, wodurch ebenfalls die Entleerung trüben Harnes möglich werden kann. Man spricht dann von gastrogener Phosphaturie. Eine weitere Quelle der Ausscheidung von Erdphosphaten ist die größere Ausfuhr von Kalk, besonders bei jugendlichen Personen (juvenile Phosphaturie); auch hier wird die Säure des Harnes stark vermindert, das Verhältnis zwischen Phosphorsäure und Kalk ist ein verändertes, die vorhandenen größeren Mengen von Kalksalzen bleiben nicht mehr in Lösung, sie fallen in Form von phosphorsaurem und kohlensaurem Kalk aus; der Harn zeigt hier häufig ein irisierendes, lichtbrechendes Häutchen; zweckmäßig ist zur Aufklärung eine Kalkbestimmung. Man spricht hier von einer Kalkariurie. In allen

diesen Fällen findet man meist gar keine Vermehrung der Phosphate im Harne.

Von einer Phosphaturie im eigentlichen Sinne könnte man nur reden, wenn unter Ausschluß der angeführten Ursachen alkalischer, durch Erdphosphate getrübter Harn ausgeschieden würde und wenn die Phosphorsäuremenge des Harnes zugleich über die sonst als normal angenommene Menge hinausgeht; nach Serkowski ist dies der Fall, wenn ein erwachsener Mensch bei gemischter Kost mehr als $3^1/_2$—4 g Phosphate auf 24 Stunden ausscheidet oder wenn das Verhältnis der Phosphorsäure (H_3PO_4) zum Stickstoff (17—20:100) zugunsten der ersteren größer wird. Wirkliche Phosphaturie ist keine Krankheit, bloß ein sekundäres Symptom mancher Krankheiten; sie kann sich zeigen bei Diabetes, bei Tuberkulose, bei Knochenerkrankungen, bei nervösen Affektionen (Neurasthenie) usw. Nach Zueltzer bilden für die oben erwähnte Kalkariurie jedenfalls Dickdarmstörungen die Ursache. Phosphattrüber Harn ohne gleichzeitige Steigerung der Phosphorsäure oder des Kalkes bedeutet nichts weiter, als eine verminderte Acidität. (Malfatti.)

Der Befund von Phosphaten im Harne darf in seiner Bedeutung deshalb nicht zu hoch veranschlagt werden. (C. Posner.)

Bei Phosphatausscheidungen kann es auch zur Bildung amorpher, körniger, rauher, breiartiger Massen kommen, in schweren Formen entstehen die rauhen, halbharten Konkremente oder glatte feste Steine im Nierenbecken und in der Blase. Siehe Harnsteine.

Im Sedimente findet man außer reichlichen Mengen amorpher Erdphosphate Dicalciumphosphatrosetten, kleine und große Tripelphosphatkrystalle, auch Schleim, Leukocyten, gegebenenfalls auch Erythrocyten.

Qualitativer Nachweis.

Als dreibasische Säure bildet die Phosphorsäure 3 Reihen von Salzen, die Phosphate der Alkalien sind sämtlich in Wasser löslich, und zwar die primären PO_4H_2X mit saurer Reaktion, die beiden anderen, das sekundäre PO_4HX_2 und das tertiäre PO_4X_3 mit alkalischer Reaktion. Von den Phosphaten der alkalischen Erden sind nur löslich die primären Salze $(PO_4H_2)_2X$ mit saurer Reaktion. Die sekundären PO_4HX und die tertiären $(PO_4)_2X_3$ sind sehr schwer oder nur in ganz geringer Menge löslich. Die Löslichkeit dieser Phosphate im Harnwasser wird durch gewisse Salze (primäres Alkaliphosphat, Chlornatrium) erhöht; durch die sauren Salze werden sie im Harne in Lösung gehalten.

Wird daher der Harn spontan alkalisch oder wird er alkalisch gemacht, so scheiden sich Phosphorsäure mit Kalk als phosphorsaurer Kalk und die Magnesia als phosphorsaure Magnesia, als phosphorsaure Ammoniakmagnesia aus.

Diese Ausscheidungen sind nicht selten gefärbt (rot bei Blutfarbstoff, braun bei Gallenfarbstoffen usw.).

Qualitativer Nachweis.

Phosphorsäure wird gefällt:

1. durch Silbernitrat aus neutraler Lösung als gelber, in Säuren und in Ammoniak löslicher Niederschlag;
2. durch Chlorcalcium oder Chlorbarium und Ammoniak als weißer, flockiger, in Ammoniak unlöslicher, in Essigsäure und in Mineralsäuren löslicher Niederschlag;
3. durch Magnesiamixtur als phosphorsaure Ammoniakmagnesia;
4. durch Uransalze in essigsaurer Lösung (S. 99);
5. durch eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat.

Versetzt man Harn mit Kalilauge oder Ammoniak und erhitzt zum Kochen, so fallen die Erdphosphate aus, die Alkaliphosphate bleiben in Lösung; die letzteren weist man nach, indem man die Erdphosphate abfiltriert und das Filtrat mit Magnesiamischung oder nach dem Ansäuern mit Essigsäure mit Uranacetat oder Urannitrat versetzt; im ersteren Falle entsteht eine weiße Fällung, im letzteren ein gelber Niederschlag.

Quantitative Bestimmung.

1. Gewichtsanalytische.

Die Bestimmung der Phosphorsäure kann in der hergestellten Asche durch die Molybdänmethode gewichtsanalytisch vorgenommen werden.

Erforderliche Lösungen.

1. Molybdänlösung. 100 g molybdänsaures Ammonium werden mit Wasser zu 1 Liter Flüssigkeit gelöst; diese Lösung wird unter Umrühren in 1 Liter Salpetersäure von 1,2 spezif. Gewicht gegossen, nicht umgekehrt.
2. Konzentrierte Ammoniumnitratlösung. 750 g Ammoniumnitrat im Liter.
3. Verdünnte Ammoniumnitratlösung. 150 g Ammoniumnitrat im Liter.
4. Magnesiamixtur. 55 g krystallisiertes Chlormagnesium, 70 g Chlorammonium werden im Liter $2^1/_2$%iger Ammoniumflüssigkeit (oder 750 ccm Wasser und 250 ccm 10%iges Ammoniak) gelöst.
5. Ammoniakflüssigkeit, $2^1/_2$%ig oder 1 Teil 10%iges Ammoniak + 3 Teile Wasser.

Ausführung im Harne.

20 ccm Harn werden in einer Platinschale mit ungefähr 5 g eines Gemisches von 1 Teil Salpeter und 3 Teilen Soda versetzt und zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird verascht, die Asche mit warmem Wasser und etwas Salpetersäure behandelt, die Lösung in ein Becherglas filtriert, das Filter gut ausgewaschen und mit der darauf vorhandenen Kohle verascht. Die Asche wird mit Salpetersäure befeuchtet, mit heißem Wasser aufgenommen und zu dem im Becherglase befindlichen Auszuge gegeben.

Hiezu gibt man 50 ccm der Ammoniummolybdat- und 15 ccm der gesättigten Ammoniumnitratlösung, rührt um und läßt die Mischung an einem warmen Platze (60°) etwa 6 Stunden lang stehen. Nach dieser Zeit gießt man die Flüssigkeit vom gelben Niederschlage (Ammoniumphosphomolybdat) durch ein kleines Filter und wäscht den Niederschlag mit verdünnter Ammoniumnitratlösung gut aus, indem man stets den Niederschlag absitzen läßt und die klare Flüssigkeit durch das Filter filtriert. Den Niederschlag im

Becherglase löst man mit $2^1/_2$%igem Ammoniak auf und filtriert durch dasselbe Filter, durch das vorher die abgegossenen Flüssigkeitsmengen filtriert wurden. Man wäscht das Becherglas und das Filter mit Ammoniak aus, gibt zum Filtrate 15 ccm Chlorammoniumlösung (1:8) und 15 ccm Magnesiamischung, rührt mit einem Glasstabe um und läßt den entstehenden Niederschlag 12 Stunden lang absitzen.

Man filtriert nach dieser Zeit den aus phosphorsaurer Ammoniakmagnesia bestehenden Niederschlag durch ein Filter von bekanntem Aschengehalte und wäscht den Niederschlag mit $2^1/_2$%igem Ammoniak aus, bis das Filtrat keine Chlorreaktion mehr zeigt. Der Niederschlag wird auf dem Filter gut getrocknet und dann in einem gewogenen Platintiegel verbrannt; nach dem Erkalten befeuchtet man den aus Magnesiumpyrophosphat bestehenden Tiegelinhalt mit Salpetersäure, verdampft diese mit kleiner Flamme, glüht den Tiegel und läßt ihn im Exsiccator erkalten.

$$\text{Gewogenes } Mg_2P_2O_7 \cdot 0{,}6376 = P_2O_5.$$

2. Maßanalytische Bestimmung.

a) Bestimmung der Gesamtphosphorsäure nach A. Neumann[1]).

Prinzip.

Harn wird in der S. 63 angeführten Weise zerstört. In der Lösung wird die Phosphorsäure durch Ammoniummolybdat als phosphormolybdänsaures Ammonium ausgefällt, dieses nach dem Auswaschen in $^1/_2$ n-Lauge gelöst und der Überschuß dieser durch $^1/_2$ n-Schwefelsäure zurücktitriert.

$$2\,(NH_4)_3PO_4 + 24\,MoO_3.4\,HNO_3 + 56\,NaOH = 24\,Na_2MoO_4 + 4\,NaNO_3 + 32\,H_2O + 6\,NH_3.$$

Erforderliche Lösungen.

1. 50%ige Ammoniaklösung.
2. 10%ige Ammoniummolybdatlösung, kalt gelöst und filtriert.
3. $^1/_2$ n-Natronlauge u. $^1/_2$ n-Schwefelsäure.
4. 1%ige alkoholische Phenolphthaleinlösung.

Ausführung.

Man verfährt in der S 63 angegebenen Weise; man verwendet eine Harnmenge, die nicht mehr als 50 mg Phosphorsäure (P_2O_5) enthält; man nimmt am besten 20 ccm und sorgt dafür, daß zur vollkommenen Zerstörung der organischen Substanz nicht mehr als im ganzen 40 ccm vom Säuregemische verbraucht werden; man kommt leicht mit weniger aus. Den hellgelb gewordenen, beim Erkalten farblosen Kolbeninhalt verdünnt man mit etwa 140 ccm Wasser, so daß 150—160 ccm Flüssigkeit vorhanden sind, fügt 50 ccm Ammoniumnitrat hinzu und erhitzt auf etwa 70—80°; dann setzt man 40 ccm Ammoniummolybdatlösung zur Flüssigkeit. (Hat man mehr Säuregemisch gebraucht, dann muß im Verhältnisse stärker verdünnt und mehr Ammoniumnitrat zugesetzt werden; letzteres soll etwa den fünften Teil in der mit Ammoniummolybdatlösung versetzten Flüssigkeit betragen.) Der entstandene gelbe Niederschlag wird gründlich durchgeschüttelt, damit er sich körnig abscheidet; dann läßt man 15 Minuten stehen und absitzen. Man dekantiert durch ein dünnes, aschefreies, vorher mit kaltem Wasser angefeuchtetes Filter, und zwar läßt man die Flüssigkeit ohne Unterbrechung durchs Filter fließen, das immer zu $^2/_3$ gefüllt ist; vom Niederschlage soll nur wenig aufs Filter kommen. Zum Rückstande im Kolben bringt man etwa 150 ccm eiskaltes Wasser, schüttelt wieder, läßt absitzen und dekantiert in der beschriebenen Weise; das Auswaschen wiederholt man in der angegebenen Weise noch etwa 3—4mal, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagiert (Lackmus). Bei dem Filtrieren beobachtet man noch, daß man das Filter, solange der Niederschlag immer absitzt, mit recht kaltem Wasser füllt. Das ausgewaschene Filter mit Rückstand bringt man in den Kolben zum Niederschlage und schüttelt mit 150 ccm Wasser zur Zerteilung des Filters, worauf man aus einer Bürette soviel der $^1/_2$ n-Natronlauge unter Umschütteln, ohne zu erwärmen, zufließen läßt, als zur Lösung des Niederschlages notwendig ist. Hierauf fügt man noch etwa 5—6 ccm der Lauge hinzu und kocht den Kolbeninhalt so lange (etwa $^1/_4$ Stunde), bis kein Ammoniak mehr entweicht (Prüfung der ent-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **37**. 133. Engelmanns Archiv. 1905. 214.

weichenden Wasserdämpfe mit feuchtem Lackmuspapier). Man kühlt den Kolben unter der Wasserleitung ab, bringt einige Tropfen der Phenolphthaleinlösung hinzu (die Flüssigkeit muß stark rot werden, sonst war zu wenig Lauge zugesetzt) und titriert mit der $^1/_2$ n-Schwefelsäure die im Überschusse zugegebene Lauge zurück.

Die verbrauchten Kubikzentimeter Schwefelsäure werden von den zugegebenen Kubikzentimetern Lauge abgezogen und die übrigen Kubikzentimeter $^1/_2$ n-Lauge mit 1,268 multipliziert. Man erhält die Menge P_2O_5 in Milligrammen in der angewendeten Harnmenge.

Beurteilung.

Die Methode gibt gute Werte. J. Bang hält sie für ausgezeichnet. J. P. Gregersen[1]), dann H. Schuhmann[2]) haben die Neumannsche Methode wieder etwas abgeändert.

Nach J. Bang[3]) dauert es manchmal recht lange, bis das Ammoniak entfernt ist, auch stößt die Flüssigkeit usw. Diese Unannehmlichkeit läßt sich durch Verwendung der Formoltitrierung umgehen, das Ammoniak wird gebunden, es entsteht indifferentes Hexamethylentetramin. Durch einen Zusatz von Formol zu der mit $^n/_2$ KOH alkalisierten Flüssigkeit wird Ammoniak quantitativ entfernt und durch Zurücktitrieren mit $^n/_2$ Säure die verbrauchte Menge Kalilauge und damit die Phosphorsäure oder der Phosphor gefunden. Man verfährt in folgender Weise. Der ausgewaschene Molybdatniederschlag wird in das ursprüngliche Becherglas übergeführt, man setzt etwas Wasser und nachher $^n/_2$ KOH hinzu, bis der Niederschlag vollständig gelöst worden ist. Dann werden 50 ccm Formollösung, die vorher mit 5—6 Tropfen Phenolphthalein versetzt und bis zur beginnenden Rotfärbung titriert worden ist, zugefügt. Nach einigen Augenblicken titriert man mit $^n/_2$ Säure bis farblos und dann wieder mit der Lauge bis zur deutlichen Rotfärbung.

Auf eine von P. v. Liebermann[4]) angegebene Bestimmung sei hingewiesen.

b) Bestimmung der Phosphorsäure mit Uran.

Prinzip.

Kommen Phosphate in heißer essigsaurer Lösung mit einer Lösung von Uranacetat oder Urannitrat zusammen, so wird die Phosphorsäure vollständig als Uranphosphat ausgeschieden.

$$Na_2HPO_4 + UrO_2(C_2H_3O_2)_2 = UrO_2HPO_4 + 2\,NaC_2H_3O_2.$$
$$Na_2HPO_4 + UrO_2(NO_3)_2 = UrO_2HPO_4 + 2\,NaNO_3.$$

Urannitratlösung behält ihren Titer länger als Uranacetat; damit bei der Verwendung der ersten Lösung die freiwerdende Salpetersäure von dem gefällten Uranphosphat nichts löst, wird essigsaures Natron hinzugesetzt. Als Indicator wird die Tüpfelreaktion mit Ferrocyankalium, das mit dem Uran einen rotbraunen Niederschlag von Uranferrocyanid erzeugt, oder Cochenilletinktur angewendet, die mit im Überschusse vorhandenem Uran eine grüne Färbung gibt (C. Malot).

Erforderliche Lösungen.

1. Natriumphosphatlösung, die 0,1 g P_2O_5 in 50 ccm Lösung enthalten soll. Man löst 10,0850 g reines neutrales sekundäres Natriumphosphat ($Na_2HPO_4 + 12\,H_2O$) in 1 Liter Wasser auf.

Der Gehalt der Lösung muß, da das Natriumphosphat in seiner richtigen Zusammensetzung — entweder enthält es frisch umkrystallisiert noch Mutterlauge oder es ist schon verwittert — schwer zu erhalten ist, gewichtsanalytisch bestimmt werden. Man fällt 50 ccm der Lösung mit 15 ccm der Magnesiamischung und behandelt den Niederschlag, wie oben angegeben. Im Falle z. B. 0,12 g P_2O_5 (man wird der Vorsicht halber zwei Bestimmungen ausführen) in 50 ccm der Lösung vorhanden wären, müßte die Lösung verdünnt werden:

$$0{,}1 : 50 = 0{,}12 : x;\ x = 60.$$

Es müßten deshalb 50 ccm auf 60, also 500 ccm auf 600 ccm verdünnt werden.

Enthielte die Lösung nur 0,09 g P_2O_5, so würde man sie konzentrieren müssen:

$$0{,}1 : 50 = 0{,}09 : x;\ x = 45.$$

Es müßten deshalb 500 ccm auf 450 ccm durch Eindampfen konzentriert werden.

Man kann auch folgendermaßen verfahren. Man löst ungefähr 12 g des Salzes in 1 Liter Wasser, dampft von dieser Lösung genau 50 ccm in einer Platinschale ein, trocknet, glüht den Rückstand und wägt (Natriumpyrophosphat). 50 ccm müssen genau 0,1873 g pyrophosphorsaures Natrium geben. Aus dem gefundenen Gehalte berechnet man den weiter notwendigen Wasserzusatz zur Lösung.

---

[1]) Zeitschr physiol. Chem. 1907. **53.** 453.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1909. **48.** 612.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1911. **32.** 444.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1909. **18.** 44.

Man kann die Lösung auch aus dem gewöhnlichen Natriumphosphat darstellen und die richtige Konzentration durch die Eigenschaft des einfach sauren Phosphates, durch Säuren in das zweifach saure überzugehen, erreichen. Man macht eine Phosphatlösung von einer Konzentration, daß 40 ccm = 11,25 ccm $^1/_{10}$ Normalsalzsäure oder Schwefelsäure verbrauchen; 50 ccm enthalten dann 0,1 g P_2O_5; als Indicator dient Methylorange, besser Alizarinrot; das Ende der Reaktion ist da, wenn die braune Farbe durch einen Tropfen der $^1/_{10}$n-Säure in rot (bei Methylorange) oder in gelb (bei Alizarinrot) umgewandelt ist.

2. Essigsaure Natriumacetatlösung. 100 g essigsaures Natron werden in 800 ccm Wasser gelöst; man setzt 100 ccm 30%ige Essigsäure hinzu und füllt zum Liter auf.

3. Lösung von Urannitrat oder Uranacetat.

Man löst 35,461 g krystallisiertes Urannitrat oder 29,969 g Uranacetat in nicht ganz einem Liter Wasser; 1 ccm = 0,005 g. P_2O_5.

4. Lösung von Blutlaugensalz in Wasser (10 : 100) frisch bereitet, oder

5. Cochenilletinktur (S. 57).

Einstellung der Uranlösung.

Man mißt 50 ccm der Natriumphosphatlösung in einen Erlenmeyerkolben, gibt 5 ccm der essigsauren Natriumacetatlösung hinzu — der Zusatz von dieser zum Harne geschieht, um alle Phosphate in sekundäre Verbindungen überzuführen — und erhitzt zum Sieden. Man läßt von der Urannitratlösung so lange zufließen, als das Entstehen des Niederschlages noch deutlich wahrnehmbar ist, dann prüft man von $^1/_2$ zu $^1/_2$ ccm einen Tropfen der Flüssigkeit im Kolben mit Ferrocyankalium, ob die Endreaktion eingetreten ist. Man bringt zu diesem Zwecke auf eine weiße Porzellanplatte oder auf einen Teller mehrere Tropfen der Ferrocyankaliumlösung und gibt einen Tropfen mit einem Tropfen der mit einem Glasstabe entnommenen Flüssigkeit zusammen; das Entstehen einer schwach rötlichbraunen Färbung an der Berührungsstelle der beiden Tropfen deutet das Ende des Versuches an. Man wiederholt diesen Versuch. Oder man gibt, wenn man die Tüpfelmethode nicht anwenden will, zu 50 ccm der Natriumphosphatlösung 5 ccm essigsaure Natriumacetatlösung und einige Tropfen Cochenillelösung hinzu, erhitzt zum Sieden und läßt so lange von der Urannitratlösung zufließen, bis die umgeschüttelte und wieder erhitzte Mischung dauernd schwach grün geworden ist und die zuerst hervorgerufene bläulichgrüne Färbung nicht mehr verschwindet. Das Uran gibt mit dem Cochenillefarbstoff eine grüngefärbte Verbindung, wenn eine Spur im Überschusse, also mehr als zur Bindung der Phosphorsäure nötig ist, zugesetzt ist; diese Färbung des anfangs weißen Phosphatniederschlages zeigt das Ende der Reaktion an.

Die Uranlösung, die man stets anfangs etwas stärker macht, wird nun so verdünnt, daß genau 20 ccm für die 50 ccm Natriumphosphatlösung verbraucht werden, daß also 20 ccm Uranlösung 0,1 g P_2O_5 oder 1 ccm 0,005 g P_2O_5 entsprechen.

Gesetzt, es würden für die 50 ccm Natriumphosphat 19,5 ccm Uranlösung verbraucht, so müßten 195 ccm auf 200 ccm verdünnt werden; im umgekehrten Falle, wenn man mehr als 20 ccm Uranlösung braucht, hat man die Lösung zu konzentrieren, einzudampfen.

Ausführung im Harne.

Man verfährt hier genau wie bei der Einstellung. 50 ccm Harn und 5 ccm essigsaure Natriumlösung werden mit Urannitrat titriert usw.; man befolge noch das in der nachstehenden Beurteilung Gesagte.

Beurteilung:

Der Harn soll eiweißfrei sein; eiweißhaltiger Harn muß mit Natriumcarbonat und Salpeter eingedampft und in der Asche die Bestimmung der Phosphorsäure vorgenommen werden. Nach Mercier sollen Eiweiß und Zucker nicht stören. Stark gefärbter ikterischer Harn ist für diese Bestimmung nicht zu verwenden, wenn man Cochenillelösung in Anwendung zieht. Man muß in diesem Falle Ferrocyankalium als Indicator wählen oder man entfärbt den Harn nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Permanganat (Mondigliano) oder durch Schütteln mit Blutkohle (Merck), auf 60 ccm Harn einen guten Teelöffel voll. Bei genaueren Bestimmungen fällt man in 50 ccm Harn die Phosphorsäure mit Magnesiamischung, sammelt nach 12 Stunden den Niederschlag auf einem Filter, wäscht ihn mit verdünntem Ammoniak aus und löst den Niederschlag in Essigsäure; man verdünnt auf 50 ccm, setzt 5 ccm essigsaure Natriumacetatlösung hinzu und titriert wie angegeben. Zur Erzielung genauer Resultate muß man immer in den gleichen Mengenverhältnissen die Prüfung vornehmen.

Ein zur Bestimmung der Phosphate dienender Apparat, Phosphatometer genannt, wird von Friedmann empfohlen. In einem unten verjüngten Rohre wird der Harn, der bis zu der angebrachten Marke eingefüllt wird, mit einer bestimmten Menge Magnesiamixtur versetzt und stehen gelassen. Mit Hilfe der angebrachten Graduierung an der Röhre und einer Tabelle liest man den Phosphatgehalt in Grammen in 1 Liter Harn ab.

Den Apparat fertigt P. Altmann, Berlin. Gebrauchsanweisung liegt bei.

Beurteilung.

Der Apparat ist für den Arzt für klinische Zwecke bestimmt. Bei recht genauem Arbeiten sollen nach E. Kraft annähernd brauchbare Ergebnisse erzielt werden.

Wahl der Methode.

Die gewichtsanalytische Bestimmung ist vorzuziehen; die titrimetrischen Bestimmungen erfordern weniger Zeitaufwand.

Bestimmung des zweifach- (Monophosphat) und des einfach-sauren Phosphates (Diphosphat) nebeneinander, zugleich Aciditätsbestimmung im Harne.

1. Methode von Maly und F. Hofmann.

Prinzip.

Man ermittelt die Menge Alkalilauge, die nötig ist, um die beiden Phosphate in das normale Triphosphat überzuführen, ferner die vorhandene Gesamtphosphorsäure.

Das erstere erreicht man, daß man den Harn oder die Flüssigkeit mit einem bestimmten Überschusse der titrierten $^1/_{10}$n-Lauge versetzt, die Phosphorsäure (nun normales Salz) durch Chlorbarium ausfällt und den Überschuß der Lauge mit $^1/_{10}$ n-Säure (Salzsäure) zurücktitriert. Man erfährt hiedurch die zur Umwandlung des vorhandenen Mono- und Diphosphates in Triphosphat nötige Menge Natrium und kann, wenn die Menge der Gesamtphosphorsäure bestimmt ist, die sowohl im zweifach- (Monophosphat), wie im einfach-sauren Phosphate (Diphosphat) enthaltene Menge Phosphorsäure berechnen.

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_4$ Normalnatronlauge; 1 ccm = 0,01775 g P_2O_5 (auf zweifach-saures Phosphat berechnet);
2. $^1/_4$ Normalsalzsäure;
3. etwa $^3/_4$ Normalchlorbariumlösung (90,78 $BaCl_2 + 2\,H_2O$: 1 Liter).

Die Lösungen 1 und 2 stellt man sich durch entsprechende Verdünnung aus den Normallösungen her.

Ausführung.

Man bestimmt zuerst den Gesamtphosphorsäuregehalt des Harnes in der angegebenen Weise; dann pipettiert man in einen 100 ccm fassenden Meßkolben 50 ccm Harn ab und setzt für je 0,01 g der gefundenen Phosphorsäure 1,2 ccm Lauge und 0,6 ccm Chlorbariumlösung hinzu. Man füllt bis zur Marke (100 ccm) auf, schüttelt tüchtig um und filtriert; vom Filtrate mißt man 50 ccm ab und titriert mit der Salzsäure den Überschuß der zugesetzten Lauge zurück (Tüpfeln auf Lackmuspapier bis zur neutralen Reaktion).

Man verdoppelt die verbrauchten Kubikzentimeter Säure und zieht diese von der zugesetzten Menge Lauge ab; der Rest ist die für die beiden Phosphate zur Überführung in das normale Salz verbrauchte Lauge.

Berechnung.

50 ccm Harn enthalten z. B. 0,20 g P_2O_5.

Für 50 ccm Harn wurden hinzugegeben $20 \cdot 1{,}2$ ccm Lauge = 24 ccm; zum Rücktitrieren für 50 ccm des Filtrates wurden verbraucht 3,5 ccm Säure, also für die 50 ccm Harn = 7 ccm.

Für die beiden Phosphate wurden zur Überführung in das normale Salz verbraucht $24 - 7 = 17$ ccm Lauge.

1 ccm der Lauge entspricht = 0,01775 g P_2O_5 (auf Monophosphat berechnet),

$$17 \cdot 0{,}01775 = 0{,}30175 \text{ g } P_2O_5,$$
$$0{,}30175 - 0{,}200 = 0{,}1017,$$
$$0{,}200 - 0{,}1017 = 0{,}0983.$$

Es waren also von den im Harne enthaltenen 0,20 g P_2O_5 0,1017 g im Mono- und 0,0983 g im Diphosphate enthalten.

Beurteilung.

Der Wert für die im Monophosphate vorhandene Phosphorsäure im Harne fällt zu hoch aus, der für die im Diphosphate enthaltene zu niedrig.

Die Ursache des zu hoch gefundenen Gehaltes der Phosphorsäure beruht darauf, daß die in den sauren Salzen enthaltene Kohlensäure, Harnsäure, Oxalsäure usw. gefällt werden, wodurch die an Wasserstoff gebundenen Anteile der Säuren dieser sauren Salze mit der Phosphorsäure bestimmt werden.

Aus diesen Gründen wurden weitere auf dem geschilderten Prinzipe beruhende Bestimmungsmethoden ausgearbeitet; V. Lieblein[1]), der die zur Bestimmung der Acidität im Harne angegebenen Methoden geprüft hat, betrachtet die Bestimmung der im Monophosphate vorhandenen Phosphorsäure als richtiges Maß der Acidität im Harne. Lieblein empfiehlt hiezu das nachstehende Verfahren.

2. Methode von E. Freund.[2])

Prinzip.

Die Methode gründet sich darauf, daß Bariumchlorid mit einfach-sauren Phosphaten unlösliches phosphorsaures Barium bildet, während es mit zweifach-phosphorsauren Salzen keinen unlöslichen Niederschlag gibt und somit ein Mittel darstellt, einfach-saures Phosphat von zweifachsaurem Phosphat zu trennen.

Ausführung.

Man ermittelt zunächst in dem Harne (50 ccm) in der S. 100 angegebenen Weise durch Titrieren mit Uranlösung die Gesamtphosphorsäure, fällt dann in einer anderen Probe desselben Harnes (50 ccm) die Phosphorsäure des einfach-sauren Phosphats mit 10 ccm einer 10%igen Chlorbariumlösung aus, filtriert, und zwar so oft, bis ein helles Filtrat erhalten ist, und bestimmt in 50 ccm des Filtrates den in Lösung gebliebenen Teil der Phosphorsäure, wobei zu berücksichtigen ist, daß diese letzteren 50 ccm nur 41,6 ccm Harn entsprechen.

Diese letztgefundene Zahl stellt die Menge des Phosphorsäuregehaltes der zweifach-sauren Phosphate (Monophosphate) dar; zieht man diese Menge von der gefundenen Gesamtphosphorsäure ab, so bleibt als Differenz die in Form einfach-saurer Phosphate vorhandene Phosphorsäure.

Beurteilung.

Die gefundenen Werte bedürfen nach V. Lieblein einer Korrektur, da beim Ausfällen von einfach-sauren Phosphaten mit Chlorbarium etwa 3% der Phosphorsäure als zweifach-saures Salz in Lösung bleiben; es ist deshalb der gefundene Phosphorsäurewert des einfach-sauren Salzes um diese Größe zu erhöhen (man zählt der gefundenen Phosphorsäure des einfach-sauren Phosphates 3% Phosphorsäure hinzu) und die gleiche Zahl von dem gefundenen Phosphorsäuregehalt des zweifach-sauren Phosphates in Abzug zu bringen.

Auch diese Methode ist, wie die von Maly und Hofmann empfohlene, nach den Untersuchungen von L. de Jager[3]), der auch den störenden Einfluß von Sulfaten und Uraten nachgewiesen hat, unbrauchbar. Zu gleichem Ergebnis kamen ferner O. Naegeli[4]), R. Arnstein[5]), W. Völker.[6])

Trennung der Erdphosphate von den Alkaliphosphaten.

Bezweckt man eine getrennte Bestimmung der an die Alkalien oder der an die alkalischen Erden gebundenen Phosphorsäure, so versetzt man 100—200 ccm Harn mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion, sammelt den nach 12stündigem Stehen ausgeschiedenen Niederschlag auf einem Filter und wäscht mit ammoniakhaltigem Wasser aus. Man spritzt den Niederschlag, nachdem man das Filter mit einem Glasstabe durchstoßen hat, in ein Becherglas, löst den Niederschlag unter Erwärmen in möglichst wenig Essigsäure, verdünnt mit Wasser bis auf 50 ccm, fügt 5 ccm essigsaures Natrium hinzu und titriert mit Uranlösung, wie angegeben.

Resultat: Phosphorsäure an Kalk und Magnesia gebunden.

Im Filtrate fällt man nach Zugabe von Magnesiamischung die an die Alkalien gebundene Phosphorsäure, sammelt nach 12stündigem Stehen den Niederschlag und verfährt wie oben angegeben.

Resultat: Phosphorsäure an Alkalien gebunden.

14. Kieselsäure. SiO_2.

Kieselsäure wurde zu 0,03 g im Liter Harn gefunden; sie stammt aus der Nahrung; die in gelöster Form genossene Kieselsäure (so auch in kieselsäurereichem Wasser) wird in einer ansehnlichen Menge resorbiert und teilweise durch den Harn ausgeschieden. M. Gonnermann[7]), F. Zuckmayer.[8])

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **20.** 66.
[2]) Centralbl. med. Wissenschaft. 1892. 689; Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **19.** 100.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **24.** 303; 1908. **55.** 482.
[4]) Ebenda. 1900. **30.** 313.
[5]) Ebenda. 1901. **34.** 1.
[6]) Archiv klin. Mediz. 1906. **88.** 302.
[7]) Biochem. Zeitschr. 1919. **94.** 1639.
[8]) Therap. d. Gegenwart 1920. **61.** 344.

Ihr Nachweis wird möglicherweise öfters nötig werden, da in neuer Zeit verschiedene Präparate (Silistren u. a.) zur Kieselsäuretherapie der Tuberkulose in Anwendung gezogen werden.

Nachweis und quantitative Bestimmung.

Die mit kohlensaurem Natronkalium aufgeschlossene Schmelze der Harnasche wird in Salzsäure gelöst und die Lösung in einer Schale auf dem Wasserbade eingedampft. Man erwärmt die Schale mit Inhalt 1—2 Stunden bei etwa 110° C im Trockenschranke, versetzt mit etwas Salzsäure und Wasser und sammelt die abgeschiedene Kieselsäure auf einem Filter. Nach dem Auswaschen des Rückstandes wird das Filter mit Niederschlag im Platintiegel geglüht und der Tiegel nach dem Erkalten gewogen.

Gewicht = Kieselsäure. SiO_2.

Qualitativer Nachweis.

Gibt in der Phosphorsalzperle das bekannte Skelett, ist weder in Säuren, noch in Wasser löslich.

15. Salpetersäure. HNO_3 (N_2O_5 Anhydrid).

Salpetersaure Salze enthält jeder Harn in geringer Menge, die sicher aus der Nahrung stammen. Mit der Zunahme der Harnfäulnis verschwindet die Salpetersäure, die zu 0,05—0,1 g in der täglichen Harnmenge gefunden wurde. Für die Prüfung muß möglichst frischer Harn zur Verwendung kommen.

Nachweis.

Man destilliert am besten nach Th. Weyl ungefähr 200 ccm des frischen Harnes unter Zusatz von 30—40 ccm reiner konz. Schwefelsäure oder Salzsäure auf dem Sandbade und fängt die aus der Salpetersäure durch die Einwirkung verschiedener reduzierend wirkender Harnbestandteile gebildete salpetrige Säure in einer verdünnten Natronlauge auf. Das Destillat prüft man in folgender Weise:

1. Mit Metaphenylendiamin gibt dieses bei Gegenwart von salpetriger Säure eine gelbe bis gelbbraune Färbung. (Bildung von Triamidoazobenzol, Bismarckbraun.)
2. Man gibt zum Destillate verdünnte Schwefelsäure oder Essigsäure und eine Lösung von Sulfanilsäure; nach 10 Minuten langem Stehen fügt man der sauren Lösung eine solche von salzsaurem α-Naphthylamin zu; es entsteht beim Vorhandensein von salpetriger Säure eine schöne Rotfärbung, durch Azobenzolnaphthylaminsulfosäure bedingt. (P. Griesssche Azoreaktion.) Siehe auch bei 16 Nr. 3.
3. Mit Jodkaliumstärke entsteht nach dem Ansäuern Blaufärbung.

Im Harne direkt kann man Nitrate nachweisen wie folgt:

4. Man konzentriert Harn mit Kaliumhydroxydlösung und behandelt dann mit Schwefelsäure; aus den im Rückstande befindlichen Choriden und Nitraten wird durch Schwefelsäure Chlor und Untersalpeter-

säure entwickelt, die darüber gehaltenes Jodkaliumpapier bläuen und Indigopapier entfärben.

5. Brucinprobe. Man versetzt den Harn mit der dreifachen Menge einer konz. Schwefelsäure und dann mit 1 ccm einer Brucinlösung — 0,2 g Brucin in 100 ccm reiner konz. Schwefelsäure gelöst —; beim Vorhandensein von Salpetersäure entsteht eine rote Färbung, die schnell in orange und gelb übergeht.
6. In einem Reagenzglase werden 3—4 ccm einer Diphenylaminlösung (0,5 g Diphenylamin in 80 ccm reiner konz. Schwefelsäure und 20 ccm Wasser) mit etwa 5 ccm Harn überschichtet; an der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten entsteht ein blauer Ring, wenn Nitrate vorhanden sind (Lunge).
7. C. J. Reichardt läßt eine alkoholhaltige Diphenylaminresorcinätherlösung vorsichtig über Schwefelsäure und darüber den Harn schichten. Normale Harne geben nur eine Rosafärbung (Ring unterhalb der Harnschicht); blauviolette Ringe zeigen bereits einen höheren Gehalt an Salpeter an.

Wenn eine quantitative Bestimmung vorzunehmen wäre, was bei den vorhandenen geringen Mengen kaum notwendig werden wird, dann wäre diese nach der bekannten Schulzeschen Methode auszuführen. Man würde in der von F. Roehmann[1]) vorgeschlagenen Weise vorgehen. Im übrigen kann man mit der Diphenylaminprobe die ungefähre Menge unter Anwendung von Vergleichslösungen bekannten Gehaltes nicht unschwer bestimmen lernen.

16. Salpetrige Säure. Nitrite. HNO_2.

Die salpetrige Säure kommt im normalen frischen Harne nicht vor; bei beginnender Zersetzung durch Reduktion der salpetersauren Salze entstanden, verschwindet sie bei weiterer Zersetzung wieder aus dem Harne. Nitrite im frischen Urin können entweder durch Gärungsvorgänge in den Harnwegen entstehen oder sie können im Darmkanal gebildet worden sein.

Nachweis.

1. Säuert man Harn mit wenig Schwefelsäure oder mit Essigsäure an und gibt etwas Jodkalium und einige Kubikzentimeter Stärkekleister hinzu, so entsteht bei Anwesenheit von salpetriger Säure eine tiefblaue Färbung.
2. Bringt man in ein Proberöhrchen etwa 0,02—0,03 g krystallisierte Naphthionsäure oder noch besser 10 Tropfen einer filtrierten Lösung von 2 g chemisch reinem Natriumnaphthionat und 1 g β-Naphthol puriss. in 200 ccm destilliertem Wasser, 5—6 ccm des Harnes, schüttelt gut durch, fügt 2—3 Tropfen konzentrierte Salzsäure hinzu und schüttelt abermals während einer Minute kräftig

[1]) Zeitschr. physiol Chem 1881. 5. 234.

durch, so tritt auch bei Spuren von Nitriten beim langsamen Einfließenlassen von 20—30 Tropfen Ammoniak in das schief gehaltene Probierröhrchen an der Berührungsstelle ein rosa gefärbter Ring auf; beim Schütteln wird die Flüssigkeit rosa oder dunkelrot (Bildung eines Oxyazofarbstoffes) je nach der Menge der salpetrigen Säure. Man betrachtet die Farbenerscheinung ferner im durchfallenden Lichte, da sehr verdünnte Lösungen von Naphthionsäure veilchenblau fluorescieren (E. Riegler).[1])

3. Man kann die Griesssche Azoreaktion Nr. 2 S. 103 anwenden, und zwar hier mit dem von G. Lunge angegebenen Reagens.

   0,1 g α-Naphthylamin löst man in 20 ccm kochendem Wasser, gießt vom Rückstande ab und gibt 150 ccm verdünnte Essigsäure zu der farblosen Lösung; zu dieser Lösung bringt man eine solche von 0,5 g Sulfanilsäure in 150 ccm verdünnter Essigsäure. Mit Spuren salpetriger Säure entsteht Rotfärbung.

Wenn die Lösung rot geworden sein sollte (salpetrige Säure der Luft), dann schüttelt man sie mit Zinkstaub und filtriert.

4. Nitrosoindolreaktion. Man versetzt 2 ccm Harn mit 4 Tropfen 1%iger Indollösung und 2 Tropfen konz. Schwefelsäure; bei Anwesenheit von Nitrit tritt Rotfärbung auf, die beim Verdünnen des Gemisches nach und nach in violett und grün übergeht.
5. 3—4 ccm mit Tierkohle entfärbten Harnes versetzt man mit 3—4 ccm 10%iger Essigsäure und mit höchstens 3 Tropfen 5%iger Ferrocyankaliumlösung. Es entsteht bei Anwesenheit von Nitriten eine intensive Gelbfärbung (Bildung von Ferricyankalium) (Schäffer-Jolles).
6. Versetzt man etwa 10 ccm Harn mit einer Messerspitze Resorcin und etwa 3 ccm verdünnter Salzsäure und erwärmt zum Kochen, so entsteht Rotfärbung, wenn Nitrit vorhanden ist. Die Nitrite zeigen also eine der Seliwanoffschen Probe ähnliche Reaktion.

17. Wasserstoffsuperoxyd. Hydroperoxyd. H_2O_2.

Es wurde von Schönbein im Harne nachgewiesen.

Nachweis.

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

Wenn man eine Wasserstoffsuperoxyd enthaltende Flüssigkeit mit alkoholfreiem Äther und einem Tropfen Kaliumdichromatlösung schüttelt, so färbt sich der Äther blau (in Äther lösliche Überchromsäure).

(Kontrollversuche anstellen!)

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1896. **35.** 677 und 1897. **36.** 377.

18. Gase im normalen Harne.

Nach Untersuchungen von G. Wurster, A. Schmidt u. a. enthält jeder saure Harn Kohlensäure, die sich durch einen durchgeleiteten Luftstrom zum größten Teil entfernen läßt; die Menge beträgt im Liter 60—80 ccm. Geringere Mengen Kohlensäure sind gebunden in Form saurer Salze vorhanden.

Planer fand im Mittel 63,0 ccm freie und 30,7 ccm gebundene, Pflüger 174 und 188 ccm freie und 2 und 9,2 ccm gebundene, wie man sieht recht wechselnde Mengen. W. Denis und A. S. Minot fanden bei gemischter Kost im 24stündigen Harne zwischen 20 und 211 ccm, abhängig von der Zusammenstellung saurer und basischer Nährstoffe.

Bei neutraler und mehr noch bei alkalischer Reaktion des Harnes nimmt die Kohlensäuremenge wesentlich zu; es ist dann fast mehr als die Hälfte gebunden, die erst nach Säurezusatz frei gemacht werden kann. Nach anstrengenden Gängen, durch Steigerung der Herz- und Atmungstätigkeit, auch nach Einnehmen von kohlensauren oder pflanzensauren Alkalien nimmt der Gehalt an Kohlensäure zu.

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

Nachweis der Kohlensäure.

Er erfolgt dadurch, daß man durch Kalilauge von Kohlensäure befreite Luft durch den Harn leitet und diese Luft wieder durch klares Barytwasser, aus reinstem von NaOH freiem Ätzbaryt hergestellt, streichen läßt. Man verfährt also ähnlich, wie beim Nachweise des Schwefelwasserstoffes S. 93. Eine Trübung des Barytwassers zeigt Kohlensäure an. Gebundene Kohlensäure entweicht erst nach Zusatz von Säure.

Quantitative Bestimmung.

Man leitet, wie eben angegeben, durch eine abgemessene Menge Harn 4—5 Stunden lang einen kräftigen, durch Kalilauge von Kohlensäure befreiten Luftstrom und diese Luft durch eine bestimmte Menge einer $^1/_{10}$ Normalbarytlösung, die man gegen eine $^1/_{10}$ Normalsäure eingestellt hat. Man titriert den nicht verbrauchten Ätzbaryt mit der $^1/_{10}$ Normalsäure zurück.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10} \text{ n-Ba(OH)}_2 = 0{,}0044 \text{ g } CO_2.$$

Beurteilung.

Ganz genaue Resultate werden nicht erhalten.

Nach Berthelot enthält der Harn keinen freien Sauerstoff; die von anderen Forschern gefundenen geringen Mengen scheinen auf Versuchsfehler zurückzuführen zu sein.

In einem Liter Menschenharn wurden durch Evakuieren und Erwärmen des Harnes 100—200 ccm Gas gefunden, worin 83—95 Vol. % Kohlensäure, 6—16 % Stickstoff und 0,5 % Sauerstoff nachzuweisen waren.

B. Organische Stoffe.

1. *Aceton. Dimethylketon.* $CH_3—CO—CH_3$.

Zu 0,01 g bis 0,03 g wird das Aceton, das von W. Petters 1857 im diabetischen Harne aufgefunden wurde[1]), auch nach den Untersuchungen von S. Cotton[2]) in der Tagesmenge Urin von Gesunden ausgeschieden, so daß es als ein normales Produkt im Körper zu betrachten ist, das nach Cotton durch Oxydation sowohl von ternären, wie quaternären Substanzen entsteht, die bei der Ernährung auftreten. Normal ist die Ausscheidung am größten bei überwiegender Eiweißnahrung und am geringsten bei kohlenhydratreicher Kost. Im Hunger kann 15—30mal mehr Aceton als sonst ausgeschieden werden; Mangel an Sauerstoff bedingt eine Vermehrung (siehe S. 110). R. v. Jaksch, E. Legal, R. Waldvogel u. a. konnten in den innerhalb 24 Stunden von normalen gesunden Menschen entleerten Harnmengen eine Substanz isolieren, die die Reaktionen des Acetons gab; sie betrachten dieses Vorkommen als physiologische Acetonurie.[3]) Der Acetongehalt wird aber im Harne ganz beträchtlich vermehrt bei solchen Krankheiten, bei solchen pathologischen Prozessen, die einen vermehrten Zerfall des Eiweißes zur Folge haben, so daß also der nachweisbare Gehalt an Aceton im Harne meist auf einen pathologischen Harn schließen läßt. Ungemein häufig ist diese Acetonausscheidung (Acetonurie) bei fieberhaften, akuten und chronischen Verdauungsstörungen der Kinder (febrile Acetonurie). Kinder haben eine ausgesprochene Neigung zu Acetonurie, die bei diesen auch ohne Verdauungsstörungen auftreten kann. In vorgeschrittenen Diabetesfällen und zumal nach reiner Eiweißkost ist stets Aceton in ziemlich reichlicher Menge (es sollen 3—6 g in dem ausgeschiedenen Harne vorhanden sein können, einmal im Koma wurden sogar 56,8 g in der Tagesmenge vorgefunden) vorhanden (diabetische Acetonurie), ebenso bei kachektischen und anämischen Zuständen, bei bestimmten Formen von Carcinomen (carcinomatöse Acetonurie nach v. Jaksch), bei sog. hungernden Krankheiten.

Eine digestive Acetonurie kennt Lorenz bei Digestionsstörungen als Begleiterscheinung zugleich mit dem Auftreten von Acetessigsäure.

Als toxische Acetonurie bezeichnet man das Auftreten von Aceton im Harne nach Vergiftungen mit Phosphor, Kohlenoxyd, Atropin, Antipyrin, nach chronischer Bleivergiftung; Narkose ruft eine mehrere Tage anhaltende starke Acetonurie hervor.

Ist der Harn reich an Aceton, so deutet schon darauf der wein- bis obstartige Geruch hin. Oft ist der Geruch in der vom Kranken ausgeatmeten

[1]) Der Äpfelgeruch des Atems eines Diabetikers war zuerst E. Brand (Deutsche Klinik 1850, Nr. 6) an der medizin. Klinik Erlangen aufgefallen. (E. Ebstein a. a. O.)

[2]) Journ. Pharm. Chim. 1899. 6. Sér. **10.** 193.

[3]) E. Pittarelli, Rif. med. 1920. **36.** 303; Chem. Centralbl. 1921. **92.** 111. Physiologische Acetonurie soll es nicht geben, im Harne soll sich niemals freies Aceton finden, sondern nur eine acetonbildende Substanz.

Luft zu bemerken, während im Harne noch kein Aceton nachweisbar ist; 20—40% des Acetons können durch die Lungen ausgeschieden werden. Nach Untersuchungen und Beobachtungen soll das Aceton als Zersetzungsprodukt stickstoffhaltiger Gewebsbestandteile aufzufassen sein. F. Blumenthal und C. Neuberg nehmen an, daß sowohl das Eiweiß als auch die Kohlenhydrate (nach v. Jaksch durch abnorm starke Milchsäuregärung der Kohlenhydrate im Darmkanal) und besonders das Fett — nach F. Blumenthal[1]) können sowohl Eiweiß, wie auch Fett direkt oder indirekt die Quelle der Bildung von Aceton sein — unter Umständen die Ursache der Acetonbildung abgeben können.

Nach G. Embden[2]), L. Borchardt[3]) u. a. sind einzelne Aminosäuren (Leucin, Tyrosin) Muttersubstanzen der β-Oxybuttersäure.

Kohlenhydrate kommen aber bei der Acetonkörperbildung nicht in Betracht; sie wirken antiketoplastisch; bei reichlicher Zufuhr wird die Ausscheidung der Acetonkörper herabgesetzt, bei Kohlenhydratmangel, bei einseitig fettreicher Nahrung tritt Vermehrung ein.

Nach H. Chr. Geelmuyden[4]) entstehen die Acetonkörper aus Fett; sie werden wahrscheinlich in allen Organen des Tierkörpers gebildet und vorzugsweise oder ausschließlich in der Leber weiter umgesetzt; die Acetonkörper entstehen, wenn die Glykogenbildung in der Leber stark eingeschränkt ist. Die Oxybuttersäure wird wohl ausschließlich in der Leber gebildet und mit dem Blute nach den übrigen Organen geführt.

Aceton ist häufig neben Acetessigsäure und auch neben β-Oxybuttersäure vorhanden; es ist sichergestellt, daß das Aceton aus der Acetessigsäure entsteht. Diese letztere bildet sich wieder aus der β-Oxybuttersäure durch eine Oxydation im Organismus und zerfällt dann weiter in Aceton und Kohlensäure, so daß die β-Oxybuttersäure als Muttersubstanz von Acetessigsäure und Aceton zu betrachten ist.

Nach G. Denigès kommt in der großen Mehrheit der Fälle, wenn nicht in allen Fällen von Acidose das Aceton in freiem Zustande und zwar allgemein in geringer Menge vor, wenn die Acetessigsäure bei Harnen dissoziiert ist. Die Acetessigsäure und die β-Oxybuttersäure sind die Hauptanzeichen im Harne für Acidose.

Nach L. Blums[5]) Versuchen entsteht aus der Acetessigsäure die β-Oxybuttersäure durch Reduktion; die letztere wäre also sekundär entstanden.

Diese drei erwähnten Substanzen bezeichnet man zusammen nach dem Vorschlage von Geelmuyden als „Acetonkörper".

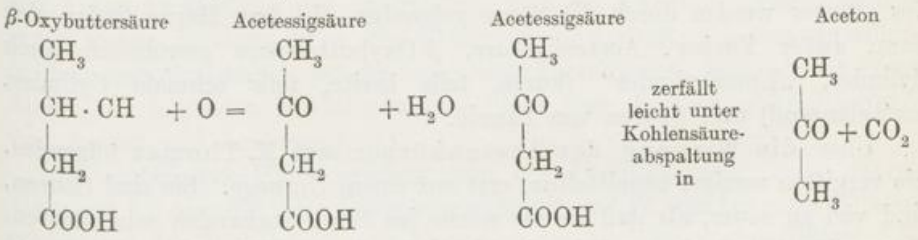
Nach Waldvogel[6]) u. a. kann als wohl sichergestellt angenommen werden, daß die Acetonkörper der Hauptsache nach vom Fette herstammen,

[1]) F. Blumenthal, Pathologie des Harnes. Urban u. Schwarzenberg, Wien 1903 und Handbuch der speziellen Pathologie des Harnes. 1913 ebenda.
[2]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1906. 8. 129.
[3]) Ebenda. 1907. 9. 116.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 48. 255.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1909. 57. 684.
[6]) Die Acetonkörper. F. Enke, Stuttgart 1903.

daß also dieses als wichtigste Quelle der Bildung der Acetonkörper in Betracht gezogen werden muß. Bei der Bildung kommen wohl nur die Fettsäuren in Betracht und zwar nach den Ansichten von Embden und Marx[1]) wieder nur solche, die eine gerade Anzahl Kohlenstoffatome haben; ein kräftiger Acetonbildner ist die Normalbuttersäure. Wie eben die normale Zuckerverbrennung, so kann auch die Fettverbrennung leiden und wie bei ersterer als unvollkommenes Oxydationsprodukt der Traubenzucker zur Ausscheidung kommt, so treten bei der letzteren die Acetonkörper im Harne auf, die nicht vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden, sondern je nach der in größerem oder geringerem Grade gestörten Fettverbrennung als Aceton, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure verbleiben; zuerst leidet die Oxydation des Acetons; größere Störungen in der Oxydation veranlassen das Auftreten der Acetessigsäure und dann der Oxybuttersäure, die Vorstufe der Acetessigsäure; in umgekehrter Reihenfolge verschwinden die Acetonkörper bei Behebung der Stoffwechselstörung aus dem Harne; zuletzt ist noch Aceton vorhanden.

Es werden demnach β-Oxybuttersäure und Acetessigsäure meist niemals ohne Aceton im Urin gefunden, wohl aber kann Aceton ohne diese beiden vorhanden sein. Das Auftreten und die Zunahme der beiden erstgenannten Acetonkörper ist nicht selten ein Beweis für die Ausdehnung der Krankheit; deswegen ist das Ergebnis des einwandfreien Nachweises der Acetonkörper immer von weittragender prognostischer Bedeutung.

Es gibt allerdings auch Fälle, wo nur β-Oxybuttersäure vorhanden ist; vermutlich ist in diesen schweren Fällen die Oxydationskraft des Organismus so geschädigt, daß er die gebildete β-Oxybuttersäure nicht einmal zu Aceton oxydieren kann (Mohr).



Die Anschauung, daß Aceton durch erhöhten Eiweißzerfall im Körper gebildet wird, ist heute so gut wie verlassen; es wird bereits allgemein angenommen, daß die Fette, die Fettsäuren, wie oben angeführt wurde, die Hauptquelle der Bildung der Acetonkörper darstellen. Nach K. Thomas[2]) kann jeder gesunde Mensch sich in wenigen Tagen in den Zustand des sog. Komas versetzen, wenn er seinen Eiweißverbrauch auf ein Minimum reduziert, die Kohlenhydrate meidet und nur vom Fette allein lebt. Man bekommt dann die gleichen Erscheinungen, wie der schwer Zuckerkranke im Koma,

[1]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1908. **11**. 318.
[2]) Zeitschr. angew. Chem. 1921. **34**. 601.

der Harn unterscheidet sich vom Zuckerkranken nur dadurch, daß der Zucker im Harne fehlt. Dies findet seine Erklärung eben darin, daß eine unvollständige Verbrennung, eine nicht genügende Sauerstoffzufuhr stattfindet, veranlaßt durch das Fehlen von Kohlenhydraten, die reich an Sauerstoff sind und von diesem weniger für die Verbrennung erfordern; das an Sauerstoff arme Fett dagegen braucht große Mengen davon zur Verbrennung. Da der Organismus im Laufe der erforderlichen kurzen Zeit nicht so viel Sauerstoff liefern kann, entstehen aus dem Fette bei dessen Verbrennung unvollständige Oxydationsprodukte; kann die Verbrennungsdauer verlängert werden und dies trifft zu, wenn eine Mischung von Kohlenhydraten und Fett verbrannt wird, so genügt die hier größere Zufuhr von Sauerstoff aus der Verbrennung der Kohlenhydrate für eine vollständige Verbrennung des Fettes. Die Kohlenhydrate wirken, wie schon Seite 108 hervorgehoben, antiketogen, da sie die Fettmenge, die augenblicklich verbrannt werden soll, herabsetzen.

Als Organ der Bildung der Acetonkörper wird man in erster Linie die Leber anzunehmen haben. — Wenn die Oxydations- und Stoffwechselstörungen beim Diabetes bedeutende geworden sind und es nur noch zur Bildung der β-Oxybuttersäure und der Acetessigsäure kommt, dann kann die sogenannte Acidosis, das Koma diabeticum, eine Überproduktion von Säure, also in gewissem Sinne eine Säurevergiftung eintreten; der Organismus kann zwar durch vermehrte Ammoniakbildung — wir beobachten in schweren Diabetesfällen eine stärkere Ammoniakvermehrung auf Kosten der Harnstoffbildung und durch Eiweißzerfall — dieser Vergiftung entgegentreten, die Acetonkörper können durch die Nieren entfernt werden, es wird aber in den schweren Fällen der Zustand des Koma sich wiederholen, die Alkalien des Blutes werden durch die Säure gebunden. In dem Harne finden sich dann außer Zucker, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure gewöhnlich auch Cylinder, „Komacylinder“ (kurze, teils breite, teils schmale Cylinder, mattglänzend) und Spuren von Eiweiß.

Über die Wirkung der Acetonkörper sagt K. Thomas folgendes. Sie vergiften weniger unmittelbar, erst auf einem Umwege. Sie sind Säuren, sind viel zu sauer, als daß sie als solche im Blute vorhanden sein dürften. Sie werden soweit als möglich, als Alkalisalze in den Harn übergeführt und entziehen dem Körper und insbesondere dem Blute große Mengen von Natrium. Das Natrium wird zum Transporte der Kohlensäure vom Gewebe in die Lungen gebraucht. Die Abatmung der Gewebe ist also erschwert und die Selbstvergiftung zum großen Teile eine Vergiftung mit Kohlensäure am Orte ihres Entstehens. Ist kein Natrium zum Neutralisieren mehr da, so wird die Harnstoffbildung eingeschränkt und das Ammoniak zum Binden der Acetonkörper gebraucht. Ammoniumsalze sind aber nicht ganz harmlos, sie dringen überall hin durch die Wände aller Zellen hindurch und stören dann deren Stoffwechsel.

F. Blumenthal möchte, da die Entstehung der β-Oxybuttersäure auch auf eine Störung des Eiweißabbaues zu beziehen ist, das Koma als einen

Symptomkomplex, verursacht in erster Linie durch die Abartung des Eiweißabbaues, vermehrtes Auftreten von Polypeptiden in der Zirkulation, und die Acidosis als sichtbaren Ausdruck für die Schwere der Stoffwechselstörungen, die wir beim Koma diabeticum vor uns haben, gewissermaßen als Indicator dieser ansehen.

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

Darstellung und Gewinnung aus dem Harne.

Auf Acetonanwesenheit zu prüfender Harn muß möglichst sofort untersucht werden; man prüft den Harn auch auf Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure, Zucker und untersucht ihn mikroskopisch (Külzsche Zylinder).

Zum einwandfreien Nachweise des Acetons erscheint es geboten, den Harn zu destillieren und das Destillat für die nachstehend verzeichneten Reaktionen zu verwenden. Es ist bekannt und erwiesen, daß die Art der Destillation von wesentlichem Einflusse auf das Destillat sein kann. Wir müssen uns vergegenwärtigen, daß im Harne erstens einmal präformiertes Aceton vorhanden sein kann und daß andererseits dieses durch Zerfall von vorhandener Acetessigsäure bei der Destillation gebildet worden ist; so wird besonders durch Zusatz von Säuren, durch Anwendung größerer Wärme bei der Destillation dieser Zerfall der Acetessigsäure in Aceton und Kohlensäure leicht bewirkt.

Nach E. Salkowski sollen Ansäuren (mit reichlichen Mengen Schwefelsäure) und anhaltende Destillation (etwa auf $^1/_8$ Vol.) vermieden werden, da im Harne vorhandene Kohlenhydrate, wie auch Borchardt zeigte, flüchtige ketonartige Produkte geben können, die Jod binden, auch Aceton vortäuschen können. Zweckmäßig verwendet man gar keine Säure, oder nur soviel, als zur Bindung von freiwerdendem Ammoniak ausreicht. Am besten verfährt man in folgender Weise.

Man unterwirft 100 ccm Harn — Mauban verwendet neutralisierten Harn und destilliert im Vakuum — der Destillation und fängt das gut gekühlte Destillat in einer am besten mit Eis gekühlten Vorlage — Erlenmeyerkolben — auf.[1]) Damit keine Acetondämpfe entweichen, ist die Vorlage mit einem doppeltdurchbohrten Korke versehen; in der einen Bohrung befindet sich der Vorstoß des Kühlers, in der anderen ein mit Wasser zur Hälfte angefüllter Kugelapparat. Am zweckmäßigsten ist die Destillation bei etwa 50° unter Anwendung der Saugpumpe, also im Vakuum. Man destilliert unter guter Kühlung etwa 20—30 ccm ab und stellt mit dem Destillate, in dem sich das Aceton bei weitem sicherer nachweisen läßt, als im Harne direkt, die folgenden Reaktionen an. Siehe auch Acetessigsäure, Trennung von Aceton und Acetessigsäure.

In einfacherer Weise gewinnt man das Destillat, wenn man 100 ccm Harn mit 2,5 ccm 50%iger Essigsäure ansäuert und 25 ccm bei guter Kühlung sowohl bei der Destillation, wie besonders des Destillates abdestilliert. Bei dieser Art der Isolierung wird aber vorhandene Acetessigsäure gespalten.

Qualitativer Nachweis. Jodoformprobe.

1. Eine Probe des Destillates, einige Kubikzentimeter, mit etwas Jodjodkaliumlösung (Lugolscher Lösung) versetzt, gibt auf Zusatz von einigen Tropfen starker Natronlauge eine gelbliche Fällung, Abscheidung von Jodoform, das schon in geringster Menge an seinem bekannten Geruche zu erkennen ist [A. Liebensche[2]) Jodo-

[1]) Einen Mikrodestillator empfiehlt H. Citron, Deutsch. med. Wochenschr. 1920. **46.** 1439.
[2]) Ann. Chem. Pharm. Suppl. 1870. **7.** 236.

formprobe]. Das Jodoform bildet gelbe sechsseitige Täfelchen; es kann sich aber auch amorph abscheiden.

Beurteilung.

Vorhandener Alkohol gibt auch die Liebensche Reaktion; bei Gegenwart von Alkohol wendet man nach Gunning[1]) Le Nobel Ammoniak und Jodjodammonium an. 5 ccm Harndestillat versetzt man mit 5 Tropfen (bei geringen Acetonmengen 10 Tropfen) 10%igem Ammoniak und mit Jodjodammoniumlösung (1:2:100) bis zur schwachen Gelbfärbung; man muß aber einige Zeit, manchmal ziemlich lange, bis zum Verschwinden des schwarzen Niederschlages (Jodstickstoff) stehen lassen, um das abgeschiedene Jodoform zu erkennen. Schwicker[2]) verfährt ähnlich.

Alkohol läßt sich neben Aceton auch durch die Bildung des Benzoesäureäthylesters (Berthelot) nachweisen; man versetzt zu diesem Zwecke die Lösung mit einigen Tropfen Benzoylchlorid, erwärmt gelinde und gibt bis zur schwach alkalischen Reaktion Sodalösung hinzu. Bei Anwesenheit von Alkohol tritt der äußerst angenehme Geruch des Benzoesäureäthylesters auf, der durch Ausschütteln der Lösung mit Äther von diesem aufgenommen wird und nach dem Verdunsten des Äthers an der Luft hinterbleibt. Im Harne direkt sind, wie erwähnt, diese Proben nicht anwendbar. Acetaldehyd gibt die Liebensche Probe auch, doch nicht nach der Modifikation der Probe nach Gunning.

H. Mauban[3]) führt die Liebensche Probe etwas anders aus. Er mischt, ohne zu schütteln, 8—10 ccm Harn mit 4—5 ccm Natronlauge und filtriert. In ein Reagenzrohr von 12 mm Durchmesser bringt man vom Filtrate bis zu einer Höhe von 3—4 cm und fügt dann vorsichtig tropfenweise 10—12 Tropfen Gramsche Flüssigkeit hinzu (1,0 Jod, 2,0 Jodkalium, 300 ccm Wasser), so daß eine Schicht von etwa $^1/_2$ cm über dem alkalischen Harne steht. Durch leichtes Schütteln mischt man beide Flüssigkeiten in einer Höhe von 1—$1^1/_2$ cm, wodurch die obere Schicht farblos und klar wird. Bei Anwesenheit von Aceton bildet sich je nach der Menge zwischen 1 Sekunde bis 5—6 Minuten an der Berührungsstelle beider Schichten ein aus kleinen Jodoformkrystallen bestehender weißgelblicher Niederschlag. Eine nach 6 Minuten entstehende Ausscheidung kann von anderen Stoffen herrühren.

Die Reaktionen nach Krämer-Messinger sind identisch mit der Liebenschen Probe.

2. E. Legalsche Probe.[4])

Versetzt man einige Kubikzentimeter (5 ccm) des filtrierten Harnes oder besser des Destillates mit einigen Tropfen (5) frisch bereiteter — Legal verwendete frisch bereitete; gut vor Licht geschützt hält sich die Lösung länger —, kalt hergestellter, gesättigter Nitroprussidnatriumlösung und macht darauf mit Natronlauge (1 ccm 15%iger) alkalisch, so färbt sich die Flüssigkeit rubinrot (diese Färbung tritt, durch das in größerer oder in geringerer Menge vorhandene Kreatinin bedingt, in fast jedem Harne auf, wenn dieser, nicht das Destillat verwendet wurde); auf vorsichtigen Zusatz von Essigsäure bis zur stark sauren Reaktion entsteht bei Anwesenheit von Aceton eine karminrote bis purpurrote Färbung, die nach längerer Zeit durch violett in blau (grünblau) übergeht (Unterschied nach Zusatz von Essigsäure von der Kreatininreaktion, bei der nach Essigsäurezugabe die rote Farbe gelb wird).

Beurteilung.

Eine für die Praxis zwar empfehlenswerte, doch allein nicht beweiskräftige, auch nicht empfindliche Probe.

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

---

[1]) Journ. Pharm. Chem. [5] 1881. **4.** 30.
[2]) Chem. Ztg. 1891. **15.** 914.
[3]) Thèse de Paris 1905.
[4]) Breslauer ärztliche Zeitschr. 1883. 3 u. 4; Jahresber. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur 1882. 89.

Harn nach Einnehmen von Aloë soll eine ähnliche Reaktion geben (Eschbaum). Nach A. Troise[1]) gibt Harn nach Gebrauch von Istizin, wie von Phenolphthalein eine violette Färbung. Mit Aldehyd, Acetessigsäure tritt die Reaktion ebenfalls positiv auf, was bereits von E. Salkowski festgestellt wurde.

P. Bohrisch (l. c.) läßt 5 ccm Harn oder Destillat mit 5 Tropfen 10%iger Nitroprussidnatriumlösung versetzen und dann 1 ccm 15%iger Natronlauge zufügen. Beim Auftreten einer roten oder rotgelben Färbung wird sofort mit Essigsäure neutralisiert, wobei bei Anwesenheit von viel Aceton eine rotviolette Färbung, von mäßigem Gehalte eine weinrote, von wenig Aceton eine rosaviolette Färbung entsteht.

O. Mayer[2]) schüttelt 10 ccm Harn mit 0,05—0,1 g gepulvertem Nitroprussidnatrium, setzt nach dem Lösen 1 ccm der Lauge zu und dann 2 ccm Essigsäure; er hält die Probe in dieser Form für genügend empfindlich und empfiehlt sie zur kolorimetrischen quantitativen Bestimmung von Aceton.

Eine empfehlenswerte Abänderung der Legalschen Probe gibt F. Lange[3]) an.

Der Harn wird mit „einem Schuß" Eisessig (auf 15 ccm Urin 0,5—1 ccm Eisessig), dann mit einigen Tropfen frisch bereiteter Nitroprussidnatriumlösung versetzt; man läßt vorsichtig einige Kubikzentimeter Ammoniak zufließen, so daß dieses über dem Gemische von Harn und Säure geschichtet bleibt. Bei Anwesenheit von Aceton entsteht an der Berührungsstelle ein intensiv violettroter Ring, der schließlich schwarz wird. Kreatinin soll nicht störend wirken. Imberts Reagens ist eine Mischung aus 10 g Eisessig und 10 ccm (0,1 ccm nach anderer Angabe) einer 10%igen Nitroprussidnatriumlösung. Man versetzt 15 ccm Harn mit 20 Tropfen dieser Mischung und überschichtet mit 20 Tropfen Ammoniak. Violette Zone bei Acetonanwesenheit.

A. C. H. Rothera läßt 5—10 ccm Harn mit festem Ammoniumsalz (Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid), dann mit einigen Tropfen 5%iger Nitroprussidnatriumlösung und 1—2 ccm konz. Ammoniak versetzen. Das Ammoniumsalz wirkt wie der Zusatz freier Säure und läßt die mit Kreatinin eintretende Färbung verschwinden, während bei Anwesenheit von Ketonen der Farbenumschlag charakteristisch rot (wie Permanganat) wird.

C. le Noble[4]) verwendet auch Ammoniak.

3. Die von E. Rimini[5]) als Abänderung der Legalschen Probe vorgeschlagene Methode empfiehlt E. Kraft[6]) in folgender Ausführung: Der Harn wird direkt mit einer frisch bereiteten Nitroprussidnatriumlösung versetzt; dann werden auf die Oberfläche der Flüssigkeit einige Tropfen einer 10%igen Äthylendiaminlösung gebracht, die man langsam an der Glaswandung des schräg gehaltenen Reagenzglases hinablaufen läßt. Bei Anwesenheit von Aceton entsteht an der berührten Fläche des Harnes ein hell- bis tiefroter Ring, der um so rascher sich bildet und um so dicker erscheint, je reicher der Harn an Aceton ist.

Beurteilung.

Nach Bohrisch ist die Probe nicht besonders empfindlich.

4. Probe nach F. Penzoldt.[7])

Nach A. v. Baeyer und V. Drewsen[8]) gibt Aceton mit einigen Tropfen Kalilauge und etwas Orthonitrobenzaldehyd Indigo.

Es entsteht erst o-Nitrophenylmilchsäuremethylketon, das beim Erwärmen unter Abgabe von Wasser und Essigsäure Indigo bildet.

Man löst einige Kryställchen Orthonitrobenzaldehyd in heißem, nicht siedendem Wasser und gibt nach dem Erkalten von der zu

[1]) Annal. Chim. anal. appl. 1922. [2] **4.** 177; Chem. Centralbl. 1922. **93.** IV. 1160.
[2]) Archiv Hyg. 1909. **88.** 184; Zeitschr. physiol. Chem. 1919. **104.** 220.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 1764.
[4]) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1883. 741; Zeitschr. analyt. Chem. 1885. **24.** 148.
[5]) Ann. Farm. 1898. 193; Chem. Ztg. 1898. **22.** Rep. 159. 199.
[6]) Apoth. Ztg. 1905. **20.** 384.
[7]) Archiv klin. Mediz. 1883. **34.** 131.
[8]) Berl. Bericht. 1882. **15.** 2860.

prüfenden Flüssigkeit und Natronlauge hinzu; bei Acetongegenwart färbt sich die Flüssigkeit gelb, dann grün, dann blau; der gebildete Indigo, der auch unterm Mikroskope nachgewiesen werden kann, geht beim Schütteln mit Chloroform in dieses über und kann weiter identifiziert werden. Bei geringen Acetonmengen wird die Flüssigkeit nicht blau, sondern bleibt gelb oder grün. Beim Ausschütteln mit Chloroform wird aber letzteres gebläut (s. Indigo).

Beurteilung.

Die Penzoldtsche Probe ist, wie auch W. Ellram[1]), sowie R. v. Melckebeke[2]) nachwiesen, eine einwandfreie Probe, wenn nicht recht geringe Mengen Aceton, unter 1,6 mg, in der verwendeten Harnmenge vorhanden sind.

Bohrisch empfiehlt, einige Orthonitrobenzaldehydkrystalle in etwa 5 ccm des Destillates zu lösen (Einstellen des Reagenzglases in Wasser von 50°) und nach dem Erkalten etwa 1 ccm 15%iger Natronlauge zuzusetzen. Wenn wenig Aceton vorhanden ist, entsteht die Blaufärbung erst nach längerer Zeit.

Mit Aldehyd und Acetessigsäure tritt die gleiche Reaktion ein; Alkohol gibt sie nicht.

5. Die Hydroxylaminprobe nach O. Piloty und A. Stock.[3])

Man versetzt 10 ccm des Destillates mit einem Tropfen einer 10%igen Lösung von salzsaurem Hydroxylamin und einem Tropfen 5%iger Natronlauge, sowie mit 1—2 Tropfen reinen, acetonfreien Pyridins. Hierauf überschichtet man mit etwa 1 ccm Äther, gibt unter Umschütteln Bromwasser bis zur Gelbfärbung des Äthers hinzu und dann ungefähr 1 ccm 2%iges Wasserstoffsuperoxyd. Der Äther nimmt Blaufärbung an, Bildung von blauem Bromnitrosopropan. (Eine ultramarineblaue Flüssigkeit von stechendem, höchst unangenehmem Geruche.)

Blumenthal-Neuberg[4]) verfahren ähnlich.

Froehner[5]) löst in 5 ccm des Destillates einen Krystall Hydroxylaminchlorhydrat, versetzt die Lösung mit Chlorkalklösung und schüttelt mit wenig Äther aus; dieser färbt sich blau.

Beurteilung.

Die Probe ist empfindlich und tritt noch bei Anwesenheit von 0,001 g Aceton ein. Acetaldehyd und Acetessigsäure verhalten sich wie Aceton.

6. Salicylaldehydprobe.

V. Frommer und Emilewicz[6]) benützen die von Tiemann-Kees, R. Fabinyi gefundene Kondensation von Aceton mit Salicylaldehyd; gleiche Moleküle geben Oxybenzoylaceton, dieses geht bei Anwesenheit von starken Alkalien nochmals eine Kondensation ein zu o-Dioxy-Dibenzalaceton, dessen Alkalisalz karmoisinrot gefärbt ist.

Man macht 10 ccm Harn oder Harndestillat mit 1 g festem Kalihydrat alkalisch, setzt sogleich, ohne die Auflösung des Ätzkalis

---

[1]) Chem.-Ztg. Rep. 1899. **23.** 171.
[2]) Chem.-Ztg. Rep. 1899. **23.** 84.
[3]) Dissertat. Berlin 1899; Berl. Bericht. 1898. **31.** 452; 1902. **35.** 3093.
[4]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 6 u. 79.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 79.
[6]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** 1008.

abzuwarten, etwa 10 Tropfen Salicylaldehyd — es wird auch eine Salicylaldehydlösung 1 + 10 abs. Alkohol angegeben, davon werden 1—2 ccm verwendet — hinzu und erwärmt auf etwa 70°. Wenn Aceton vorhanden ist, entsteht ein purpurroter bis karmoisinroter, zuletzt schwarzer Ring. Ohne Erwärmen treten die Farbenveränderungen langsam auf.

Wenn man Harn direkt verwendet, ist nur der entstehende tiefrote Ring für die Acetonanwesenheit beweisend.

Beurteilung.

Ist wohl die schärfste und schönste Reaktion, auch einwandfrei, doch wird sie am besten mit dem Destillate ausgeführt. Noch 0,001% Aceton nachweisbar.

F. A. Čsonka[1]) empfiehlt diese Probe zum quantitativen Nachweis; das Verfahren ist ein kolorimetrisches; N. O. Engfeldt[2]) erhöht die Menge an Kaliumhydrat auf 5 g und nimmt 5 Tropfen konz. Salicylaldehyd; es wird nach dem Erwärmen im Wasserbade während der Auflösung des Kaliumhydrates eine Krystallmasse gebildet, die beim Vorhandensein von Aceton orange bis rot gefärbt ist.

7. Vanillinsalzsäureprobe von L. Rosenthaler[3]).
Es werden 3 ccm einer 1%igen Lösung von Vanillin in Salzsäure mit der gleichen Menge konz. Schwefelsäure gemischt, hiezu unter Umschütteln 3 Tropfen des Harndestillates hinzugegeben und im kochenden Wasserbade erwärmt. Ist Aceton vorhanden, dann färbt sich die Flüssigkeit erst grün, dann violett.

Beurteilung.

Die Probe ist empfindlich, sie tritt mit Acetessigsäure und Acetaldehyd ebenfalls positiv ein. Im Harne direkt sind 0,1% Aceton nicht sicher nachweisbar. Nach Bohrisch schichtet man nach dem Erkalten der Flüssigkeit im Reagenzglase 10—20 ccm Wasser auf; beim Vorhandensein von viel Aceton wird das Wasser in einigen Stunden blau, bei nur wenig Aceton bildet sich an der Berührungsstelle ein violetter Saum, die wässerige Schicht bleibt dann farblos.

8. Man macht 5—6 Tropfen wässeriger Quecksilberchloridlösung (1 : 20) mit alkoholischer Kalilauge (5 ccm $^1/_2$ n.-Lauge, Bohrisch) stark alkalisch und schüttelt damit eine Probe (5 ccm) des zu prüfenden Destillates; bei Gegenwart von Aceton ist die klar filtrierte Flüssigkeit quecksilberhaltig, da Aceton Quecksilberoxyd löst, und gibt mit Schwefelammonium oder Zinnchlorür oder Schwefelwasserstoff und Salzsäure eine Fällung (J. E. Reynolds-Gunning[4]). Die Prüfung mit Schwefelammonium führt man am besten als Ringprobe durch vorsichtiges Überschichten des mit Salzsäure (1 ccm n.-Säure) schwach angesäuerten Filtrates mit dem Reagens aus. Das Ansäuern darf nicht vergessen werden, das Filtrat muß wasserklar sein.

Beurteilung.

Auch Aldehyd löst Quecksilberoxyd, ferner gehen Spuren von Quecksilberoxyd fast immer durchs Filter; das Filtrieren durch ein doppeltes Filter ist meist 3—4mal zu wiederholen. Im Harne direkt ist die Probe nur anwendbar, wenn der Harn mehr als 1% Aceton enthält. Acetessigsäure gibt die Reaktion auch.

9. A. Vournasos[5]) empfiehlt folgenden Acetonnachweis, beruhend auf der Bildung von Isonitril. Als Reagens wird benützt eine Lösung von 1,0 g Jod, 0,5 g Jodkalium und 5 g Methylamin in 50 ccm Wasser oder von 5 g Jod in 50 g reinem Anilin (Siedepunkt 183,7°). Man versetzt 10 ccm filtrierten Harn, der frei von Alkohol, Chloroform, Milchsäure sein muß, mit 1 ccm 10%iger Natronlauge, bringt zu dem Filtrate 1 ccm des Reagens und kocht. Es entsteht bei Anwesenheit von Aceton der bekannte abscheuliche Isonitrilgeruch (Methylcarbylamin).

Beurteilung.

Die Probe ist zwar empfindlich, aber nicht einwandfrei, auch ist sie umständlich. Das Reagens muß immer frisch hergestellt werden; Milchsäure, Alkohol, Chloroform dürfen nicht vorhanden sein, außerdem ist das Destillat des alkalisch gemachten Harnes zu verwenden.

[1]) Journ. of Biol. Chem. 1916. **27.** 207.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1915. **52.** 458. 796.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1905. **44.** 292.
[4]) Proc. Roy. Soc. 1871. **19.** 431; Journ. Pharm. Chim. 1881. [5] **4.** 30.
[5]) Bull. soc. chim. Paris 1904. [3] **31.** 137.

10. B. Bardach[1]) läßt zu 3 ccm klarem Harne 1 ccm 3%ige Peptonlösung, 1—2 ccm Lugolsche Lösung (4 J, 6 KJ, 100 H_2O) und 2 ccm Ammoniak zufügen. Es soll eine mindestens 10 Minuten andauernde Schwarzbraunfärbung eintreten, außerdem war der Jodzusatz zu gering; man läßt etwa $1^1/_2$ Stunden stehen, worauf man mit Salzsäure zum Lösen von Phosphaten ansäuert; bei Anwesenheit von Aceton soll nach etwa 1 Stunde ein Niederschlag von feinen Krystallen entstehen.

Zuckerhaltige Harne erfordern den Zusatz größerer Mengen der Jodlösung.

Beurteilung.

Auch andere Stoffe können die Reaktion geben.

Zum Nachweise von Aceton wurden noch viele andere Reaktionen empfohlen, die ich der Vollständigkeit wegen und aus dem Grunde aufzähle, da der Untersuchende nach einer oder der anderen dieser Proben gefragt werden könnte. Sie kommen kaum zur Anwendung, da sie teils weniger empfindlich, teils weniger einwandfrei, auch manchmal umständlicher, als die schon aufgeführten sind.

Reaktion nach Baeyer-Villiger.[2]) Man versetzt 3 ccm einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung mit 10 ccm konz. Schwefelsäure unter Eiskühlung. 1 ccm von diesem Reagens mit Eis gekühlt gibt mit 1 Tropfen Aceton vermischt einen krystallinischen Niederschlag. (Bildung von Acetonsuperoxyd.)

Nach Béla von Bitto[3]) wird eine mit Kaliumhydrat alkalisch gemachte Metadinitrobenzollösung in absolutem Alkohol durch Aceton violett, nach Zusatz einer organischen Säure oder von Metaphosphorsäure kirschrot; die durch Aldehyd erzeugte violettrote Trübung wird durch Säuren gelbrot. Die Angabe darüber stammt von J. V. Janovsky.

Nach Bohrisch werden 3 ccm 1—2%iger Metadinitrobenzollösung in absolutem Alkohol schwach erwärmt, mit einigen Tropfen Kalilauge und dann mit 10 ccm Harndestillat versetzt. Die angegebene Färbung erfolgt, wenn viel Aceton vorhanden ist; bei vorsichtigem Zusatze von Essigsäure tritt die violettrote Färbung ein.

F. Blumenthal und C. Neuberg[4]) verwenden die Rot- und Violettfärbung von p-Nitrophenylhydrazon mit alkoholischer Kalilauge bei Anwesenheit von Aceton.

Chautard[5]) benutzt Fuchsinschwefligesäure. Collo[6]) oxydiert vorhandenes Aceton durch Wasserstoffsuperoxyd zu Essigsäure und weist diese durch Überführung in den Essigester nach.

Nach G. Denigès[7]) erwärmt man gleiche Mengen Harn und Reagens (5 g Quecksilberoxyd werden warm in 20 ccm konz. Schwefelsäure und 100 ccm Wasser gelöst); es entsteht eine Trübung oder ein Niederschlag, wenn Aceton vorhanden ist.

C. Oppenheimer[8]) verfährt ähnlich, nur läßt er 3 ccm Harn mit dem Reagens im Überschusse versetzen, absitzen, filtrieren und das Filtrat mit 2 ccm Reagens und 3—4 ccm 30%iger Schwefelsäure zum Sieden erhitzen. Bei Acetonanwesenheit (auch bei Acetessigsäure) entsteht ein weißer Niederschlag, in Salzsäure löslich. Soll 1 : 50000 empfindlich sein.

W. Ellram[9]) gibt zu 2—3 ccm des Harndestillates 1 Tropfen wässeriger Furfurollösung (1 : 20) und schichtet diese Mischung vorsichtig über 2 ccm konz. Schwefelsäure; beim leichten Erwärmen entsteht an der Berührungsstelle sofort, beim Stehen nach einigen Minuten eine rosarote Färbung.

Malerba[10]) verwendet eine Lösung von 2—5 g Dimethyl-p-Phenylendiaminchlorhydrat in 100 ccm Wasser. Gibt man einige Tropfen davon zu der zu prüfenden Flüssigkeit, so wird die violette Farbe rosa, nach 12 bis 24 Stunden rot; im Spektroskope erscheinen zwischen *D* und *E* zwei dem Oxyhämoglobinstreifen ähnliche Streifen. Alkali macht die Trübung verschwinden, durch Säure tritt sie wieder violett auf.

M. Sternberg[11]) gibt zu einer mit Phosphorsäure angesäuerten wässerigen Acetonlösung wenig Kupfersulfatlösung und Jodjodkaliumlösung, wodurch eine bräunliche Trübung entsteht; beim Erwärmen tritt Entfärbung ein unter Abscheiden eines grauweißen Niederschlages.

Studers[12]) Acetonprobe ist im wesentlichen die Legalsche Probe.

---

[1]) Zeitschr. innere Mediz. 1909. **30.** 785; Zeitschr. analyt. Chem. 1910. **49.** 103. 438.
[2]) Berl. Bericht. 1900. **33.** 125.
[3]) Annal. Chem. Pharm. 1892. **269.** 377.
[4]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 6 u. 79.
[5]) Archiv Pharm. 1886. **65.** 366.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1905. **2.** 667.
[7]) Compt. rend. 1898. **126.** 1868; **127.** 963; Zeitschr. analyt. Chem. 1899. **40.** 416.
[8]) Berl. klin. Wochenschr. 1899. **36.** 828.
[9]) Chem.-Ztg. 1899. **23.** Rep. 171.
[10]) Répert. de Pharm. 1895. 324; Chem. Ztg. Rep. 1895. **19.** 82.
[11]) Zentralbl. Physiol. 1901. **15.** 69.
[12]) Chem.-Ztg. 1898. **22.** Rep. 127.

L. Willens[1]) Reaktion gründet sich auf die reduzierenden Eigenschaften des im Destillate enthaltenen Acetons gegenüber Kaliumpermanganat.

R. Fritzsch gibt die von Rosenthaler beobachtete Farbenreaktion von Aceton mit Rhamnose und Salzsäure an; mit einigen Tropfen 5%iger Rhamnoselösung und konz. Salzsäure gibt Acetonlösung eine beständige fuchsinrote Färbung.

Wahl der Methode.

Für eine genaue Prüfung des Harnes auf Aceton ist dessen Isolierung, wie angegeben, unerläßlich, da für alle Proben gilt, daß sie bei Verwendung des Harndestillates wesentlich schärfer sind; mit dem Destillate stellt man Probe 6, 2, 4, 1, 5, 3 an; auf eine Probe allein darf man sich nicht verlassen. Zur direkten Prüfung des Harnes auf Aceton, wenn dieses in größeren Mengen vorhanden ist, wendet man die Salicylaldehydprobe, die Penzoldtsche und die Legalsche Probe für die Vorprüfung an.

P. Bohrisch[2]) hat die Brauchbarkeit der verschiedenen für den Nachweis des Acetons im Harne empfohlenen Methoden kritisch geprüft und schlägt folgenden Gang für den einwandfreien Nachweis des Acetons vor:

Der Harn wird direkt mit dem Reagens von Frommer-Emilewicz geprüft; entsteht kein roter oder rötlicher Ring, sondern nur eine Gelbfärbung, so ist Aceton sicher abwesend. Tritt Rotfärbung ein, kann Aceton zugegen sein. Ist die Färbung stark, prüft man den Harn direkt mit der Legalschen, Penzoldtschen oder Fröhnerschen Probe. Fallen auch diese positiv aus, so sind sicher größere Mengen Aceton oder aber auch Acetessigsäure vorhanden. Ob letztere zugegen ist, sagt die Ätherausschüttelung. 50 ccm Harn werden mit Schwefelsäure angesäuert und mit 25 ccm reinem, von Alkohol und Aceton freiem Äther ausgeschüttelt. Dieser wird wieder mit 15—20 ccm Wasser behandelt und die mit Äther gesättigte wässerige Flüssigkeit, die das Aceton enthält, in zwei Teile geteilt. Der erste Teil wird mit verdünnter Eisenchloridlösung auf Acetessigsäure geprüft. Entsteht keine violette oder bordeauxrote Färbung, so ist Acetessigsäure abwesend und Aceton muß auf Grund der positiv ausgefallenen Acetonproben vorhanden sein. Tritt eine Färbung mit Eisenchlorid ein, dann wird der zweite Teil der wässerigen Ausschüttelung vollständig vom Äther befreit und mit der Liebenschen oder Gunningschen Probe (Jodoformprobe) auf Aceton untersucht. Ein gelber Niederschlag zeigt Aceton einwandfrei an.

Bei stark gefärbtem Harne wendet man sofort das Ätherausschüttelungsverfahren an und prüft die erhaltene wässerige Lösung nach Frommer-Emilewicz. Tritt eine deutliche Rotfärbung ein, verfährt man weiter, wie angegeben. Entsteht jedoch hiebei nur eine mäßige oder schwache Rotfärbung oder läßt die im schwach gefärbten Harne direkt angestellte Salicylaldehydprobe auf nur geringe Mengen von Aceton schließen, so muß die Destillation ausgeführt werden. Das Destillat wird in mehrere Portionen geteilt und ein Teil nach Frommer-Emilewicz geprüft. Entsteht keine Rotfärbung, so ist Aceton nicht vorhanden. Fällt die Reaktion positiv aus, so untersucht man einen anderen Teil des Destillates mit der Liebenschen oder Gunningschen Probe. Tritt Jodoformbildung ein, so ist Aceton nachgewiesen. Eine dritte Probe des Destillates kann man zur Kontrolle auch nach Penzoldt, Legal, Rosenthaler, Reynolds prüfen.

Quantitative Bestimmung.

Wie schon erwähnt, wird bei der gewöhnlichen Destillation des mit Säure angesäuerten Harnes außer dem präformierten Aceton auch das Aceton, das bei der Destillation durch Zerfall der etwa vorhandenen Acetessigsäure entsteht, ins Destillat übergeführt und demnach auch die Acetessigsäure mit als Aceton bestimmt. Dieses ist der Fall z. B. bei dem Verfahren nach Messinger[3])-Huppert und bei allen den Methoden, bei denen die Destillation in der angegebenen Weise erfolgt. Nur beim vorsichtigen Destillieren des nicht angesäuerten Harnes im Vakuum bei niedriger Temperatur ist es möglich, das präformierte Aceton allein zu bestimmen. Durch Kombinieren der beiden Verfahren ist wieder die getrennte Bestimmung von Aceton und Acetessigsäure durchführbar, worüber am Schlusse der Bestimmungsmethoden berichtet wird.

Die drei ersten Verfahren basieren auf der Eigenschaft des Acetons, mit Jodjodkalium und Kali- oder Natronlauge Jodoform abzuscheiden, indem hiebei ein Molekül Aceton in ein Molekül Jodoform und ein Molekül Essigsäure sich zersetzt; nach dem einen Verfahren (Hilger[4]) und Krämer[5]) wird das abgeschiedene Jodoform gewogen, nach dem anderen (Messinger-Huppert) wird die Acetonmenge aus der zur Bildung des Jodoforms verbrauchten Jodmenge titrimetrisch bestimmt.

Das zweite von Merck angegebene Verfahren beruht auf der Oximbildung des Acetons mit starker alkalischer Hydroxylaminlösung.

---

[1]) Pharm. Centrlh. 1897. **38.** 44.
[2]) Pharm. Centrlh. 1907. **48.** 181.
[3]) Berl. Bericht. 1888. **21.** 3366.
[4]) Ann. Chem. Pharm. 1879. **195.** 316.
[5]) Berl. Bericht. 1880. **13.** 1002.

Verfahren nach Messinger-Huppert.

Das Aceton muß für die folgenden Bestimmungen erst isoliert sein. Acetessigsäure wird mit als Aceton bestimmt. Die Trennung dieser beiden Seite 122.

Man destilliert 500 ccm sauren Harnes — von acetonreichen, auch Fieberharnen, genügen 100 ccm, von einem Harne mit hohem Acetongehalte 20 ccm, die man mit Wasser zu 100—150 ccm verdünnt — nach Zusatz von Essigsäure (2,5 ccm 50%iger auf 100 ccm Harn, anderweitig werden nur 2 ccm 20%iger Essigsäure empfohlen) oder besser noch von feingepulverter Oxalsäure (2 g) oder von Weinsäure (3 g) unter starker Kühlung. Alkalischer Harn wird mit Essigsäure erst auf normale Säure gebracht. Bei Anwendung von 500 ccm Harn destilliert man 200 ccm, bei Anwendung von 100—150 ccm Harn oder Harnmischung 50—60 ccm ab, und zwar in dem Seite 111 beschriebenen Apparate, der luftdicht verbunden sein muß. Das Destillat und das im Kugelapparate oder in einer angefügten Peligotschen Röhre vorgelegte Wasser (die Vorlagen kühlt man am besten mit Eis) werden in einem Kolben vereinigt, mit Calcium- oder Magnesiumcarbonat geschüttelt, um Ameisensäure und salpetrige Säure zu entfernen und nun abermals langsam destilliert. Dieses Destillat und das vorgelegte Wasser werden nach Zusatz von 1 ccm 8fach verdünnter Schwefelsäure nochmals destilliert. (Die salpetrige Säure läßt sich leicht auch durch Zusatz von etwas Harnstoff zu dem ersten Destillate entfernen.) Das letztgewonnene Destillat findet nun Verwendung für die quantitative und titrimetrische Acetonbestimmung.

Durch die nochmalige Destillation wird mit übergegangenes Ammoniak, das durch Schwefelsäure gebunden wird, beseitigt; Phenolätherschwefelsäuren sollen durch die angewendete Säuremenge nicht zersetzt werden; Ameisensäure und salpetrige Säure werden wie angegeben entfernt. Die Stoffe würden bei der Bestimmung von Einfluß sein, da sie auf Jod einwirken können. Bei der angegebenen Menge von Oxalsäure oder Weinsäure soll kein Ammoniak übergehen.

1. Wägen des Jodoforms.

Das auf die eben angegebene Weise gewonnene Destillat wird in einem Becherglase mit reiner Natronlauge und mit Jodjodkaliumlösung versetzt, der entstandene Niederschlag von Jodoform wird 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 Herstellung des Jodoforms in einem Cylinder vornehmen; man gibt 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 g Jodoform = 0,01479 g Aceton.

2. Titriermethode.

Prinzip.

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

$$\text{I. } J_2 + KOH = KOJ + HJ; \quad HJ + KOH = KJ + H_2O.$$
$$\text{II. } 2\,CH_3—CO—CH_3 + 6\,KOJ = 2\,CH_3 . CO . CJ_3 + 6\,KOH.$$
$$2\,CH_3CO . CJ_3 + 2\,KOH = 2\,CHJ_3 + 2\,KC_2H_3O_2.$$

Es werden 6 Moleküle Jod für 1 Molekül Aceton verbraucht; säuert man nach erfolgter Zersetzung des Acetons an, so wird das im Überschusse vorhandene Jod frei und kann mit Natriumthiosulfat titriert werden.

$$KOJ + KJ + 2\,HCl = J_2 + 2\,KCl + H_2O.$$

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{10}$ Normaljodlösung. 12,697 g resublimiertes, über Schwefelsäure getrocknetes Jod werden mit Hilfe von 20 g Jodkalium in einem Literkolben in ganz wenig Wasser (30—50 ccm) gelöst; nach vollkommener Lösung wird zur Marke aufgefüllt.

2. $^1/_{10}$ Normalnatriumthiosulfat. Wegen des wechselnden Wassergehaltes des Natriumthiosulfats löst man 26 g davon zu 1000 ccm Wasser, läßt die Lösung etwa zwei Wochen stehen und stellt sie nun gegen die $^1/_{10}$ Normaljodlösung ein. Sie ist dann lange haltbar.

3. Stärkelösung. S. 58.

Die sicherste Titerstellung der $^1/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung und indirekt der Jodlösung erfolgt mit Hilfe der Volhardschen Methode mit Kaliumdichromat. Man löst 3,8740 g reinstes Kaliumdichromat in 1 Liter Wasser auf und läßt dann 20 ccm der Lösung in eine Stöpselflasche fließen, in die man vorher 10 ccm 10%iger Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure (20%) gebracht hat. Das ausgeschiedene Jod wird mit der Thiosulfatlösung nach Zufügen von Stärkelösung in bekannter Weise titriert (Ende der Reaktion — Eintreten einer schönen grünen Färbung der Flüssigkeit). Jeder Kubikzentimeter der Bichromatlösung macht 0,01 g Jod frei, so daß 20 ccm 0,2 g Jod ausscheiden; für dieses ausgeschiedene Jod müßten, wenn die Thiosulfatlösung genau $^1/_{10}$ normal ist, 15,75 ccm Thiosulfatlösung verbraucht werden. Man kann sich durch die schon angegebene Berechnung die Lösung von Thiosulfat und von Jod ganz normal herstellen, obwohl dies gar nicht nötig ist; 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 Kubikzentimeter 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 entsprechen. Man stellt weiter mit der Thiosulfatlösung die Jodlösung 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 $9{,}75 \cdot 0{,}01333 = 0{,}12996$ g Jod enthalten.

Da die Dichromatlösung sich beliebig lange Zeit unverändert aufbewahren läßt und stets zur Kontrolle des Titers der Hyposulfitlösung vorrätig ist, so ist die umständliche Reindarstellung und das jedesmalige Trocknen und Wägen des Jods erspart.

Ausführung der Bestimmung.

Das vorbereitete Destillat (wie S. 118 angegeben) oder das nach 3 gewonnene Destillat (s. auch Beurteilung), die frei von Phenol, Ammoniak, salpetriger Säure und Ameisensäure sein müssen, bringt man in eine 250 bis 500 ccm fassende Flasche mit gut eingeriebenem Stopfen, gibt 30 ccm nitritfreier Normalkalilauge und dann aus einer Bürette 20—30 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung hinzu, schüttelt $^1/_4$—$^1/_2$ Minute gut um, bis die Lösung klar erscheint und läßt noch etwa 5 Minuten stehen, wobei sich das Jodoform zusammenballt. (L. Krauss[1]) empfiehlt, um einwandfreie Ergebnisse zu erhalten, unter öfterem Umschütteln $^1/_4$ Stunde stehen zu lassen.) Nun säuert man mit so viel Kubikzentimetern Salzsäure (1,025) an, als man Kalilauge verbrauchte, wobei eine Braunfärbung eintreten muß; bleibt diese aus, so war zu wenig Jod zugesetzt worden und man beginnt den Versuch ganz von neuem. Das ausgeschiedene Jod titriert man mit Natriumthiosulfat, bis Gelbfärbung der Lösung eingetreten ist, setzt Stärkelösung hinzu und titriert weiter, bis die Blaufärbung eben verschwindet.

1 ccm der $^1/_{10}$ n-Jodlösung = 0,967 mg Aceton.

[1]) Apoth.-Ztg. 1909. 25. 22.

In ganz ähnlicher Weise bei der Destillation und bei der titrimetrischen Bestimmung verfahren G. Embden u. E. Schmitz. Ich empfehle das Erwärmen nur bei der angegebenen Temperatur.

3. Mercks[1]) Verfahren.

Je nach der vorhandenen Acetonmenge werden 50 dis 250 ccm Harn mit Alkali alkalisch gemacht, um darin befindliche flüchtige Fettsäuren und Phenole zu binden, mit Chlornatrium, noch zweckdienlicher mit Chlorcalcium oder Pottasche übersättigt und der Destillation unter Zuhilfenahme der Vakuumpumpe unterworfen. Das Destillat (20—50 ccm) wird in eine Vorlage, die schwach alkalische Jodjodkaliumlösung enthält, übergeleitet. Bei richtiger Konzentration bildet sich ohne Wärmezufuhr fast sofort Jodoform nebst essigsaurem Kalium. Das Jodoform wird mit Wasser gewaschen, auf einem gewogenen Filter bei einer 40° C nicht übersteigenden Temperatur getrocknet und bei Zimmertemperatur gewogen. 1 g Jodoform = 0,1479 g Aceton.

Beurteilung.

Selbstverständlich kann das Destillat auch in etwas Wasser in der Vorlage aufgefangen werden; man wird in der S. 111 angegegenen Weise vorgehen. Der ganze Apparat muß luftdicht schießen (s. auch Ammoniakbestimmung nach Schittenhelm S. 68); den in der Vorlage befindlichen Kugelapparat verbindet man mit der Saugpumpe, Vakuumpumpe, und evakuiert nicht zu stark. Man sorgt für gute Kühlung des Destillates und bei der Destillation. Das erhaltene, in Wasser aufgefangene Destillat kann man auch titrimetrisch in der angegebenen Weise bestimmen. Man führe die Destillation auf dem Wasserbade bei nicht zu hoher, nicht über 50° betragender Temperatur (besser bei 35°) aus.

Bei traubenzuckerreichem Harne kann man, um einer zu starken Konzentration des Zuckers und Zersetzung oder Bildung jodbindender Stoffe vorzubeugen, die Destillation so einrichten, daß man durch einen Tropftrichter Wasser in einer Menge zum Kolbeninhalte (Harn) zutröpfeln läßt, als Flüssigkeit abdestilliert.

4. An Stelle der Jodoformdarstellung kann auch die Oximbildung treten. Zu diesem Zwecke wird das Destillat in eine stark alkalische Hydroxylaminlösung gebracht und 8 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Die Acetoximlösung wird mit verdünnter Salzsäure genau neutralisiert, auf dem Wasserbade oder im evakuierten Exsiccator über Ätzkalk eingedampft und der Rückstand mit Äther ausgezogen. Nach dem Verdunsten desselben bleibt das Oxim in Krystallen zurück, das ebenfalls gewogen wird. 1 g Acetoxim = 0,794 g Aceton.

Beurteilung.

Zur genauen Bestimmung kleiner Acetonmengen eignet sich das Verfahren (Nr. 4) nicht.

O. Mayer[2]) gibt ein Verfahren an, dessen Prinzip ebenfalls darauf beruht, daß das durch Destillation von dem Harne getrennte Aceton mit einem mineralsauren Hydroxylaminsalz in Acetoxim übergeführt und daß die freiwerdende Mineralsäure mit Normallauge unter Verwendung von Methylorange als Indikator titriert wird.

$$(CH_3)_2CO + NH_2OH \,.\, HCl = (CH_3)_2C.\,NOH + H_2O + HCl.$$

100—500 ccm Harn versetzt man in einem mit Aufsatz versehenen Kolben mit 10—20 ccm Schwefelsäure (15%), d. h. bis zur starken Rötung von Methylorange und destilliert unter Zusatz einiger Bimssteinstückchen unter Kühlung während einer halben bis einer Stunde 50—100 ccm ab. Als Vorlage benutzt man einen luftdicht angeschlossenen, seitlich mit zwei Kugeln versehenen Erlenmeyerkolben, eine Apparatur, wie sie auch bei der Ammoniakdestillation Verwendung findet; in der Vorlage löst man zuvor 0,5—1,0 g Hydroxylaminsalz (Sulfat) in 20—30 ccm Wasser und neutralisiert die Lösung unter Zusatz von einem Tropfen Methylorange. Das Destillationsrohr taucht am besten in die Oximlösung ein, doch ist dies bei langsamer Destillation nicht unbedingt erforderlich. Nach insgesamt einstündiger Reaktionsdauer wird das Destillat unter Zusatz von weiteren 2—3 Tropfen Methylorange mit $^n/_{10}$ Lauge erst bis zur neutralen Reaktion versetzt und hernach mit einem Überschusse von 10—20 ccm Lauge eine halbe Stunde stehen gelassen; durch Zurücktitrieren erfährt man den Gesamtverbrauch an Lauge, woraus sich die Acetonmenge berechnet.

58.06 g Aceton = 36.47 g HCl = 40,06 g NaOH = 1000 ccm $^n/_1$ Lauge; 1 ccm $^n/_{10}$ Lauge = 0,005806 g Aceton.

Auf eine von Strache[3]) stammende, von A. Jolles[4]) wieder empfohlene und von E. Riegler[5]) in neuer Ausführung angegebene gasvolumetrische Bestimmung des Acetons sei hingewiesen.

---

[1]) Pharm. Ztg. 1905. **50.** 805.
[2]) a. a. O.
[3]) Monatshefte f. Chem. 1891. **12.** 524; 1892. **13.** 299.
[4]) Wien. med. Wochenschr. 1892. Nr. 17 u. 18.
[5]) Zeitschr. analyt. Chem. 1901. **40.** 94.

5. Bestimmung nach der Methode von W. A. van Ekenstein und J. J. Blanksma[1]), in der Ausführung von S. Möller.[2])

Prinzip.

Das Aceton wird als Aceton-p-nitrophenylhydrazon, $C_9H_{11}O_2N_3 = 193$, abgeschieden und gewogen.

Ausführung der Bestimmung.

200 ccm Harn werden nach Zusatz von 5 ccm 33%iger Schwefelsäure ungefähr $^3/_4$ Stunden lang destilliert. Das Destillat wird in einer mit Eis gekühlten Vorlage, der noch eine Kugelvorlage mit 20 ccm vorgeschaltet ist, aufgefangen. Der Inhalt der Vorlage, etwa 100—125 ccm, wird mit 0,5 bis 1,0 p-Nitrophenylhydrazin, das in 5—10 ccm Eisessig gelöst und mit der doppelten Menge Wasser verdünnt ist, gefällt. Der nach einem halbstündigen Stehen abgeschiedene hellgelbe krystallinische Niederschlag wird auf einem gewogenen gehärteten Filter (oder im Goochschen Tiegel) abgesaugt, nicht über 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Das gefundene Gewicht mit 0,3 multipliziert ergibt die im Niederschlage vorhandene Acetonmenge.

Da eine sehr geringe Menge des Hydrazons mit in Lösung bleibt, rechnet man dem gefundenen Gewichte für 100 ccm des Filtrates zur Korrektur noch 0,006 g Hydrazon = 0,0018 g Aceton zu. Das Hydrazon besitzt nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol einen Schmelzpunkt von 146—147°.

Beurteilung.

Nach Möller ist dieses Verfahren zuverlässig. In ähnlicher Weise verfährt W. C. de Graaf.[3]) Wenn viel Aceton vorhanden ist, werden 100 ccm, außerdem 200 ccm auf etwa 10 ccm ohne jeden Zusatz abdestilliert; das gut gekühlte Destillat wird unter 50 ccm Wasser aufgefangen und mit p-Nitrophenylhydrazin gefällt. 0,3—0,4 g desselben werden in 10 ccm 30%iger Essigsäure unter Erwärmen gelöst, die Lösung wird filtriert und dann dem Destillate zugefügt. Der abgeschiedene Niederschlag wird nach 24stündigem Stehen auf gewogenem Filter gesammelt, bei 105—110° getrocknet und gewogen. 193 mgr der Verbindung = 58 mgr Aceton. Von anderer Seite wird darauf hingewiesen, daß $^1/_2$stündiges Stehenlassen nach dem Abfiltrieren des Niederschlages auch genügt.

O. Sammet[4]) hat dieses Verfahren und das folgende auf ihre Genauigkeit geprüft und gute Ergebnisse erzielt; besonders das von Denigès angegebene wird empfohlen.

6. Bestimmung nach G. Denigès[5]) als Mercurikomplexverbindung.

Prinzip.

Aceton gibt mit Mercurisulfat eine unlösliche Verbindung von Mercuriacetonsulfat ($2\,HgSO_4 \cdot 3\,HgO)_2.(CH_3—CO—CH_3)_4$.

Erforderliche Lösung.

5 g Mercurioxyd werden in einem Gemische von 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser durch Erhitzen aufgelöst. Man kann auch 7 g Mercurisulfat in 100 ccm 20%iger Schwefelsäure lösen.

Ausführung der Bestimmung.

25 ccm der Acetonlösung, die höchstens 50 mg Aceton enthalten darf, werden mit 25 ccm Reagens vermischt; die Mischung wird in einer gut zu

[1]) Recueil d. trav. chim. des Pays-Bas 1903. **22.** 434.
[2]) Zentralbl. f. klin. Mediz. 1907. **64.** 207; Deutsch. Med. Ztg. 1908. Nr. 21.
[3]) Pharm. Weekblad 1907. **44.** 555.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **83.** 212.
[5]) Compt. rend. 1898. **127.** 963; Ann. chim. et phys. 1908 [8] **12.** 394.

verschließenden Flasche 10 Minuten lang im Wasserbade auf 100° erwärmt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag auf einem gewogenen Filter oder im Goochschen Tiegel gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen. Das Gewicht wird mit 0,06 multipliziert.

Beurteilung.

C. Oppenheimer[1]), P. Reiche wollen gute Resultate erzielt haben. Oppenheimer läßt, je nach dem Ausfalle der qualitativen Reaktion, 5—25 ccm Harn verwenden, fällt mit dem Quecksilberreagens, säuert das Filtrat mit Schwefelsäure an und setzt einen großen Überschuß von schwefelsaurer Merkurisulfatlösung — 25 ccm bei geringen Mengen Aceton, 30 ccm bei größeren — und 25—30 ccm Wasser hinzu. Das Ganze bringt man in eine starkwandige Flasche, verschnürt diese fest und erhitzt eine halbe Stunde im siedenden Wasserbade. Den abgeschiedenen Niederschlag sammelt man auf einem gewogenen Filter oder auf dem Goochschen Tiegel, wäscht gründlich mit kaltem Wasser aus, dann mit Alkohol und Äther und trocknet bei 105—115° bis zum gleichbleibenden Gewichte. So dargestellt soll die Zusammensetzung des Körpers $5HgSO_4 \cdot 7HgO \cdot 3CO(CH_3)_2$ sein; man hat das Gewicht dann mit 0,055 zu multiplizieren, um das Aceton zu finden. Von anderer Seite, Monimart[2]), Beckurts wurde vorgeschlagen, den erhaltenen Niederschlag mit Lauge zu zersetzen, die Lösung wieder anzusäuern und das freie Aceton abzudestillieren. Im Destillate bestimmt man das Aceton titrimetrisch. H. Beckurts[3]) gibt folgende Ausführungsweise des Verfahrens nach Monimart an. Von dem Filtrate einer Durchschnittsprobe aus der innerhalb 24 Stunden gelassenen Harnmenge bringt man 50 ccm in ein Erlenmeyersches Kölbchen und läßt nach Zusatz von 30 ccm Denigèsschen Reagens zehn Minuten stehen. (Harn gibt direkt mit dem Reagens gewöhnlich einen Niederschlag, den man erst entfernt, die eigentliche Quecksilberacetonverbindung scheidet sich erst beim Erwärmen aus.) Es wird filtriert und das Filtrat auf dem siedenden Wasserbade am Rückflußkühler zehn Minuten lang erhitzt. Nach dem Erkalten sammelt man den Niederschlag auf einem kleinen Filter und wäscht ihn mit Wasser aus, bis im Waschwasser durch Kalilauge oder Schwefelwasserstoff keine Veränderung mehr hervorgerufen wird. Filter mit Niederschlag bringt man in ein Destillationskölbchen und fügt unter Umschütteln etwa 50 ccm Wasser, dann 10 ccm konzentrierte Natronlauge hinzu. Man schüttelt 1—2 Minuten lang um, macht die Mischung mit verdünnter Schwefelsäure (1:10) sauer und destilliert ungefähr 15 ccm davon ab, in denen alles Aceton enthalten ist. Das Kühlrohr spült man mit Wasser nach. Das Destillat versetzt man mit genau 5 ccm einer Lösung von 8 g Jod und 20 g Jodkalium in Wasser zu 250 ccm und etwa 30 ccm 8%iger Natronlauge, läßt unter häufigerem Umschütteln 15 bis 20 Minuten lang stehen und titriert nach dem Ansäuern mit $^1/_{10}$ Thiosulfat. Der Wirkungswert der Jodlösung wird vorher festgestellt.

Die Menge des Acetons kann nicht durch Multiplikation der Differenz der beim Bestimmen des Wirkungswertes der Jodlösung und der beim Versuche verbrauchten Thiosulfatlösung berechnet werden, da mit der Zunahme der Acetonmenge weniger gefunden wird. 1 ccm $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung = 0,00112 g Aceton, wenn die Differenz unter 4 ccm beträgt und 0,001345 g, wenn die Differenz 4 und darüber beträgt.

7. Die Bestimmung des Acetons und der Acetessigsäure.

Es wurde schon erwähnt, daß bei der Bestimmung des Acetons auch stets die vorhandene Acetessigsäure mit bestimmt wird, wenn das Destillat aus dem mit Säure angesäuerten Harne durch gewöhnliche Destillation gewonnen wird. Beim vorsichtigen Destillieren des nicht angesäuerten Harnes im Vakuum bei niedrigen Temperaturen ist es möglich, das Aceton allein zu erhalten. Schon Th. Koch[4]) hat darauf hingewiesen, daß man früher die Bestimmung des Acetons in nicht zweckmäßiger Weise ausgeführt hat, da bei der gebräuchlichen Methode stets Aceton und Acetessigsäure zusammen bestimmt und als Aceton berechnet wurden. Aus der Differenz der Bestimmung bei der Vakuumdestillation und der gewöhnlichen Destillation kann der wirkliche Gehalt von beiden berechnet werden.

A. Nach dem Verfahren von G. Embden und L. Schliep.[5])

Prinzip.

Es wird nach Messinger-Huppert das Gesamtaceton bestimmt, also das bei der Destillation erhaltene präformierte Aceton und das aus der vorhandenen Acetessigsäure entstandene. In einer

---

[1]) Berl. klin Wochenschr. 1899. **36.** 828; Berl. Bericht. 1899. **32.** 986.
[2]) Journ. Pharm. Chim. 1907. [6] **26.** 392.
[3]) Methoden der Maßanalyse. Vieweg, Braunschweig 1910. 406.
[4]) Südd. Apoth. Ztg. 1907. **47.** 544.
[5]) Zentralbl. f. ges. Physiolog. u. Patholog. d. Stoffwechsels. 1907 N. F. **2.** 250. 289

anderen Probe wird zuerst durch Destillation im Vakuum bei niederer Temperatur das präformierte Aceton entfernt; der Destillationsrückstand wird nach Messinger-Huppert destilliert; im Destillate hat man das aus der bei der Destillation im Vakuum nicht zersetzten Acetessigsäure abgespaltene Aceton. Aus der Differenz berechnet sich leicht der Gehalt an präformiertem Aceton.

Ausführung.

Der Harn ist möglichst frisch zu untersuchen. Bei sehr hohem Acetongehalte werden 10 ccm, bei sehr niedrigem Gehalte etwa 50—100 ccm, sonst etwa 20 ccm verwendet und nach Messinger-Huppert destilliert; im Destillate wird das vorhandene Gesamtaceton titrimetrisch ermittelt.

Die gleiche Menge Harn bringt man in einen etwa 3 Liter fassenden Rundkolben, gibt 130—150 ccm Wasser hinzu und destilliert bei möglichst niedrigem Drucke aus einem Wasserbade, das eine Temperatur von 34—35° hat, während 30—35 Minuten etwa 60—65 ccm ab. Vorlage mit Eis kühl halten, langen Liebigschen Kühler nehmen! Der Destillationsrückstand, in dem nunmehr die Acetessigsäure vorhanden ist, wird nach der Methode von Messinger-Huppert behandelt; der Kolben wird mit Kühler und Vorlage, wie geschildert, verbunden, der Rückstand angesäuert und bei guter Kühlung das Destillat in der Vorlage, wie angegeben, aufgefangen. Das Destillat wird nach erfolgter Reinigung usw. titriert. Aceton aus Acetessigsäure.

Der Unterschied beider Werte gibt den Gehalt an präformiertem Aceton.

B. Verfahren nach O. Folin.[1])

Prinzip.

Aceton wird aus der wässerigen Lösung durch Durchleiten eines Luftstromes entfernt, die Acetessigsäure soll unverändert bleiben.

Ausführung.

Man bedient sich des von Folin empfohlenen Apparates für die Anmoniakbestimmung. Man verwendet 20—25 ccm Harn, den man mit 0,2—0,3 g Oxalsäure oder mit einigen Tropfen 10%iger Phosphorsäure angesäuert hat und gibt 8—10 g Kochsalz und eine Spur Petroleum (Paraffin. liquid.) hinzu. Die Vorlage enthält 10 ccm einer 40%igen Kalilauge, etwas Wasser und einen Überschuß einer titrierten $n/_{10}$-Jodlösung. 20—25 Minuten lang wird ein kräftiger Luftstrom mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe durchgesaugt. Das Destillat wird mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure angesäuert und der Überschuß an Jod mit Thiosulfatlösung zurücktitriert. — Der gefundene Wert (siehe S. 119) ergibt die Menge des präformierten Acetons.

Man führt in einer anderen Probe nach Messinger-Huppert (Embden-Schmitz) die Bestimmung des Gesamtacetons aus und findet in der Differenz — Gesamtaceton — präformiertes Aceton — die Menge der Acetessigsäure.

In dem Rückstande nach der Entfernung des präformierten Acetons durch Luft könnte natürlich ebenfalls die darin vorhandene Menge Acetessigsäure ermittelt werden. Man würde, wie schon angegeben, den Rückstand ansäuern und destillieren. In dem gut gekühlten Destillate wird die

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 1907. 3. 177; 1908. 4. 473.

Bestimmung auf titrimetrischem Wege ausgeführt. — Aceton, erhalten aus der Acetessigsäure.

Beurteilung.

Nach Versuchen von P. Stuart Hart soll dieses Verfahren zuverlässig und brauchbar sein.

Wahl der Methode.

Ich halte die angegebenen Methoden für die Bestimmung des Acetons, wie für die des Acetons und der Acetessigsäure sämtlich für brauchbar. Einfach und schnell ausgeführt sind die titrimetrischen Bestimmungen.

Zur quantitativen Azetonkörper- und Azetonbestimmung haben noch Verfahren angegeben: P. N. Engfeldt, Skand. Arch. Physiol. 1915. **32.** 253; Zeitschr. physiol. Chem. 1917. **100.** 93; Akt. med. scandinavic. 1919. 52. 311; C. Cerallo u. F. Girgenti, Arch. exp. Pathol. Pharmakolog. 1914. **75.** 153; G. Denigès u. E. Simonot, eine chronometrische Bestimmungsmethode, Bull. des trav. d. l. soc. pharm. à Bordeaux **54.** 11; Zeitschr. analyt. Chem. 1915. **54.** 426; E. Lenk, Biochem. Zeitschr. 1916. **78.** 224; E. Lenk u. W. Hahn, Münch. med. Wochenschr. 1917. **64.** 179; A. Adler, Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 722 (Acetonurometer); M. Richter-Quittner, Biochem. Zeitschr. 1919. **93.** 163, eine Mikromethode zur Azetonbestimmung; R. S. Hubland, Journ. Biol. Chem. 1920. **43.** 43; H. Schall, Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 812; es wird das Autenriethsche Kolorimeter und die Legalsche Probe zur Azetonbestimmung, als Farbenton für höhere Acetessigsäurewerte die Gerhardtsche Eisenchloridreaktion, für niedrigere die Riminische Äthylendiaminprobe empfohlen. Geeichte Glaskeile liefert die Firma Hellige & Co. in Freiburg i. B.; H. Lax, Biochem. Zeitschr. 1921. **125.** 262, eine Mikrobestimmung; R. Scherf, Mediz. Klinik 1921. N 36 (Anwendung der Legalschen Probe zur quantitativen Ermittlung); L Pincussen, Klin. Wochenschr. 1922. **1.** 1559; A. Lublin, ebenda 1922. **1.** 1559.

Eigenschaften des Acetons.

Das Aceton ist eine wasserklare, obstähnlich riechende, neutral reagierende 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 schwefeligsauren Alkalien zu krystallinischen Verbindungen, wird leicht oxydiert zu Essigsäure und Ameisensäure, gibt mit Jod und Alkali Jodoform und färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure dunkelrot (Ehrlichsche Reaktion). Seine weiteren Reaktionen sind beim Nachweise erwähnt.

Im Anschlusse an die Besprechung über das Aceton im Harne ist der Arbeiten von Stepp u. Lange[1]), W. Stepp u. R. Feulgen[2]), R. Fricke[3]) über eine im Harne von Diabetikern nachgewiesene reduzierende Substanz zu gedenken, die neben Acetaldehyd noch einen ebenfalls mit Wasserdampf flüchtigen Körper enthielt, der, aus Aldol gebildet, möglicherweise Crotonaldehyd sein könnte. Aldol ist β-Oxybutylaldehyd, ein Aldehydalkohol. Zum Nachweise wurden größere Mengen Harn von Diabetikern mit Wasserdampf destilliert, die Destillate wurden — selbstverständlich unter stets guter Kühlung — wieder abdestilliert, bis schließlich ein Destillat von 25 ccm gewonnen war. Hiezu wurden 0,1 g des von Neuberg[4]) empfohlenen Aldehydreagens, Dimethylhydroresorcin, Dimethylcyclohexandion = Medon in 1 ccm Alkohol und 0,2 g Chlornatrium zugefügt. Nach 14 Stunden war der Acetaldehydgeruch infolge Bildung von Aldomedon verschwunden, dieses blieb zum größten Teil in Aceton gelöst. Nach dem Eindampfen auf 5 ccm wurde das Aceton entfernt; es erfolgte reichliche Krystallisation; zur Trennung von unverändertem Medon (Dimedon) wurde in Alkohol gelöst und das Aldomedon vorsichtig durch Zusatz von Wasser zur Krystallisation gebracht. Beim nochmaligen Umkrystallisieren aus 80%igem Alkohol zeigte das Aldomedon den Schmelzpunkt bei 138—140°. Das trockene Aldomedon wurde durch Erhitzen mit Essigsäure bei 100° in das Anhydrid verwandelt, das beim Verdünnen mit Wasser ausfällt. Nach dem Waschen mit 10%iger Sodalösung zum Entfernen von unverändertem Aldomedon und nach Umkrystallisieren aus 85%igem Alkohol schmolz das Anhydrid bei 173—175°, dem Schmelzpunkte des Crotonmedons, so daß also Crotonaldehyd nachzuweisen war. Ob diese

[1]) Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1921. **134.** 47.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1921. **114.** 301.
[3]) Ebenda. 1921. **116.** 129; 1922. **118.** 218.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1920. **106.** 281.

geringen Aldolmengen bei der Bildung der β-Oxybuttersäure eine Rolle spielen, ist noch unentschieden.

2. *Flüchtige Fettsäuren.*

Flüchtige Fettsäuren, und zwar vorwiegend Essigsäure, etwas Ameisensäure und Buttersäure sind in geringen Mengen in jedem normalen Harne enthalten; diese Säuren wurden auch im Harne der Tiere vorgefunden. Im normalen Harne beträgt nach P. v. Rokitansky der Gehalt an diesen Fettsäuren in der Tagesmenge (1500 g) im Durchschnitte 0,05 g; Magnus-Levy fand ähnliche Mengen (0,06 g als Essigsäure berechnet); R. v. Jaksch fand niedere Werte (0,008—0,009). Eine Steigerung dieser ebengenannten Menge wurde beobachtet nach ausschließlicher Ernährung mit Mehlspeisen. Unter pathologischen Verhältnissen — Lipacidurie — weist eine Vermehrung der flüchtigen Fettsäuren auf eine starke Resorption von Zersetzungsprozessen im Organismus hin; so können die Fettsäuren erheblich vermehrt sein bei hohem kontinuierlichem Fieber, außerdem bei Leberstörungen mit Destruktion des Lebergewebes (Leberkrebs, Lebersyphilis), in seltenen Fällen bei Diabetes mellitus, bei der Pneumonie nach der Krisis, bei Leukämie, bei eitriger und jauchiger Pleuritis. Bei der ammoniakalischen Gärung des Harnes nimmt die Menge der flüchtigen Fettsäuren in hohem Maße zu, so daß solche Harne bis 15mal soviel flüchtige Fettsäuren enthalten können als frischer Harn.

Als Material zur Bildung der Fettsäuren muß das Eiweiß betrachtet werden, da bei der Oxydation desselben solche Fettsäuren entstehen; hauptsächlich sind an der Bildung dieser Säuren aber auch die Kohlenhydrate (E. Salkowski) beteiligt, indem wahrscheinlich Kohlenhydrate durch Vergärung oder durch Bakterien in diese flüchtigen Säuren umgewandelt werden, die durch eine unvollkommene Verbrennung zur Ausscheidung gelangen; man hat gefunden, daß bei Diabetikern durch bakterielle Einwirkung infolge eines infektiösen Blasenkatarrhs der Harnzucker bereits in der Blase in Milchsäure und namentlich in Buttersäure umgewandelt worden war. Auch die Fette müssen als Quelle für das Entstehen der Fettsäuren angesehen werden.

Ameisensäure fand sich im Harne von Diabetikern und Leukämischen; nach Genuß von Methylalkohol findet eine starke Vermehrung statt; nach R. Strisower[1]) soll im normalen Tagesharne Ameisensäure in der Menge von 10—16 mg vorhanden sein. W. Autenrieth[2]) fand Ausscheidungen für einen Tag etwa 0,28 g betragend.

Essigsäure ist in größerer Menge im Harne nach der alkalischen Gärung, auch bei akutem Gelenkrheumatismus und hohem Fieber vorzufinden.

Propionsäure wies v. Jaksch in einem Falle bei schwerem Diabetes nach; auch wurde diese Säure im vergorenen diabetischen Harne gefunden.

Buttersäure war nachweisbar bei Pneumonie, im Harne Schwangerer und ebenfalls im vergorenen sog. Zuckerharne, im Harne von Rheumatismuskranken (Öchsner de Coninck).

Baldriansäure bei Typhus, Pocken, akuter Leberatrophie (Frerichs), bei Lebersyphilis (v. Jaksch).

Flüchtige Fettsäuren mit hohem Molekulargewicht konstatierte F. Blumenthal in je einem Falle von Erysipelas capitis und Typhus abdominalis.

---

[1]) Wien. klin. Rundsch. 1913. 281; Biochem. Zeitschr. 1913. **54.** 189.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 862; Archiv Pharm. 1920. **258.** Heft 1.

Feste Fettsäuren neben Ölsäure wurden in vermehrter Menge im Harne nach Phosphorvergiftungen gefunden (Mörner).

Darstellung und Nachweis.

Man entfernt aus einer möglichst großen abgemessenen, mit verdünnter Phosphorsäure in genügender Stärke versetzten Menge ganz frischen Harnes durch Einleiten von Wasserdämpfen die flüchtigen Säuren und fängt das Destillat auf.

Von E. Welde[1]) wurde die Destillation im Vakuum bei 10—15 mm Druck unter gleichzeitiger Wasserdampfdestillation empfohlen.

Man gibt in einen geräumigen Rundkolben den mit Phosphorsäure oder verdünnter Schwefelsäure im Überschusse (um auch alles durch Hydrolyse des Harnstoffes gebildete Ammoniak zu binden) 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, das etwas Salzsäure, Phenole und Benzoesäure neben den Fettsäuren enthalten kann, mit kohlensaurem Natron, verdampft zur Trockne und zieht den Salzrückstand wiederholt in der Wärme mit absolutem Alkohol aus. Fettsaures Natrium, aber auch Benzoesäure und Phenole als Salze, gehen in Lösung. Diese wird verdampft, der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen, die wässerige Lösung nach starkem Abkühlen mit Schwefelsäure versetzt und bei 0° stehen gelassen. Ausgeschiedene Benzoesäure, die fast immer vorhanden ist und durch Hydrolyse aus der Hippursäure gebildet wird, filtriert man ab, das Filtrat neutralisiert man mit Soda und schüttelt es mit Äther aus, wodurch die Phenole entfernt werden; die wässerige Lösung wird dann unter Zusatz von Säure abermals wie angegeben destilliert.

Von diesem Destillate prüft man eine kleine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat oder Quecksilberchlorid auf Ameisensäure. (Siehe später.) Ist Ameisensäure zugegen (s. Eigenschaften), so zerstört man diese in dem Destillate durch Kochen mit Quecksilberoxyd, sättigt die Lösung mit kohlensaurem Natron, filtriert diese und läßt sie nach dem Konzentrieren zum Auskrystallisieren stehen; ist Essigsäure vorhanden, so scheidet sich essigsaures Natrium aus, das abgesaugt, durch Umkrystallisieren gereinigt und dann 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, gibt dann zum Destillate Barytwasser im Überschusse, leitet Kohlensäure bis zur neutralen Reaktion ein, erhitzt zum Kochen zur Zerlegung allenfalls gebildeten zweifach kohlensauren Baryts, filtriert und konzentriert die Flüssigkeit auf ein kleines Volumen. Zuerst scheidet sich das buttersaure Salz, weiter das propionsaure Barytsalz aus. Zur genauen und quantitativen Trennung der höheren Säuren gibt die Analyse der erhaltenen Baryt- oder Silbersalze Auskunft, die man durch fraktionierte

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. 28. 504.

Fällung herstellt. Hiezu 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 erhitzt werden können, Silbersalze nicht über 100°. Den Silbergehalt erhält man durch Glühen einer gewogenen Menge des Salzes im Porzellantiegel, den Barytgehalt nach dem Veraschen des Salzes durch Lösen mit Salzsäure, Fällung der Lösung mit Schwefelsäure und Glühen des abfiltrierten schwefelsauren Baryts.

$$BaSO_4 \cdot 0{,}5885 = Ba.$$

Man kann und wird sich in den meisten Fällen begnügen, das nach der eben angegebenen Methode erhaltene zweite Destillat mit n/10 oder n/100 Normallauge zu titrieren und den Verbrauch der hiezu nötigen Kubikzentimeter anzugeben. In diesem neutralisierten Destillate kann man auf die einzelnen Säuren prüfen.

Eigenschaften und charakteristische Reaktionen.

Ameisensäure. H—COOH.

Sie riecht stechend, siedet bei 99° (nach anderen Angaben bei 101°).

Ihr Nachweis beruht auf der reduzierenden Wirkung, die sie auf Verbindungen edler Metalle ausübt.

Bei dem Isolieren (dem Nachweise und der Bestimmung) der Ameisensäure aus Flüssigkeiten, die Zucker und nicht unwesentliche Mengen organischer Stoffe enthalten, ist jedes Verfahren, das auf ein Abdestillieren bei saurer Reaktion auch mit Hilfe von Wasserdämpfen zurückgreift, von vornherein unzulässig, da sich hiebei, wie wir es beim Nachweise von Ameisensäure im Honig, Wein wissen, Spuren und darüber hinausgehende Mengen von Ameisensäure bilden. Diese Tatsache ist schon lange, von Malaguti[1]) bereits im Jahre 1836 erwähnt, bekannt. Zum einwandfreien Nachweise der Säure muß diese durch reinen Äther (Ätherperforation) aus dem mit einer geringen Menge verdünnter Schwefelsäure angesäuerten Harne ausgezogen werden. Die Ätherauszüge, durch Perforation oder Ausschütteln erhalten, filtriert man durch ein mit Äther angefeuchtetes Filter und schüttelt sie mit einer Mischung von etwa 10—20 ccm Wasser und 5 ccm Normallauge aus; die gewonnene Ausschüttelung muß noch alkalisch reagieren. Man kann diese auf dem Wasserbade zur Trockne eindampfen, den Rückstand mit Wasser aufnehmen und in der Lösung, nach dem Neutralisieren mit verdünnter Schwefelsäure (schwach sauer soll die Losung reagieren), die etwa vorhandene Ameisensäure qualitativ und quantitativ nachweisen.

1. Erwärmt man die wässerige 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. Freie Salzsäure darf nicht vorhanden sein.
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.

Quantitative Bestimmung.

1. 10—20 ccm einer verdünnten Lösung erhitzt man nach A. Leys[2]) mit 20—30 ccm einer 20%igen Mercuriacetatlösung und etwa 70 ccm Wasser. Das beim Erkalten ausgeschiedene Mercuroacetat wird auf einem Filter ge-

[1]) Annal. Chem. 1836. **17.** 59.
[2]) Bull. soc. chim. Paris 1898. [3] **19.** 472

sammelt, getrocknet, in Salpetersäure gelöst und diese Lösung mit Kochsalz versetzt.

Das abgeschiedene Quecksilberchlorür sammelt man auf einem gewogenen Filter, wäscht den Rückstand gut aus und wägt das Filter mit Rückstand nach dem Trocknen bei 100°.

Gef. $HgCl \cdot 0{,}0976$ = Ameisensäure.

2. Titrimetrische Bestimmung.

Die Lösung übersättigt man mit Kaliumcarbonat und titriert mit einer Permanganatlösung (A. Lieben).[1]

$$3\,H\,.\,COOK + 2\,KMnO_4 = 2\,MnO_2 + KHCO_3 + 2\,K_2CO_3.$$

2 Mol. Permanganat = 3 Mol. Ameisensäure.

H. Grossmann und A Aufrecht[2]) empfehlen eine Titration mit Permanganat in saurer Lösung, E Rupp[3]) empfiehlt die Titration mit Bromlauge.

Weitere Bestimmungen sind angegeben von F. Freyer[4]), von M. Wegener[5]), von H. D. Dakin, N. W. Janney und A. J. Wakemann[6]), W. Autenrieth[7]), F. Simon[8]).

Von Essigsäure und Buttersäure läßt sich die Ameisensäure durch die Unlöslichkeit des Zinksalzes in absolutem Alkohol trennen (K. R. Haberland)[9]); Zinkacetat und Zinkbutyrat sind löslich.

Essigsäure. $CH_3\,.\,COOH$.

Die Essigsäure riecht stechend sauer, sie siedet bei 118°. Das Natriumsalz 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 bekannte Geruch nach Essigäther.
2. Eisenchlorid färbt, wie aber auch die Ameisensäure, eine Essigsäure enthaltende Flüssigkeit tief rot.
3. Erhitzt man ein essigsaures Salz mit Arsenigsäureanhydrid trocken in einem Reagenzglase, so entsteht Kakodyloxyd, Dimethylarsenoxyd, eine Substanz von penetrantem Geruche.

$$As_2O_3 + 4\,CH_3\,.\,COOK = (CH_3)_2As \cdot O \cdot As\,(CH_3)_2 + 2\,K_2CO_2 + 2\,CO_2.$$

Andere Fettsäuren können allerdings ähnlich riechende Stoffe geben.

1 ccm $^1/_{10}$ Normalkalilauge = 0,0060 g $C_2H_4O_2$.

Das Barytsalz enthält 53,78% Barium.
Das Silbersalz „ 64,65% Silber.

---

[1]) Monatshefte f. Chem. 1893. **14.** 747.
[2]) Berl. Bericht. 1906. **39.** 2455.
[3]) Archiv Pharm. 1905. **243.** 69.
[4]) Chem. Ztg. 1895. **19.** 1184.
[5]) Zeitschr. anal. Chem. 1903. **42.** 427.
[6]) Journ. of Biol. Chem. 1913. **14.** 341.
[7]) Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 862; Archiv Pharm. 1920. **258.** Heft 1.
[8]) Biochem. Zeitschr. 1914. **65.** 93.
[9]) Zeitschr. analyt. Chem. 1899. **38.** 217.

Propionsäure. $CH_3 . CH_2 . COOH$.

Diese riecht ähnlich wie Essigsäure, siedet bei 140,9° und liefert mit Eisenchlorid, Arsenigsäureanhydrid ähnliche Reaktionen wie die Essigsäure. Das Silbersalz krystallisiert in weißen Nadeln, das Barytsalz in rhombischen Prismen oder glänzenden Nadeln.

Das Barytsalz, wasserfrei, enthält 48,41% Barium.
Das Silbersalz „ 59,67% Silber.

Buttersäure. Normal- oder Gärungsbuttersäure. $C_3H_7 . COOH$.

Buttersäure ist eine farblose, unangenehm ranzig riechende Flüssigkeit, die bei −19° zu einer perlmutterglänzenden Masse erstarrt; sie siedet bei 163° (162,3°).

Kennzeichnend ist das weißgelbliche krystallinische Silbersalz.

Das Barytsalz enthält 44,12% Barium.
Das Silbersalz „ 55,36% Silber.

Die Isobuttersäure (Methylpropansäure) $(CH_3)_2 CH . COOH$. Geruch ähnlich wie der der normalen.

Baldriansäure. $C_4H_9 \cdot COOH$. Es kommen 3 isomere Valeriansäuren vor, die normale, die Isovaleriansäure und die optisch aktive.

Die Säure riecht nach Baldrian oder faulem Käse und siedet bei 176,3° C; die Salze krystallisieren leicht.

Das Barytsalz enthält 40,41% Barium.
Das Silbersalz „ 51,67% Silber.

3. *Fett.*

In einem normalen menschlichen Harne wird Fett nicht gefunden; Kôzô-Sakaguchi[1]) fand allerdings in der 24stündigen Harnmenge gesunder Männer im Mittel 0,0085 g Fett; bei reichlicher Fettaufnahme, an sich selbst probiert, fand er bis zu 0,034 g Fett. Das Fett kommt unter pathologischen Verhältnissen vor, und zwar werden besonders in zwei Fällen solche Ausscheidungen beobachtet, bei Chylurie (Galacturie) und Lipurie (Adiposurie).

Bei ersterer Krankheit, die vorwiegend in tropischen Ländern, meist durch Filaria sanguinis, Filaria Brancrostii, eine Nematode, hervorgerufen, vorzukommen pflegt, und die wohl teils auf einer chylösen Blutmischung, teils auf einer eigentümlichen Durchlässigkeit der Nierenkapillaren beruht, werden mit dem Harne die Bestandteile des Chylus, Fett, Lymphzellen, rote Blutkörperchen, gelöstes Eiweiß, Fibrin, Fibrinogen, Embryonen des Wurmes entleert; in diesen Fällen kann der Harn sein normales Aussehen verlieren und milchigweiß werden; hier ist das Fett stets innig in Form einer Emulsion mit Eiweiß gemischt. Außer Eiweiß, dessen Gehalt 0,5—2% und darüber betragen kann, sind Cholesterin und Lecithin nachgewiesen worden.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1913. 48. 1.

M. G. Patein[1]) beobachtete bei Chyluria nostras in Harnen einen Fettgehalt von 0,27—16,0, einen Eiweißgehalt von Spuren bis 7,5%; im Bodensatze waren überwiegend Fettkügelchen, zahlreiche Leukocyten und Bakterien vorhanden; die Fettsubstanz bestand zum Teil aus Neutralfett, daneben aus Spuren von Seife und von etwas freien Fettsäuren. Als Eiweißsubstanzen waren Fibrin, Serumglobulin und eine durch Essigsäure fällbare Substanz vorhanden.

H. Pecker[2]) untersuchte Harn bei Filanose.

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

Bei Lipurie, die bei abnorm hohem Fettgehalte des Blutes (bei reichlicher Aufnahme von Fett, Öl, Lebertran) auftreten kann, die aber weiter als eine Folge teils grober anatomischer Veränderungen der Harnorgane, teils Veränderungen des sezernierenden Apparates der Nieren (Fettentartung dieser) aufzufassen ist, wird in ersterem Falle, wenn das Fett nach Aufnahme sehr fetter Speisen, besonders mit Öl bereiteter, im Harne ausgeschieden wird, im Harne Fett ohne Blut und ohne Eiweiß beobachtet. Anlaß zur Lipurie und zu den groben Veränderungen des Harnapparates geben aber Fettdegenerationen der Nieren nach Morb. Brightii, nach schweren Knochenbrüchen mit ausgedehnter Zerreißung des Knochenmarkes, nach Phosphorvergiftungen, bei Phtisis; auch im Harne von Schwangeren, bei denen der Fettgehalt des Blutes ein höherer ist, findet sich nicht selten Fett. Bei den Nierenerkrankungen findet man dann aber im Sedimente neben dem Fette in Tröpfchen Epithelien und Harnzylinder verfettet vor.

Nach Einnehmen von Lebertran wurden von A. Huber 2,2% Fett gefunden. Salkowski fand 0,11—1,1%.

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

Gewinnung und Nachweis, auch quantitative Bestimmung des Fettes.

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

1. Man schüttelt eine Probe (100 ccm oder mehr) in einem Scheidetrichter mit 100 ccm (oder entsprechend der angewendeten Menge) Äther aus, läßt absitzen und die wässerige Flüssigkeit ablaufen; letztere schüttelt man nochmals mit Äther aus. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden in demselben Scheidetrichter mit einer

[1]) Journ. Pharm. et Chim. 1917. [7] **16.** 230; Chem. Centralbl. 1918. **89.** 563.
[2]) Ebenda S. 139; Ebenda. 1917. **88.** II. 639.

sehr verdünnten wässerigen Kalilauge durchgeschüttelt, die wässerige Lösung wird von der ätherischen getrennt, letztere noch mit Wasser gewaschen, auch dieses entfernt und die durch ein kleines Filter filtrierte ätherische Lösung (das Filter wäscht man mit etwas Äther nach) in einem Kolben durch Abdestillieren zum größten Teile vom Äther befreit. Die Lösung im Kolben gibt 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 das Fett auch dadurch gewinnen, daß man Harn unter Zusatz von gebranntem Gips in einer Schale zur Trockne verdampft und den zerriebenen Rückstand in einer Patrone aus fettfreiem Filtrierpapier im Soxhletschen Extraktionsapparate mit Äther auszieht. Man verdunstet die ätherische Lösung und trocknet den Kolben mit Inhalt, worauf man wägt. Das Fett enthält geringe Mengen von Cholesterin und Lecithin, die stets im fetthaltigen Harne vorkommen.

Zum Ausziehen von Fett usw. aus Flüssigkeiten direkt mit den verschiedenen Lösungsmitteln sind mehrere Apparate im Gebrauche (Schwarz, Lind, Zelmanowitz, C. v. der Heide).

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 zum Unterschiede von Leucin (s. d.), das ähnlich unter dem Mikroskope aussieht. S. mikroskopische Prüfung.

Eigenschaften.

Das Fett löst sich in Äther, Petroläther, Benzol, schwer in Alkohol, nicht in Wasser. Beim starken Erhitzen auf einem Platinbleche, namentlich nach Zusatz von Kaliumbisulfat, auch Borsäure (A. Wohl und C. Neuberg) tritt der Geruch nach Acrolein auf; auf weißem 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, Kathetern, durch Suppositorien — in den Harn gelangt ist.

4. *Acetessigsäure.* $C_4H_6O_3$ oder $CH_3 . CO . CH_2COOH$.

Acetylessigsäure, Acetonmonocarbonsäure, Diacetsäure, β-Ketobuttersäure erscheint im Harne zum größten Teil an Ammoniak gebunden in Begleitung von Aceton und β-Oxybuttersäure, aus der sie entsteht. Die Acetessigsäure ist im Jahre 1865 von C. Gerhardt im Harne vorgefunden worden; er hielt sie zuerst für Acetessigester; B. Tollens[1]) und A. Deichmüller[2]) wiesen nach, daß freie Acetessigsäure vorliegt. v. Jaksch hat die inzwischen von Ceresole dargestellte Säure aus dem Harne isoliert (E. Ebstein). Die Ausscheidung von Acetessigsäure, Diaceturie, im Harne ist immer pathologisch und von keiner guten Bedeutung. Man findet diese Säure bei schwerem Diabetes, bei schwerem Fieber, bei Carcinomen des Magens und des Darmes, bei bösartigem Scharlach und bei Masern, bei septischer Diphtherie, bei

[1]) Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1881. **28**. 193; Annal. Chem. Pharm. 1881. **209**. 30.
[2]) Annal. Chem. Pharm. 1881. **209**. 22.

Infektionskrankheiten, in denen viel Eiweiß zur Zersetzung kommt. Sie findet sich auch bei Hunger und einseitiger Eiweißnahrung. Siehe Acetonkörper Seite 108—110.

Mit dem Auftreten dieser Säure und der β-Oxybuttersäure, die die Hauptanzeichen im Harne für Acidose sind (Denigès), werden auch die Ammoniakmengen auf Kosten des Harnstoffs entsprechend vermehrt. Siehe bei Aceton Seite 110.

Nachweis.

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

1. Probe von C. Gerhardt.[1])

Versetzt man den angesäuerten oder filtrierten Harn tropfenweise (1—2 Tropfen) mit einer mäßig konzentrierten Lösung von Eisenchlorid — 1 : 10, bei geringen Mengen Acetessigsäure eine nur 1%ige Lösung —, filtriert den Niederschlag (Ferriphosphat) ab und fügt zum Filtrate nochmals die gleiche Menge Eisenchlorid hinzu, so zeigt das Filtrat bei Anwesenheit von Acetessigsäure eine bordeauxrote Färbung, die nach 2 Minuten langem Kochen verschwinden muß.

Ein größerer Überschuß von Eisenchlorid muß vermieden werden, um den Farbenton der Reaktion nicht abzuschwächen.

Beurteilung.

Diese oder eine doch ganz ähnliche Reaktion entsteht aber auch im Harne beim Vorhandensein von Rhodanwasserstoff, Ameisensäure, Essigsäure oder nach Verabreichung von Antipyrin, Kairin, Aspirin, Thallin, Salicylsäure; doch verschwindet bei Anwesenheit von Acetessigsäure die Reaktion nach 24—48 Stunden, schneller in der Wärme, während sie beim Vorhandensein der anderen genannten Stoffe anhält.

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

Man versäume nicht, die Probe in der folgenden Ausführung vorzunehmen:

Säuert man den Harn, 5 ccm (bei Harn mit sehr geringen Mengen verwendet man entsprechend größere Harnmengen) mit Schwefelsäure stark an und schüttelt mit 10 ccm Äther, so enthält die abgehobene Ätherschicht die Acetessigsäure; mit einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung geschüttelt, wird letztere violettrot gefärbt; ein weiterer Eisenchloridzusatz bewirkt bordeauxrote Färbung (Kaliski). Sehr schön bekommt man die Reaktion, wenn man zu der in ein Reagenzglas abpipettierten Ätherlösung eine ganz schwache Eisenchloridlösung (wenige Tropfen Eisenchlorid auf ein Reagenzglas Wasser) langsam an der Wand am Glase hinablaufen läßt. An der Grenze der Ätherschicht und der Eisenchloridlösung bildet sich ein dunkelroter Ring, der in der Mitte einen schwärzlichen Streifen zeigt und sich von den anderen Farben deutlich unterscheidet. Von der Intensität des Ringes kann man ungefähr auf den größeren oder geringeren Gehalt an Säure schließen (E. Kraft).[2]) Mit dieser Probe ist noch 0,01% Acetessigsäure nachweisbar. Vorhandene Salicylsäure könnte dem angesäuerten Harn durch Benzol oder Chloroform entzogen werden; in diesen Lösungsmitteln ist die Acetessigsäure unlöslich. Antipyrin stört die Reaktion auch. Rhodanwasserstoff (aus seinen Salzen durch die Säure freigemacht) würde ebenfalls in den Äther gehen und die gleiche Reaktion geben. Bei Anwesenheit von Acetessigsäure verschwindet die Färbung in 12—24 Stunden, bei Rhodananwesenheit bleibt sie bestehen; hier ist die ätherische Lösung, nicht die wässerige gefärbt.

Die Reaktion ist nicht übermäßig scharf und kann bei verhältnismäßig geringen Mengen versagen.

[1]) Wien. mediz. Presse 1865. **6.** 673.

[2]) Apoth.-Ztg. 1905. **20.** 384.

Noch andere Abänderungen dieser Probe sind empfohlen worden:

O. Mayer[1]) empfiehlt als Gerhardtsches Reagens eine Lösung von 5 ccm Liquor. Ferri sesquichl. und 95 ccm Kochsalzlösung (1 : 3) und die Vornahme der Probe als Zonenreaktion. Man schichtet den zu prüfenden Harn auf einige ccm des Reagens; bei Anwesenheit von Acetessigsäure entsteht an der Berührungsstelle ein bordeauxroter Ring.

M. Jastrowitz[2]) vermischt 6—10 Tropfen Eisenchloridlösung — je nach dem spezifischen Gewichte des Harnes — mit 6 ccm destillierten Wassers und schichtet darauf mit einer Pipette 1 g Harn. Die Eisenchloridlösung muß schwerer sein. Bei einem großen Gehalte an Acetessigsäure tritt sofort ein roter Ring auf, bei einem schwächeren bildet sich zu oberst eine dünne Schicht weißgrauen Eisenphosphates; es gehen, wenn man mit dem Finger leicht an das Glas schlägt, von ihr rote Wolken aus, die sich in kurzer Zeit zu einem bald heller, bald dunkler gefärbten Ringe sammeln.

Nach L. Lichtwitz's[3]) Erfahrungen über die Reaktion auf Acetessigsäure nach Gerhardt zeigt die Probe die schweren Störungen an.

2. Methode von V. Arnold[4]), modif. von L. Lipliawsky[5]).

Man benötigt zwei Lösungen:

1. Eine 1%ige, wässerige Lösung von Paramidoacetophenon (+ 2 ccm konz. Salzsäure behufs leichterer Lösung). Vor dem Gebrauche zu schütteln und vor Einwirkung direkten Sonnenlichts zu schützen.
2. Eine 1%ige Kaliumnitritlösung.

6 ccm der ersten und 3 ccm der zweiten Lösung versetzt man mit dem gleichen Volumen Harn, also mit 9 ccm, und schüttelt nach Zugabe eines Tropfens konz. Ammoniaks kräftig durch. Von der ziegelrot gefärbten, nicht getrübten — zumal wenn Acetessigsäure in größeren Mengen vorhanden ist — Mischung nimmt man 0,5—2 ccm und setzt etwa 15—20 ccm konz. Salzsäure, 3 ccm Chloroform und 2—4 Tropfen Eisenchloridlösung hinzu, worauf man das Reagenzglas zukorkt und vorsichtig zur Vermeidung der Bildung einer Emulsion bewegt. Ist Acetessigsäure, wenn auch nur in Spuren, vorhanden, so nimmt das Chloroform einen violetten bis marineblauen Farbenton an; außerdem wird es nur gelblich oder schwach rötlich gefärbt. Die violette Farbe zeichnet sich durch große Lichtbeständigkeit aus. Es bildet sich p-Diazoacetophenondiacetsäure.

Stark gefärbte Harne soll man in der Kälte durch Tierkohle entfärben.

Beurteilung.

Diese Reaktion ist empfindlich, eindeutig und wird durch Salicylsäure und die anderen bei I angegebenen Medikamente nicht beeinflußt. Mit Aceton und β-Oxybuttersäure tritt sie nicht ein. Arnold hatte den mit dem Reagens in der angegebenen Menge vermischten Harn nach der Zugabe von 1—3 Tropfen konz. Ammoniaks direkt mit konz. Salzsäure im Überschuß versetzt; bei Anwesenheit von Acetessigsäure mußte eine purpurviolette Farbe eintreten; außerdem blieb der Inhalt des Glases gelb-gelbrot.

E. Allard und R. Kobert empfehlen die Arnoldsche Reaktion ebenfalls; Kobert nimmt sie in folgender Weise vor. 2 ccm einer 1%igen, mit 2 g konzentrierter Salzsäure versetzten Paramidoacetophenonlösung werden mit 1 ccm 1%iger Natriumnitritlösung vermischt, dann 3 ccm am besten durch Tierkohle entfärbter Harn hinzugegeben und mit 3 Tropfen Ammoniak geschüttelt; bei wenig Acetessigsäure entsteht eine braune Färbung, bei reichlicherer Anwesenheit sogar ein amorpher brauner Niederschlag. Setzt man zu 1 ccm der braunen Lösung etwa 10—12 ccm starke Salzsäure hinzu, so tritt Purpurvioletttfärbung ein. Gelbe oder rotgelbe Färbung bedeutet nichts. Die Reagenzien sind im Dunkeln zu verwahren.

[1]) Pharm. Ztg. 1905. **50.** 1001.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** 134.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1915. **52.** 399.
[4]) Wien. klin. Wochenschr. 1889. **12.** 541. Zentralbl. f. innere Mediz. 1900. **21.** 417.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 151.

Eine Abänderung des Verfahrens hat E. Riegler[1]) angegeben, die nach den von F. Utz[2]) gemachten Erfahrungen sehr zu empfehlen ist; er bezeichnet das Verfahren als äußerst empfindlich und die Reaktion als prächtig. Utz verfährt in folgender Weise:

In einen cylindrischen Scheidetrichter mit Glashahn bringt man 20 ccm des zu untersuchenden Harnes, fügt 4—5 Tropfen konz. Salzsäure und 10 ccm Äther hinzu, stürzt den Scheidetrichter etwa vierzigmal um (nicht stark schütteln, da sonst Emulsionsbildung eintritt!) und läßt nunmehr stehen, bis sich die Ätherschicht von der wässerigen Flüssigkeit vollständig getrennt hat. Nach vorsichtigem Öffnen des Glashahnes läßt man die untere, wässerige Flüssigkeitsschicht abfließen, schließt hierauf den Hahn und fügt zur Ätherlösung 10 ccm Petroläther hinzu. Nach gutem Durchschütteln gibt man 1 ccm (20 Tropfen) p-Amidoazetophenonlösung (1 g p-Amidoacetophenon, 5 ccm konz. Salzsäure spez. Gew. 1,2 und 100 ccm Wasser), 1 ccm Natriumnitritlösung (0,5 g Natriumnitrit in 100 ccm Wasser) hinzu, schüttelt gut durch, fügt etwa 10 Tropfen 10%iger Ammoniaklösung hinzu und schüttelt wieder einige Sekunden lang durch. Die untere ziegelrot gefärbte Schicht läßt man vorsichtig ablaufen; von der im Scheidetrichter zurückgebliebenen Ätherschicht gibt man etwa 4—5 ccm in ein weißes Porzellanschälchen; nach dem freiwilligen Verdunsten des Äthers fügt man zum Trockenrückstande im Schälchen 5—6 Tropfen konz. Salzsäure. Bei Gegenwart von Acetessigsäure entsteht eine prächtig blauviolette Färbung. Andererseits gibt man zu der im Scheidetrichter verbliebenen Ätherlösung die halbe Raummenge konz. Salzsäure, schließt mit dem Daumen oder einem Stöpsel und schüttelt mehrmals tüchtig durch. Ist im Harne Acetessigsäure vorhanden, so erscheint die sich absetzende Salzsäure prachtvoll violett gefärbt.

3. Probe nach K. A. H. v. Mörner.[3])
Kocht man Harn, der Acetessigsäure enthält, mit etwas Jodkali und Eisenchlorid im Überschusse auf, so treten die reizenden Dämpfe von Jodaceton auf.

Beurteilung.

Acetonreiche Harne geben nach R. v. Jaksch die Probe gleichfalls.

4. E. Rieglers Methode.[4]) 1—2 ccm normalen Harnes versetzt man mit 2 ccm 10%iger Jodsäurelösung und mit 3 ccm Chloroform, worauf man schüttelt; das Chloroform wird violett. Zu dieser Flüssigkeit fügt man nun 10 ccm von dem zu untersuchenden Harne und schüttelt wieder; ist Acetessigsäure vorhanden, so wird das Chloroform wieder farblos. Diese und die folgende Reaktion beruhen darauf, daß die Jodsäure durch Harnsäure zu Jod reduziert und daß dieses von der Acetessigsäure aufgenommen wird, das Chloroform wird wieder entfärbt.
5. L. Lindemann[5]) empfiehlt eine Probe in ähnlicher Ausführung. 10 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit 5 Tropfen etwa 30%iger Essigsäure mit 10 Tropfen Lugolscher Lösung (1 g Jod, 2 g Jodkalium in 100 ccm Wasser) versetzt Man schüttelt leicht um und fügt 2 ccm Chloroform hinzu. Bei Gegenwart von Acetessigsäure wird der Chloroformauszug nicht gefärbt, während er bei normalem Harne rot erscheint.

Beurteilung.

Nach Lindemann soll die Reaktion sehr empfindlich und eindeutig sein. Der Harn muß aber deutlich sauer reagieren, bei alkalischem Harne ist der Säurezusatz dementsprechend zu erhöhen, da organische Stoffe in großer Anzahl mit Jod in alkalischer oder neutraler Lösung reagieren.

Otto Mayer[6]) vermutet, daß größere Mengen von Uraten zu Täuschungen Anlaß geben möchten. Doch wird die Harnsäure viel langsamer gebunden, während die Reaktion bei der Acetessigsäure sehr rasch vor sich geht.

Die Proben sind nicht besonders empfindlich.

6. S. Bondi-O. Schwarz[7]) lassen 5 ccm Harn mit etwa 1 ccm Lugolscher Lösung versetzen und aufkochen. Ein entstehender beißender Geruch von Jodaceton verrät die Anwesenheit von Acetessigsäure.
Alkalischer Harn ist vorher mit Essigsäure schwach anzusäuern.

Beurteilung.

Die Methode ist nicht zu empfehlen; auch ist Vorsicht bei der Ausführung zu gebrauchen, die Augen werden stark gereizt.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 448
[2]) Südd. Apoth.-Ztg. 1921. **61.** 553.
[3]) Skand. Archiv Physiol. 1895. **5.** 276.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 448; Compt. rend. soc. de biolog. 1922. **87.** 281; Chem. Centralbl. 1923. **94.** II. 226, Nachweis und Bestimmung von Acetessigsäure, eine chronometrische Prüfung.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1905 **52.** 1387; 1906. **53.** 1019.
[6]) Pharm. Ztg. 1905. **50.** 1001.
[7]) Wien. klin. Wochenschr. 1905. **19.** 37; 1906. **20.** 37

7. Béla v. Ondrejovich[1]) säuert 5 ccm Harn mit 5 Tropfen 50%iger Essigsäure an und bringt von einer 0,2%igen Methylenblaulösung soviel hinzu, daß das Ganze eine ausgesprochen blaue Farbe annimmt; meist genügt 1 Tropfen; dann gibt man 4 Tropfen Jodtinktur zu. Die rote Mischung wird, wenn Acetessigsäure vorhanden ist, in einer Minute wieder blau oder grün, anderenfalls behält sie ihre rote Farbe.

Die Methode beruht darauf, daß Acetessigsäure in saurer Lösung Jod bindet, sie wird zu Monojodacetessigsäure

Das Verfahren, das durch Salicylsäure, Azeton, β-Oxybuttersäure, Milchsäure usw. nicht beeinflußt wird, wird verschieden beurteilt. Formaldehyd im Harne behindert das Eintreten der Reaktion.

8. Ein von V. Arregino u. E. D. Garcia[2]) angegebenes Verfahren beruht auf der von Pechmann und Duisberg aufgefundenen Bildung von Methylumdelliferon durch Kondensation von Acetessigsäure und Resorcin und der dabei auftretenden azurblauen Fluorescenz.

50 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit etwas Salzsäure mit 5 ccm Tetrachlorkohlenstoff ausgeschüttelt. Der auf 2—3 ccm eingeengte Auszug wird mit 0,1 g Resorcin und 2 ccm Salzsäure versetzt. Nach dem Verjagen des Tetrachlorkohlenstoffs setzt man etwas warmes Wasser zu und hierauf Ammoniak. Eine eintretende Fluorescenz soll noch 0,00001 g Acetessigsäure oder deren Abkömmlinge im Kubikzentimeter anzeigen.

Das Verfahren ist demnach nicht für Acetessigsäure allein ausschlaggebend.

Weitere Nachweise empfehlen W. H. Hurtley[3]), G. Favrel.[4])

Wahl der Methode.

Man verwende die unter 1 und 2 angeführten Verfahren; bei 2 auch die von Utz empfohlene Rieglersche Probe; bei 1 veräume man nicht die Ausschüttelung des sauren Harnes mit Äther.

Quantitative Bestimmung der Acetessigsäure S. 122.

Eigenschaften.

Die Acetessigsäure ist eine farblose, stark saure, mit Wasser, Alkohol und Äther mischbare Flüssigkeit, die wie ihre Salze in freiem Zustande und in konz. Lösung unbeständig ist und leicht in Aceton und Kohlensäure zerfällt. In verdünnteren Lösungen ist sie haltbarer.

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

Von den beiden isomeren Oxypropionsäuren, der Äthylen- und der Äthylidenmilchsäure, kommt nur letztere im Organismus vor, die in den drei bekannten Modifikationen der i-Milchsäure, Gärungsmilchsäure, der d-Milchsäure (Fleisch- oder Paramilchsäure) und der l-Milchsäure existiert, von denen die letzte im Organismus aber noch nicht vorgefunden wurde. Von den beiden ersten soll die Gärungsmilchsäure nur im gärenden diabetischen Harne vorgefunden worden sein, während sonst die Fleischmilchsäure, allerdings nur unter pathologischen Verhältnissen, zu finden ist. Die in allen Organen vorkommende Milchsäure ist nach neueren Untersuchungen nur die d-Milchsäure. (Moriya.) Im normalen Harne scheint die Milchsäure stets zu fehlen; sie entsteht, wenn Sauerstoffmangel im Organismus eintritt, wenn die Leber infolge Erkrankung das milchsaure Ammonium nicht in Harnstoff umzuwandeln vermag. Beim Vorhandensein von Milchsäure ist eine Verringerung des Harnstoffes zu beobachten.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1912. **38.** 1413.
[2]) Andl. d. l. Soc. Quimic. Argent. **7.** 421; Pharm. Ztg. 1920. **65.** 674.
[3]) Lanzet 1913. IV. 26; Münch. med. Wochenschr. 1913. **60.** 1955.
[4]) Annal. Chim. anal. appl. 1922. [2]. **4.** 337.

Die d-Milchsäure oder Fleischmilchsäure wurde bei akuter Phosphor- und Kohlenoxydgasvergiftung, auch bei anderen Vergiftungen (Strychnin, Blausäure, Morphin, Cocain), bei Trichinose, bei Diabetes, bei akuter gelber Leberatrophie, überhaupt bei besonders schweren Leberkrankheiten (Carcinomen), auch im Harne von Epileptikern nach einem Anfalle (so auch wieder von K. Inouye und T. Saiki) und nach starken körperlichen Anstrengungen im Harne vorgefunden.

Darstellung und Nachweis.

Der Harn wird im Wasserbade eingedampft und der Rückstand wiederholt mit 95%igem Alkohol in der Wärme ausgezogen. Aus der alkoholischen Lösung destilliert man den Alkohol ab, säuert den Sirup mit Phosphorsäure stark an und schüttelt wiederholt mit größeren Mengen Äther aus, um der Entstehung von Emulsionen vorzubeugen. — (Ich fand folgendes Vorgehen bequem und gut. Der nach dem Entfernen des Alkohols verbliebene sirupartige Rückstand wurde mit Phosphorsäure angesäuert und dann nach Zusatz von etwas grobkörnigem Sand mit Gips vermischt und verrieben, bis eine trockene, pulverige Masse erhalten war; diese wurde in einer Papierpatrone im Soxhletschen Extraktionsapparate ausgezogen. Man bekommt hiebei keine Emulsion, erhält alle Milchsäure in Lösung und braucht wenig Äther. Man kann sich auch verschiedener zur Extraktion von Flüssigkeiten mit Lösungsmitteln [Äther usw.] angebotener Apparate bedienen [Apparate nach Partheil-Rose, Schwarz, Lind, S. 139]; der Harn wird in diesen direkt oder nach dem Eindicken mit Äther ausgezogen.) Der nach dem Abdestillieren des klaren Äthers verbleibende Rückstand wird mit Barytwasser neutralisiert, diese Lösung wird filtriert, auf ein kleines Volumen eingedunstet und das Bariumsalz mit absolutem Alkohol ausgefällt. Das Lactat wird gesammelt, mit absolutem Alkohol ausgewaschen, getrocknet, hierauf mit einer entsprechenden Menge Phosphorsäure digeriert und von neuem mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. (Der im Wasser gelöste Ätherrückstand kann auch eine halbe Stunde auf dem Wasserbade mit kohlensaurem Blei oder frisch gefälltem Bleioxydhydrat erhitzt und das nach dem Erkalten [nach Salkowski soll man heiß filtrieren] gewonnene Filtrat durch Schwefelwasserstoff zersetzt werden. Das Filtrat vom Bleisulfid wird nach der Konzentration mehrmals mit Äther ausgeschüttelt.) Die nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibende Milchsäure wird mit Wasser aufgenommen, Zinkcarbonat hinzugegeben, digeriert und das Filtrat zur beginnenden Krystallisation verdunstet; die nach 24—48 Stunden ausgeschiedenen, auf einer Tonplatte (Biskuitteller) abgesaugten Krystalle werden mit wenig absolutem Alkohol gewaschen und wieder aus Wasser auskrystallisiert. Die Krystallform, der Metallgehalt, besonders aber der Gehalt an Krystallwasser geben Anhaltspunkte zur Identifizierung als Milchsäure. Das milchsaure Zink bildet beiderseits abgestumpfte Keile. Die fleischmilchsauren Salze drehen links; die spezifische Drehung des Zinksalzes $(C_3H_5O_3)_2 . Zn + 2H_2O$ beträgt $= -6{,}06^0$ (doch s. Eigenschaften).

Es empfiehlt sich, um sich nicht durch andere Säuren (aromatische Oxysäuren) etwa Milchsäureanwesenheit vortäuschen zu lassen, das Krystallwasser des Zinksalzes zu bestimmen; dieses Salz krystallisiert mit 2 Mol. Krystallwasser, die bei 115° entweichen. Man läßt die mit wenig absol. Alkohol gewaschenen, dann wieder aus Wasser umkrystallisierten Krystalle an einem staubfreien Platze lufttrocken werden und bestimmt in einer abgewogenen Menge durch Trocknen bei 115° bis zur Gewichtskonstanz das Krystallwasser; dieses beträgt 12,89 (12,86) %. Das getrocknete, also wasserfreie Salz wird sehr vorsichtig verbrannt, der Rückstand soll 33,42 % Zinkoxyd, entsprechend 26,84 % Zink, hinterlassen.

Das Zinksalz der Gärungsmilchsäure enthält nach seiner Zusammensetzung $Zn(C_3H_5O_3)_2 + 3H_2O$ 18,18 % Krystallwasser, aber auch das mit Alkohol aus wässeriger Lösung ausgefällte fleischmilchsaure Zinksalz, also das δ-milchsaure Zinksalz hat 3 Mol. Wasser. (Daher Vorsicht!) Die Gärungsmilchsäure ist optisch inaktiv.

F. Araki[1]) empfiehlt zur weiteren definitiven Bestätigung, daß wirklich ein milchsaures Salz vorliegt, einen Teil des Zinklactats mit 3 Teilen Wasser und 1 Teil konz. Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohr 8 Stunden auf etwa 150° zu erhitzen und auf die Spaltungsprodukte, Ameisensäure und Aldehyd zu prüfen. Diese Reaktion hat Erlenmeyer[2]) schon empfohlen. Man neutralisiert die Lösung, destilliert den Aldehyd ab (gut kühlen) und prüft das Destillat auf Aldehydanwesenheit (mit schwefliger Säure entfärbte Fuchsinlösung wird rot, ammoniakalische Silberlösung beim Vorhandensein von freiem Alkali wird geschwärzt). Den Kolbenrückstand säuert man mit verdünnter Schwefelsäure stark an und destilliert diesmal die Ameisensäure über, deren Nachweis sich S. 127 angegeben findet.

Außer dem Nachweise in Form des Zinksalzes, des Gehaltes an Krystallwasser, an Zink in diesem, sind noch Reaktionen empfohlen, die mit der Lösung der isolierten Milchsäure anzustellen sind. Ausschlaggebend bei der Beurteilung bleiben der Nachweis der Krystallform, des Krystallwassers usw.

E. Ohlsson[3]) läßt 100—200 ccm Harn nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure und nach Sättigung des Harnes mit Ammoniumsulfat mit Amylalkohol ausschütteln und aus dieser Lösung die Säure durch Schütteln mit 20—30 ccm 30%iger Sodalösung ausziehen.

1. Die Uffelmannsche Probe.[4])

Eine wässerige, durch etwas Eisenchlorid violett gefärbte Phenollösung (1 Tropfen Eisenchlorid, 6 Tropfen acid. carbol. liquefact., 30,0 Wasser) wird durch Milchsäure gelb.

Beurteilung.

Die Methode ist gar nicht einwandfrei, da die Reaktion einerseits andere Stoffe (Essigsäure, Buttersäure, Äpfelsäure, Oxalsäure, Alkohol, Zucker u. a.) auch geben, andererseits sie wieder stören. Dem Phenol kommt keine Bedeutung bei der Reaktion zu; sie verläuft ohne Phenol ebenso.

2. Probe nach A. Ch. Vournasos.[5])

Die Lösung der Milchsäure wird nach dem Alkalischmachen mit 10%iger Kalilauge einige Minuten gekocht und mit 1—2 ccm einer Lösung von 1 g Jod und 0,5 g Jodkalium in 50 ccm Wasser und

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895. **19.** 434.
[2]) Zeitschr. f. Chem. 1868. 343.
[3]) Skand. Archiv Physiol. 1916. **33.** 231.
[4]) Zeitschr. klin. Mediz. 1885. **8.** 392.
[5]) Zeitschr. angew. Chem. 1902. **15.** 172.

0,5 g Methylamin versetzt. Es wird aufgekocht, wobei das entstehende Jodoform mit Methylamin die Isonitrilverbindung von bekanntem Geruche gibt.

Beurteilung.

Die Probe ist empfindlich. Acetonkörper müssen natürlich vorher entfernt sein (Abdampfen bei schwach saurer Reaktion). W. Croner und W. Cronheim[1]) verwenden an Stelle von Methylamin Anilin. Es entsteht Phenylisonitril.

3. Probe nach W. M. Fletscher und F. G. Hopkins.[2])

5 ccm konz. Schwefelsäure, ein Tropfen gesättigter Kupfersulfatlösung und einige Tropfen der Milchsäurelösung werden gemischt; das Reagenzglas bringt man 1—2 Minuten lang in ein kochendes Wasserbad, kühlt rasch ab und gibt 2—3 Tropfen einer alkoholischen Thiophenlösung (10—20 Tropfen : 100 ccm Alkohol) hinzu. Man bringt das Glas wieder ins siedende Wasserbad. Es entsteht eine kirschrote Farbe, wenn Milchsäure vorhanden ist, die auch nach dem sofortigen Abkühlen bestehen bleibt.

Beurteilung.

Empfindliche Reaktion.

4. Der von J. Boas[3]) angegebene Nachweis beruht auf der Oxydation von Milchsäure zu Aldehyd durch Erhitzen der Lösung mit Schwefelsäure (5 ccm) und etwas Braunstein in einem Destillationsapparate. Das übergehende Aldehyd wird in alkalischer Jodlösung oder in Nesslers Reagens aufgefangen. — Bildung von Jodoform oder rotbraunem Aldehydquecksilber.
5. Nach W. Thomas[4]) gibt Milchsäure mit mäßig verdünnter Chromsäurelösung im Wasserbade erwärmt eine rotbraune Färbung.

Quantitative Bestimmung nach O. v. Fürth und D. Charnass.[5])

Prinzip.

Die isolierte Milchsäure wird in einem besonderen Apparate in schwefelsaurer Lösung mit $^1/_{20}$ n-Permanganatlösung zu Aldehyd oxydiert $CH_3 \cdot CH(OH) \cdot COOH + O = CH_3COH + H_2O + CO_2$; dieser wird nach M. Ripper titriert; das Verfahren von Ripper beruht darauf, daß eine Aldehydlösung mit einer Kaliumhydrosulfitlösung von titrimetrisch ermitteltem Gehalte versetzt wird; es erfolgt eine Bindung der Sulfite durch den Aldehyd; der Sulfitüberschuß wird auf jodometrischem Wege bestimmt. Ein Mol. Aldehyd bindet ein Mol. des Hydrosulfits.

$SO_2 + J_2 + 2\,H_2O = H_2SO_4 + 2\,HJ$. 1 ccm $^1/_{10}$n-Jodlösung = $^1/_2$ ccm $^1/_{10}$ Aldehyd oder $\frac{0{,}0044}{2} = 0{,}0022$ g Aldehyd.

Ausführung.

1. Isolierung der Milchsäure nach F. N. Schulz.[6])

250 ccm Harn — eiweißhaltiger wird durch Aufkochen mit verdünnter Essigsäure vom Eiweiß befreit — werden mit Ammoniak alkalisch gemacht, dann erst über freier Flamme, weiter auf dem Wasserbade zum dicken Sirup eingedampft. Der Rückstand wird mit 15 ccm 10%iger Salzsäure gut verrieben und 2—$2^1/_2$ Stunden in einem besonders für die Extraktion breiiger

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** 1080.
[2]) Journ. of Physiol. 1907. **35.** 247.
[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1893. **19.** 940.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **50.** 540.
[5]) Biochem. Zeitschr. 1910. **26.** 199.
[6]) Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. VI. Aufl. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910.

Massen konstruierten Extraktionsapparate mit Äther extrahiert (Fig. 30). Dann wird der Äther in dem zur Extraktion benutzten Kolben mit etwa 30 ccm ammoniakhaltigem Wasser versetzt und der Äther vollständig entfernt. Man dampft zweckmäßig fast bis zur Trockene ein, um allen Äther zu beseitigen. Die so erhaltene Flüssigkeit dient zur Milchsäurebestimmung nach v. Fürth und Charnass. (Der Äther muß ganz rein sein.)

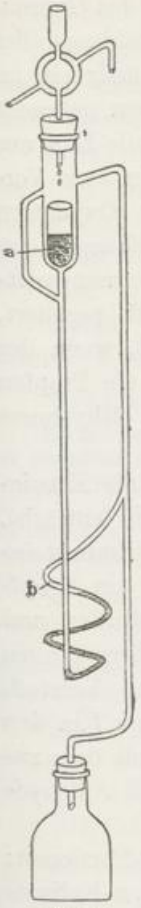


Fig. 30.

2. Milchsäurebestimmung.

Hiezu findet der Apparat[1]) Fig. 31 Anwendung.

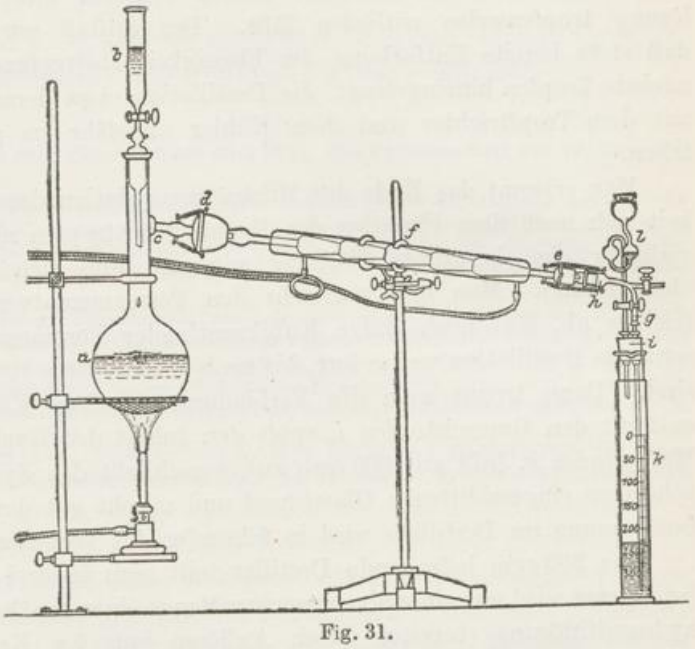


Fig. 31.

Der Kolben *a* wird mit 300 ccm verdünnter Schwefelsäure (am besten 1%ig) und mit der zu analysierenden Milchsäurelösung beschickt. Die Menge der Milchsäure soll zweckmäßigerweise 0,4 g nicht überschreiten.

Sodann wird der Tropftrichter *b* durch Ansaugen (mit Hilfe eines in seine obere Öffnung eingepaßten Gummistopfens mit Schlauchansatz) von unten her mit einer $^1/_{20}$ n-Kaliumpermanganatlösung bis zum Beginne seiner 50 ccm fassenden Teilung gefüllt und dabei darauf geachtet, daß sich unterhalb des Glashahnes nicht etwa Luftblasen befinden. Der gefüllte Tropftrichter wird fest in den für ihn bestimmten, leicht gefetteten Glasschliff eingesetzt und der Verschluß durch Einhängen der Spiralfeder versichert.

Jetzt wird der Meßzylinder *k* mit etwa 50 ccm Wasser beschickt, der Gummistopfen *i* eingesetzt, der Vorstoß *h* eingefügt, dieser mit dem Kühler *f*

[1]) Apparat liefert die Glasbläserei von H. Gareis, Wien IX. Hörlgasse.

und der letztere durch das Ansatzrohr *c* mit dem Destillationskolben verbunden. Nunmehr setzt man noch den Kugeltrichter *l*, dessen Kugeln zur Hälfte mit Wasser gefüllt sind, in die für ihn bestimmte Bohrung des Gummistopfens *i* ein und überzeugt sich endlich von dem genauen Verschlusse aller Verbindungen und dem Funktionieren der Kühlung. Die Flüssigkeit im Destillationskolben *a* wird vorsichtig angeheizt und zum Kochen gebracht (Drahtnetzunterlage). Man setzt das Kochen so lange fort, bis alle Luft aus dem Apparate vertrieben ist und die Flüssigkeit der Vorlage in dem Vorstoße *h* zurückzusteigen beginnt. Erst dann wird mit der Oxydation begonnen, und zwar in der Weise, daß man, während die Flüssigkeit im Destillationskolben in mäßigem Sieden erhalten wird, die Permanganatlösung tropfenweise zufließen läßt. Der Zufluß wird derart reguliert, daß stets bereits Entfärbung der Flüssigkeit stattgefunden hat, wenn der nächste Tropfen hineingelangt, die Destillation etwa derart, daß die Tropfen aus dem Tropftrichter und dem Kühler ungefähr im gleichen Rhythmus fallen.

Man erkennt das Ende der Milchsäureoxydation daran, daß die Flüssigkeit sich nach dem Einfallen der Permanganattropfen nicht mehr entfärbt, vielmehr eine braunrote Färbung annimmt und sich trübt (Braunsteinabscheidung). Man liest nunmehr den Permanganatverbrauch am Tropftrichter ab, läßt noch einige Kubikzentimeter Permanganat zufließen und setzt die Destillation weiter fort, bis noch etwa weitere 100 ccm übergegangen sind. Dann trennt man die Verbindung zwischen Kühler und Vorstoß, entfernt den Gummistopfen *i*, spült den Inhalt des Kugeltrichters *l* in den Meßzylinder *k*, füllt auf 300 ccm auf, verschließt den Zylinder mit dem zugehörigen eingeschliffenen Glasstöpsel und mischt gut durch. Die Aldehydbestimmung im Destillate wird in folgender Art vorgenommen.

Das 300 ccm betragende Destillat teilt man in drei gleiche Portionen; jede dieser wird mit einer abgemessenen Menge einer annähernd $^1/_{10}$ n-Kaliumhydrosulfitlösung (bereitet durch Auflösen von 6 g Kaliumhydrosulfit in 1 Liter Wasser) versetzt und zwar muß dieser Zusatz so bemessen sein, daß aller im Destillate vorhandene Aldehyd gebunden werden kann und dann noch ein nicht allzu kleiner Sulfitüberschuß übrig bleibt.

Ein Maß für die Menge vorhandener Milchsäure bietet der Verbrauch an Permanganat bis zur Beendigung der Oxydation. 1 ccm $^1/_{10}$ n-Milchsäure erfordert zur Oxydation in saurer Lösung 1 ccm $^1/_{10}$ O oder 2 ccm $^1/_{10}$ n-$KMnO_4$; je 1 ccm $^1/_{10}$ Milchsäure liefert je 1 ccm $^1/_{10}$ n-Aldehyd, dieser bindet 2 ccm $^1/_{10}$ n-$KHSO_3$ und diese wiederum 2 ccm $^1/_{10}$ n-Jod. Der schließliche Verbrauch an ccm $^1/_{10}$ n-Jod bei der Titration nach Ripper sollte also theoretisch gleich sein der Zahl Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-$KMnO_4$, die zur Oxydation der Milchsäurelösung gebraucht wird; die Werte decken sich zwar nicht ganz, der Permanganatverbrauch gibt aber eine gute Orientierung über die zu erwartende Aldehydmenge.

Die mit dem Bisulfitüberschusse versetzten aldehydhaltigen Destillate läßt man nunmehr nach kräftigem Umschütteln mindestens $^1/_4$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Während dieser Zeit stellt man den Titer der angewandten Bisulfitlösung fest, indem man mehrere abgemessene Mengen mit $^1/_{10}$ n-Jodlösung titriert.

Dann werden die drei Proben des Destillates nach Zusatz von Stärkelösung mit $^1/_{10}$ n-Jodlösung bis zur beginnenden Blaufärbung titriert.

Berechnung.

Die drei gefundenen Werte (für je 100 ccm Destillat) werden zusammengezählt, daraus wird die gesamte Jodmenge und daraus wieder die Milchsäure berechnet.

Z. B. für die 100 ccm Destillat wurden jedesmal 20 ccm Bisulfitlösung, die 18,2 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung entsprechen, vorgelegt; zum Zurücktitrieren waren 7,4, 8,1 und 8,1 ccm n/10-Jod nötig; es wurden demnach verbraucht 10,8, 10,1 und 10,1 ccm n/10-Jodlösung, für die 300 ccm Destillat zusammen 31,0 ccm $^1/_{10}$ n-Jod.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Jod = $^1/_2$ ccm $^1/_{10}$ n-Aldehyd, demnach $^1/_2$ ccm $^n/_{10}$ Milchsäure = 0,0045 g Milchsäure; 31,0·0,0045 g = 0,1395 g Milchsäure.

Beurteilung.

Die Ausbeute beträgt nach dieser Methode etwa 90%. Das Verfahren wird von W. Dapper[1]) als brauchbar empfohlen.

Ein Verfahren zur Milchsäurebestimmung gibt J. Schneyer[2]) an, das sich auf das von R. Meissner[3]) für die Bestimmung von Milchsäure in Organextrakten empfohlene gründet; es beruht darauf, daß Milchsäure und milchsaure Salze, mit dem 5—6fachen Gewichte Schwefelsäure versetzt, bei gelindem Erwärmen Kohlenoxyd entwickeln. 1 Mol. Milchsäure = 1 Mol. Kohlenoxyd.

M. Polonowski[4]) bringt Bemerkungen zur kolorimetrischen Bestimmung der Milchsäure im Urin. Der Urin wird mit Eiweißlösung und durch Fällung mit Natriummetaphosphat in sehr verdünnter schwefelsaurer Lösung geklärt und entfärbt, 1 ccm des Filtrates mit 5 ccm konz. Schwefelsäure und 5 Tropfen einer 1%igen alkoholischen Kodeinlösung versetzt und die erhaltene gelbe Lösung kolorimetrisch mit Proben verglichen, die 0,01—0,1 g Milchsäure enthalten und in gleicher Weise behandelt wurden.

Siehe noch: K. Ishihara, Biochem. Zeitschr. 1913. **50.** 468; A. Bellet, Bull. Soc. Chim. de France. 1913. [4] **13.** 565; Chem. Centralbl 1913 **84.** II: 458 — M. E. Maver, Journ Biol Chem. 1917. **32.** 71.

Eigenschaften.

Die d-Milchsäure bildet einen in Wasser, Alkohol, Äther löslichen Sirup; sie verflüchtigt sich in sehr geringen Mengen mit Wasserdämpfen. Die freie Säure (Fleischmilchsäure) dreht rechts; die spezifische Drehung steigert sich mit der Konzentration; so betrug diese Drehung $[\alpha]_D$ nach F. Hoppe-Seyler und T. Araki[5]) bei 39,8 g in 100 ccm = + 3,5°, bei 11,2 g in 100 ccm = + 1,7°. Umgekehrt ist dies bei den Lösungen der Salze, die in verdünnter Lösung stärker drehen, als in konzentrierter, z. B. 8,3—9,1 g Zinksalz in 100 ccm = − 6,58°, 4,18 g in 100 ccm = − 7,55°. Die fleischmilchsauren Salze drehen links. Das Zinksalz krystallisiert in glänzenden Prismen mit 2 Mol. Krystallwasser. Die Fleischmilchsäure gibt die Liebensche Jodoformprobe nicht, wie die Gärungsmilchsäure; letztere, auch in Salzen, ist optisch inaktiv.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1913. **51.** 398.
[2]) Ebenda. 1915. **70.** 294.
[3]) Ebenda. 1914. **68.** 175.
[4]) Compt. rend. soc. d. biolog. 1920. **83.** 475; Chem. Centralbl. 1920. **91.** II. 69; Pharm. Centralh. 1921. **62.** 44.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895. **20.** 365.

Nach C. Neuberg[1]) trifft die Angabe, daß die d-Milchsäure (Fleischmilchsäure) mit Jod und Alkalihydrat kein Jodoform gibt, nicht zu.

6. Aminosäuren.

Unter dem Namen Aminosäuren faßt man gewisse bei der Hydrolyse der Eiweißstoffe (Proteine) entstehende Spaltungsprodukte zusammen; die verschiedenen Eiweißstoffe enthalten die gleichen Aminosäuren, wenn auch hie und da die eine oder die andere Aminosäure fehlt.

Solche Aminosäuren sind unter anderen in der aliphatischen Reihe das Glykokoll, das Alanin, die Aminoisovaleriansäure, das Leucin, die Asparaginsäure, die Glutaminsäure, das Lysin, das Arginin, das Cystin und Cystein, zwei schwefelhaltige Aminosäuren; in der aromatischen Reihe sind das Phenylanalin und das Tyrosin zu nennen.

Ob Aminosäuren im normalen Harne ausgeschieden werden, dafür liegt, wie Abderhalden bemerkt, kein einwandfreier Beweis vor, höchstens Spuren von Aminosäuren könnte der normale Harn enthalten. Aus normalem Harne wurde mit Sicherheit Glykokoll isoliert. (Embden, Reese, Marx, A. v. Reuss.) Nach den Ergebnissen der Arbeiten von W. Henriques und S. P. L. Sörensen kommen sowohl Aminosäuren, als auch Polypeptide als normale Bestandteile im Menschenharne vor, so daß also jeder Harn kleine Mengen freier Aminosäuren enthält; der Aminosäurenstickstoff soll etwa 0,5—2,0% des gesamten Stickstoffes im Harne betragen. Aminosäuren werden gewöhnlich abgebaut, desamidiert, das abgespaltene Ammoniak dient zur Harnstoffbildung.

Häufig erscheinen Aminosäuren, manchmal in recht großer Menge, unter pathologischen Verhältnissen im Urin; so finden sich bei der akuten Leberatrophie Leucin und Tyrosin, bei der Cystinurie tritt Cystin auf; beträchtliche Mengen von Aminosäuren wurden bei Pneumonie besonders zur Zeit der Krise, bei Diabetes, Typhus, bei Leukämie und vor allem im Harne von Gichtkranken (hier Glykokoll) vorgefunden.

Die biologische Bedeutung dieser Aminosäuren ist noch wenig erforscht.

Die Aminosäuren sind, da sie in ihrem Moleküle die Carboxylgruppe und mindestens eine Aminogruppe enthalten, zugleich Säuren und Basen. Nach der Zahl der eingetretenen Aminogruppen unterscheidet man Mono-, Di- und Poly-Aminosäuren.

Als Säuren geben sie mit Metalloxyden und Metallhydroxyden Salze, in ihren alkoholischen (absoluter Alkohol) Lösungen durch Einleiten von Salzsäuregas Ester. (Th. Curtius.)

Als Basen geben sie mit Säuren Salze, werden durch die meisten Alkaloidreagenzien gefällt und liefern mit Benzoylchlorid, β-Naphthalinsulfochlorid und Phenylisocyanat in alkalischen Lösungen zu ihrer Isolierung und Kennzeichnung wichtige Verbindungen.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1912. 43. 500.

Nachweis und Darstellung der Aminosäuren.

Das von E. Fischer und P. Bergell[1]) zuerst angewandte Verfahren zur Bestimmung und Isolierung dieser Säuren hat A. Ignatowski[2]) den klinischen Bedürfnissen anzupassen versucht. Auch J. Erben[3]), dann E. Abderhalden und Lewellys, F. Barker[4]), sowie viele andere haben mit Hilfe des β-Naphthalinsulfochlorids für die Klinik brauchbare Methoden zum Nachweise der Aminosäuren ausgearbeitet und empfohlen.

Das Verfahren gründet sich auf eine Umsetzung der Aminosäuren in alkalischer Lösung mit β-Naphthalinsulfochlorid zu Naphthalinsulfoaminosäuren.

$$\begin{matrix} R.CH-NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix} + Cl.SO_2.C_{10}H_7 + NaOH = \begin{matrix} R.CH.NH.SO_2.C_{10}H_7 \\ | \\ COOH \end{matrix} + NaCl + H_2O.$$

Der zu untersuchende Harn (500 g) wird nach Ignatowski mit Bleizucker gefällt; wenn man das Vorhandensein größerer Mengen Leucin im Harne vermutet, verdünnt man den Harn vor der Fällung stark; aus dem Filtrate wird der Überschuß an neutralem Bleisalz mit Schwefelwasserstoff, dieser durch leichtes Erwärmen entfernt. Sehr zweckmäßig ist es, wenn man das Filtrat bis zur Hälfte des verwendeten Harnes unter vermindertem Drucke bei einer Temperatur von höchstens 45° eindampft. Die dann mit Salzsäure angesäuerte Lösung wird 3 Stunden lang mit Äther 2 : 1 mit Hilfe einer Schüttelmaschine geschüttelt, um Phenole, Oxysäuren usw. zu entfernen und der Äther abgegossen.

Da das Ammoniak des Harnes mit Naphthalinsulfochlorid reagiert, wird dieses erst entfernt; man dampft den Harn vor der Bleifällung bei schwach alkalischer Reaktion im Vakuum stark ab. Man verdünnt den Rückstand stark mit Wasser, fällt mit Blei usw.

Zu dem auf die soeben angegebene Weise vorbehandelten Harne setzt man β-Naphthalinsulfochlorid und zwar auf je 500 ccm nichtkonzentrierten Harnes 2 g in 10%iger ätherischer Lösung. Diese Mischung wird mit Kalilauge oder Normalnatronlauge leicht alkalisch gemacht und 9 Stunden geschüttelt. Im Laufe dieser Zeit setzt man in Abständen von 3 Stunden zweimal je 1 g des Reagens in Ätherlösung zu, wobei man einen zu großen Überschuß von Äther vermeidet und darauf achtet, daß die alkalische Reaktion der Mischung erhalten bleibt, außerdem setzt man Normalnatronlauge zu. Nach 9 Stunden wird der Äther abgegossen, die darunter befindliche Flüssigkeit durch Filtrieren geklärt und mit Salzsäure übersättigt. Wenn in der Mischung Aminosäuren enthalten sind, erhält man durch Salzsäurezusatz eine reichliche Trübung, die Flüssigkeit nimmt eine weißliche Färbung an und wird in seltenen Fällen milchfarben. Eine schwache Trübung zeigt auch jener Harn, der keine Aminosäuren enthält, deshalb ist es notwendig, aus der Flüssigkeit die Krystallverbindungen der Naphthalinsulfoaminosäuren zu isolieren. Selten scheiden sich die Krystalle von selbst aus, wenn der Harn der Kälte ausgesetzt ist, man muß meist eine weitere Behandlung anschließen. Man

[1]) Berl. Bericht. 1902. **35.** 3779.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **42.** 371.
[3]) Ebenda. 1904. **43.** 320.
[4]) Ebenda. 1904. **42.** 524.

setzt zu der Flüssigkeit eine gleiche Menge Äther und schüttelt die Mischung 3 Stunden lang; der Niederschlag geht bei saurer Reaktion in den Äther über und zwar lösen sich die β-Naphthalinsulfoaminosäuren und zum Teil die Spaltungsprodukte des Naphthalinsulfochlorids. Die Ätherlösungen — man schüttelt noch zweimal mit neuen Äthermengen aus — werden mit kleinen Wassermengen gewaschen, um die Spuren Salzsäure zu entfernen. Den Äther verdampft man durch leichtes Erwärmen — man destilliert ihn ab, um ihn wieder zu gewinnen — und nimmt den Rückstand in kleinen Portionen mit 15—20%igem Alkohol sorgfältig auf; die trübe Flüssigkeit wird erwärmt, bis sie klar wird und in heißem Zustande filtriert; aus dem Filtrate scheiden sich in der Kälte die Krystalle ab. Man macht zweckmäßig noch eine Kontrolluntersuchung durch abermaliges Ausschütteln des wieder alkalisch gemachten Harns mit β-Naphthalinsulfochlorid, um zu sehen, ob alle Aminosäuren gebunden worden sind.

Die Verbindungen, die Naphthalinsulfoverbindungen des Glykokolls, Leucins, Tyrosins, Alanins und der Asparaginsäure, lösen sich leicht in Ammoniak, Äther, Alkohol, zum Teil auch in Benzol, schwer sind sie löslich in heißem, noch schwerer in kaltem Wasser; in verdünnten Alkalien sind sie alle löslich, beim Ansäuern der Lösungen fallen sie wieder aus.

Von großer diagnostischer Bedeutung ist die Fähigkeit, Äthylester zu bilden. Zu ihrer Darstellung werden nach E. Fischer[1]) die Lösungen der Naphthalinsulfoaminosäuren in der 10fachen Menge von absolutem Alkohol ohne Kühlung mit Salzsäuregas gesättigt; beim Eingießen der alkoholischen Flüssigkeit in kaltes Wasser scheidet sich der Äthylester als dicker Brei ab, der in der Kälte rasch krystallisiert. Die Ester lösen sich in Äther und in schwachen Alkalien auf und fallen beim Zusatze von Säuren aus. Die Äthylester krystallisieren leicht und besitzen scharfe Schmelzpunkte. Durch Verseifen der Ester oder der einzelnen Esterfraktionen gewinnt man die freien Aminosäuren (E. Abderhalden[2]). Für den Harn wird die Methode aber wohl kaum in Betracht kommen.

Das β-Naphthalinsulfoglykokoll krystallisiert in langgestreckten zugespitzten Blättern, meist büschelförmig verwachsen, mit 156°[3]) Schmelzpunkt. Der Äthylester schmilzt bei 79°. Das Bariumsalz des β-Naphthalinsulfoglykokolls ist zum Unterschiede von den Bariumsalzen der übrigen Aminosäuren in Wasser sehr schwer löslich; das Glykokoll scheidet sich mit dem β-Naphthalinsulfochlorid am leichtesten und sehr vollständig aus seinen Lösungen ab.

Das β-Naphthalinsulfoalanin stellt unter dem Mikroskope sehr feine, lange, spießartige Prismen dar. Schmelzpunkt 151° (korrig. 152 bis 153°), der Äthylester schmilzt bei 78°. (Ausbeute aber nur etwa 40%.)

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **33.** 154.
[2]) Archiv exper. Patholog. Therap. 1906. II. 642.
[3]) Naphthalinsulfoglykokoll 159° (korrig. Schmelzp.).
β-Naphthalinsulfo-δ-l-alanin 79—81° (wasserhaltig; wasserfrei 122—123°).
β-Naphthalinsulfo-l-leucin 68°.
Dinaphthalinsulfotyrosin (Natriumsalz) 252—254°.

Die β-Naphthalinsulfoverbindung des d, l-Leucins stellt in ganz reinem Zustande schmale, lange Blättchen dar, verlängerte Täfelchen mit 145—146° (korrig.) Schmelzpunkt; der Äthylester schmilzt bei 77°. Die Ausbeute beträgt nicht mehr wie 50%.

In unreinem Zustande kommen Formen von Stechäpfeln, radial gestreiften Kugeln vor.

Die Verbindung des Tyrosins mit β-Naphthalinsulfosäure bildet Drusen aus kleinen zugespitzten Krystallen; die Krystallisation erfolgt langsam. Schmelzpunkt 128—130°.

Die Hippursäure tritt mit β-Naphthalinsulfochlorid in keine Wechselwirkung, sie wird auch vorher durch Äther entfernt.

Die Herstellung und Trennung der einzelnen Aminosäuren ist sehr schwer; Ignatowski bediente sich des Verfahrens von E. Fischer, die Verbindungen bei andauerndem Erhitzen mit Salzsäure im geschlossenen Rohre bei 110—120° zu spalten. Man erhitzt mit der 10fachen Menge Salzsäure (1,19 spez. Gewicht) fünf Stunden lang, löst den Inhalt der Röhre in Wasser und filtriert. Das Filtrat dampft man ein, löst den Rückstand in Wasser und fällt die Lösung vorsichtig mit kleinen Mengen von Bleiessig; die sich bildenden Niederschläge filtriert man immer ab, da sie sich im Überschusse lösen. Den Überschuß von Bleiessig entfernt man durch Schwefelwasserstoff, dampft die Lösung der Aminosäuren ein, löst den Rückstand in Salzsäure, entfernt die Salzsäure durch Eindampfen und stellt aus den Chloriden die freien Aminosäuren dadurch her, daß man die Lösung der Aminosäurenchloride mit frisch bereitetem Silberoxyd fällt, das Chlorsilber und das im Überschusse zugesetzte Silberoxyd entfernt und aus dem Filtrate die Aminosäuren durch Krystallisieren gewinnt.

Zur Identifizierung des Glykokolls führt man dieses in die Kupferverbindung über, was man durch Kochen der Aminosäurelösung mit Kupfercarbonat erreicht; das sehr charakteristische Kupfersalz bildet Nadeln, die in Wasser leicht, in Alkohol nicht löslich sind. Zur Trennung des Glykokolls von anderen Aminosäuren benützt man, wie schon oben erwähnt, die Barytsalze. Das Gemenge der verschiedenen Naphthalinsulfoaminosäuren wird nach E. Abderhalden und P. Bergell[1]) durch Zusatz der 20fachen Menge heißen Wassers und einiger Tropfen Ammoniak in Lösung gebracht; der Überschuß des Ammoniaks wird durch Erhitzen auf dem Wasserbade entfernt und zu dieser Lösung Bariumchloridlösung hinzugegeben. Der Niederschlag wird auf dem Porzellanfilter abgesaugt; er stellt das Bariumsalz des β-Naphthalinsulfoglykokolls dar, die Bariumsalze der übrigen β-Naphthalinsulfoaminosäuren gehen ins Filtrat über. Man zersetzt den Niederschlag mit Salzsäure, worauf man das Naphthalinsulfoglykokoll erhält. Der Umstand, daß die β-Naphthalinsulfoaminosäuren in Alkohol gut und in Wasser schlecht löslich sind, ermöglicht es, die Verbindungen durch Umkrystallisieren aus heißem 30%igem Alkohol zu reinigen.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **39**. 464.

Das die Bariumsalze der anderen Naphthalinsulfoaminosäuren enthaltende Filtrat versetzt man mit Salzsäure und extrahiert die Säuren mit Äther. Zur Isolierung und Trennung der einzelnen Aminosäuren erhitzt man den Ätherrückstand mit Salzsäure wie Seite 145 angegeben oder man nimmt die Estermethode Seite 144 vor.

Zur weiteren Identifizierung verschiedener Aminosäuren kann man sich zweckmäßig der von C. Paal[1]) angegebenen Methode bedienen, die auf der Darstellung der Phenylisocyanatverbindungen beruht. Zur Darstellung dieser Verbindungen löst man die Säure in der zur Neutralisation nötigen Menge von Normallauge, kühlt stark ab und bringt allmählich unter Schütteln die erforderliche Menge Phenylisocyanat hinzu; man schüttelt bis zum Verschwinden des Cyanatgeruches, gibt Tierkohle zur Lösung, schüttelt wieder und filtriert. Das Filtrat wird angesäuert; es fällt anfangs eine meist harzige Masse aus, die allmählich krystallinisch wird und die aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert werden kann.

Beim Kochen der Phenylisocyanatverbindung mit 25%iger Salzsäure und nachherigem Eindampfen scheidet sich das Anhydrid krystallinisch aus.

Die Phenylisocyanatverbindung des Glykokolls schmilzt bei 195°, die des i-Leucins bei 165°.

C. Neuberg u. A. Manasse, O. Loewy u. C. Neuberg[2]) geben eine Isolierung der Aminosäuren mit α-Naphthylisocyanat an. 1 Liter Harn wird im Vakuum auf 100 ccm eingeengt und mit Natronlauge neutralisiert. Hiezu werden 5 g α-Naphthylisocyanat und 50 ccm n-Natronlauge zugesetzt; das Ganze wird mehrmals tüchtig geschüttelt; man läßt ½ Stunde stehen, schüttelt wieder 3 Minuten und wiederholt diese Operation noch 1—2mal. Man filtriert endlich vom Niederschlage (Dinaphthylharnstoff) ab und säuert das Filtrat an; die Verbindungen der Aminosäuren fallen aus und können aus Alkohol umkrystallisiert werden.

Über die direkte Isolierung von den für uns wichtigen Aminosäuren (Cystin, Tyrosin, Leucin) findet sich bei der Besprechung dieser Näheres angegeben.

Quantitative Bestimmung der Aminosäuren.

Über die Bestimmung der Aminosäuren ist eine reiche Literatur angewachsen, seit von Sörensen die „Formoltitration" hiezu empfohlen worden ist. Da der Ermittelung des Wertes der Aminosäuren gegenwärtig eine wesentliche Bedeutung beigemessen wird, sollen die empfohlenen Methoden im Nachstehenden eingehendere Erwähnung finden, wobei es wohl am zweckdienlichsten sein wird, mit der Aufzählung der Methoden gewissermaßen chronologisch zu verfahren.

Prinzip.

Die Methode der „Formoltitration", wie sie wohl am kürzesten genannt wird, ausgehend von den Angaben von H. Schiff[3]), beruht darauf, daß ein Zusatz neutralisierter Formollösung zur Lösung einer Aminosäure die Trennung der Amin- von der Säurefunktion bewirken wird, indem die Aminogruppe wegen des Einflusses des Formols eine Methylenverbindung bildet, wodurch es möglich wird, die Menge der verschiedenen Carboxylgruppen titrimetrisch zu bestimmen. Der Verlauf (z. B. Alanin + Formol) ist folgender:

---

[1]) Berl. Bericht. 1894. **27.** 974.
[2]) Berl. Bericht. 1905. **38.** 2359; Biochem. Zeitschr. 1906. **2.** 438.
[3]) Annal. Chem. 1900. **319.** 59, 287; 1902. **325.** 348; Zeitschr. analyt. Chem. 1911. **50.** 528.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH.NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + HCOH = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH.N.CH_2 \\ | \\ COOH. \end{array} + H_2O$$

Mit der Formoltitrierung muß zugleich eine Ammoniakbestimmung im Harne vorgenommen werden, da sich ja Ammoniak mit Formaldehyd ebenfalls kondensiert. Man ermittelt daher in dem von Phosphaten befreiten, gegen Lackmus neutralisierten Harne einerseits das Ammoniak, andererseits durch Titrieren mit $^1/_5$ n-Natronlauge oder -Barytwasser die Acidität, die der Harn durch die Bindung von Methylen aus dem Ammoniak und der Aminogruppe annimmt. 1 ccm $^1/_5$ n-Lauge $= \frac{14}{5} = 2{,}8$ mg Stickstoff, vorhanden als Ammoniak- und als Monoaminosäuren-Stickstoff. Zieht man von dem Produkte 2,8 · der Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_5$ n-Lauge die Anzahl Milligramme Ammoniak-Stickstoff ab, so erhält man die Menge des Aminosäuren-Stickstoffes, des formoltitrierbaren Stickstoffs. Bei der neueren Methode werden auch die Aminosäuren berücksichtigt, die durch Spaltung mit Säure aus den in peptidartiger Bindung vorhandenen Substanzen freiwerden.

Sörensen u. Henriques haben ihr älteres Verfahren und die neue Ausführung desselben in der folgenden Weise mitgeteilt; es erübrigt sich daher, auf ihre früheren Abhandlungen weiter einzugehen.

Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren, Polypeptide und der Hippursäure im Harne durch Formoltitration von V. Henriques und S. P. L. Sörensen.[1])

Nach den Versuchsergebnissen glauben die Verfasser den Schluß ziehen zu dürfen, daß sowohl Aminosäuren, wie auch Polypeptide als normale Bestandteile des Harnes, auch im Menschenharne, regelmäßig vorkommen. Die Bezeichnungen „Aminosäuren" und „Polypeptide" wurden beibehalten, obwohl diese Namen den Ergebnissen der Formoltitration nicht vollständig entsprechen; es werden bei der Aminosäurenbestimmung z. B. nicht nur die in die eigentlichen Aminosäuren, (z. B. Glykokoll) eingehenden Aminogruppen, sondern auch die in den Polypeptiden und noch komplizierteren Eiweißabkömmlingen vorhandenen formoltitrierbaren Aminogruppen bestimmt. Unter dem üblichen kürzeren Ausdruck „Aminosäurenstickstoff" ist die neben dem Ammoniakstickstoff noch vorhandene formoltitrierbare Stickstoffmenge zu verstehen; unter „Polypeptidstickstoff" wird die peptidgebundene Stickstoffmenge verstanden.

Die Verfasser geben zu, daß die Beobachtung von L. de Jager[2]) richtig ist, daß Ammoniumsalze zu niedrige Werte veranlassen können und daß die erwähnte Fehlerquelle von Bedeutung sein kann, wenn hinlänglich große Ammoniakmengen anwesend sind. Man darf bei Untersuchung sehr ammoniakreicher Harne und besonders solcher Harne, die zur Spaltung von Polypeptiden mit Salzsäure eingedampft worden sind, die erwähnte Fehlerquelle nicht außer acht lassen. Möglicherweise ist der Fehler in einer intermediären Entstehung von Methylenimin bei der Bildung von Hexamethylentetramin zu suchen.

A. Die alte Methode[3]), zur Bestimmung von Ammoniak und von Aminosäuren brauchbar.

Erforderliche Reagenzien und Lösungen.

1. Phenolphthaleinlösung: 0,5 g. Phenolphthalein werden in 50 ccm Alkohol und 50 ccm Wasser gelöst.

2. Empfindliches Lackmuspapier: 0,5 g fein gepulvertes Azolitmin werden in einer Schale in 200 ccm Wasser + 22,5 ccm $^1/_{10}$ n-Natronlauge gelöst und nach dem Filtrieren mit 50 ccm Alkohol versetzt. Durch die Lösung werden Streifen guten, aschenarmen Filtrierpapiers gezogen und auf Schnüren getrocknet, was etwa eine Stunde dauert. Das Papier muß den Sörensenschen Phosphatlösungen gegenüber sich in folgender Weise verhalten:

3 sek. + 7 prim. ($PH^{\cdot}$ = 6,47): schwach saure Reaktion
5 sek. + 5 prim. („ = 6,81): neutrale „
7 sek. + 3 prim. („ = 7,171): schwach alkal. „

Wenn eine dargestellte Probe Lackmuspapier den Phosphatlösungen gegenüber nicht nach Wunsch reagiert, muß die der Azolitminlösung zugesetzte Natronmenge in entsprechender Weise geändert werden.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 120.
[2]) Ebenda. 1909. **62.** 333.
[3]) Ebenda. 1909. **60.** 1. 1909. **63.** 36.

3. Formolmischung. Ist immer frisch herzustellen.

50 ccm käufliches Formol (30—40%ig) wird mit 1 ccm Phenolphthaleinlösung und danach mit $^1/_5$ n-Barytlauge oder $^1/_5$ n-Natronlauge bis zum ganz schwachen rosa Farbenton vermischt. Sörensen unterscheidet 3 Stadien der Färbung der Kontrollösung bei dem Titrieren. Zu 20 ccm ausgekochtem, kohlensäurefreiem, destilliertem Wasser — Kontrollösung — bringt man 10 ccm Formolmischung, dann etwa 5 ccm der $^1/_5$ n-Barytlauge oder $^1/_5$ n-Natronlauge und titriert mit $^1/_5$ n-Salzsäure zurück, bis ein schwach rosa Farbenton erzielt ist (I. Stadium), man setzt noch einen Tropfen Lauge zu, es entsteht das II. Stadium, eine deutliche rote Färbung; setzt man zwei weitere Tropfen zu, dann entsteht eine stark rote Färbung, das III. Stadium.

Ausführung der Bestimmung.

In einem 100 ccm fassenden Meßkolben werden 50 ccm Harn abpipettiert und mit 1 ccm Phenolphthaleinlösung (0,5 g Phenolphthalein in 50 ccm Alkohol + 50 ccm Wasser gelöst) und mit 2 g festem Bariumchlorid versetzt. Nach dem Umschütteln bis zur Lösung des Bariumchlorids werden eine gesättigte Lösung von Bariumhydroxyd* bis zum Eintritte einer roten Farbe und darauf noch 5 ccm zugesetzt, worauf der Kolben bis zur Marke mit Wasser gefüllt wird. Nach gutem Umschütteln wird der Kolben 15 Minuten stehen gelassen, worauf man durch ein trockenes Filter filtriert. 80 ccm des klaren roten Filtrates (40 ccm Harn entsprechend) werden in einen 100 ccm fassenden Meßkolben gebracht, worauf die Flüssigkeit durch Zusatz von $^1/_5$ n-Salzsäure und mit empfindlichem Lackmuspapier als Indicator neutralisiert und darauf mit ausgekochtem, kohlensäurefreiem Wasser bis auf 100 ccm verdünnt wird. In gleich großen Teilen der neutralen Flüssigkeit z. B. in 40 ccm = 16 ccm Harn bestimmt man teils das Ammoniak, teils die formoltitrierbare Stickstoffmenge.

Die Ammoniakbestimmung in den 40 ccm wird durch Destillation im Vakuum nach der von M. Krüger und O. Reich angegebenen Anordnung ausgeführt (Seite 68). 1 ccm $^1/_5$ n-Säure = 0,0028 g N.

Zur Ermittelung der formoltitrierbaren Stickstoffmenge[1]) setzt man zu anderen 40 ccm = 16 ccm Harn 10 ccm der Formolmischung (oben) und unmittelbar darauf von der $^1/_5$ n-Baryt- oder $^1/_5$ n-Natronlauge bis zur Rotfärbung und außerdem noch einige ccm der $^1/_5$ n-Lauge, um etwa noch vorhandene Carbonate oder Phosphate zu fällen. Man titriert darauf mit der $^1/_5$ n-Salzsäure zurück, bis die Farbe schwächer als die der Kontrollösung I erscheint (s. oben) und setzt dann Lauge zu, bis die Farbe der Kontrollösung II erreicht ist, endlich wird weiter titriert, bis die Färbung des III. Stadiums erfolgt ist.

Bei der Ammoniakdestillation erhält man den Ammoniakgehalt in 16 ccm Harn. Multipliziert man die bei der Formoltitrierung verbrauchte Menge $^1/_5$ n-Lauge in ccm mit 2,8, so erhält man die gesamte Stickstoffmenge

---

* Anm. S. P. L. Sörensen[2]) hat nachgewiesen, daß Kohlensäure und Phosphorsäure durch Ausfällen in der angegebenen Weise entfernt sein müssen, wenn zur Formoltitrierung Natronlauge verwendet werden soll. Die anwesenden Phosphate verhindern auch einen scharfen Umschlag beim Titrieren.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1907. **7.** 64. 1909. **21.** 133. 175; 1909. **22.** 355.

[2]) Ebenda. 1907. **7.** 58. 1909. **25.** 1.

in mgr ausgedrückt, die in 16 ccm Harn als Ammoniak- und als Aminosäurenstickstoff anwesend ist. Die Differenz zwischen dieser Gesamtstickstoffmenge und der durch die Ammoniakbestimmung gefundenen, als Ammoniak vorhandenen gibt die Menge des Aminosäurenstickstoffes in 16 ccm Harn in mgr an.

B. Die neue Methode, zur Bestimmung von Ammoniak, Hippursäure, Aminosäuren und der peptidgebundenen Stickstoffmenge geeignet.

a) Bestimmung von Ammoniak und Aminosäuren.

Wie oben unter A beschrieben, werden in einem 100 ccm fassenden Meßkolben 50 ccm Harn mit Phenolphthalein, Bariumchlorid und Bariumhydroxyd behandelt und bis zu 100 ccm verdünnt. Aus 80 ccm des klaren roten Filtrates (= 40 ccm Harn) wird das Ammoniak im Vakuum abdestilliert und bestimmt. (Die Ammoniakbestimmung kann auch im Harne direkt vorgenommen werden.) Der Destillationsrückstand wird in dem Kolben in einigen Kubikzentimetern etwa normaler Salzsäure gelöst, worauf unter Evakuierung kohlensäurefreie Luft hindurchgesaugt wird, um Spuren von Kohlensäure auszutreiben. Die salzsaure Lösung wird mit Hilfe von kohlensäurefreiem Wasser in einen 100 ccm fassenden Meßkolben übergeführt, hernach mit empfindlichem Lackmuspapier als Indicator genau neutralisiert (am besten durch Zutröpfeln von kohlensäurefreier, etwa normaler Natronlauge bis zu schwach roter Farbe und darauf folgender Zusatz von $^1/_5$ n-Salzsäure bis zur neutralen Reaktion auf Lackmuspapier); schließlich wird mit kohlensäurefreiem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. In einer passenden Menge, z. B. in 40 ccm der neutralen Lösung (= 16 ccm Harn) wird die Formoltitrierung, wie oben angegeben, ausgeführt.

b) Bestimmung von Hippursäure und peptidgebundenem Stickstoff.

50 ccm Harn werden mit etwa 5 ccm ungefähr 5 n-Salzsäure versetzt und darauf 6mal mit Äthylacetat geschüttelt, um die Hippursäure zu extrahieren. Der zum Ausschütteln benutzte Essigäther wird einmal mit Wasser gewaschen und darauf zur Hippursäurebestimmung verwendet, während das Waschwasser mit dem Harne gemischt zur Bestimmung des peptidgebundenen Stickstoffs dient.

Der Essigester wird abdestilliert und der Rückstand 2—3 Stunden mit 50 ccm etwa 30%iger Salzsäure in einem langhalsigen Kjeldahlkolben auf dem Drahtnetze gelinde gekocht. Hiedurch wird die gesamte Hippursäure in Benzoesäure und Glykokoll gespalten; die Stickstoffmenge der letzteren läßt sich dann nach dem Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbade und nach Neutralisation mit $^1/_5$ n-Natronlauge (Lackmuspapier als Indicator) durch die übliche Formoltitration bestimmen.

Der hippursäurefreie Harn wird mit 50 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und in dem gleichen Kolben auf dem Drahtnetze 3 Stunden lang

gelinde gekocht, darauf wird die Lösung auf dem Wasserbade eingeengt. Der Rückstand wird mit n-Natronlauge und möglichst wenig Wasser in einen 50 ccm fassenden Meßkolben übergeführt und mit 1 ccm Phenolphthaleinlösung und 2 g festem Bariumchlorid versetzt; schließlich wird mit Wasser oder mit gesättigter Barytlösung bis zur Marke nachgefüllt.

Nach dem Umschütteln und Stehenlassen etwa 15 Minuten lang wird filtriert; vom Filtrate werden 40 ccm (= 40 ccm Harn) in einen 100 ccm fassenden Meßkolben gebracht; die Lösung wird mit Salzsäure schwach angesäuert, außerdem noch mit 5 ccm n-Salzsäure versetzt und die Flüssigkeit durch Zutröpfeln von 20 ccm etwa $^1/_3$ n-Silbernitatlösung entfärbt. Nach dem Auffüllen mit kohlensäurefreiem Wasser wird filtriert und aus 80 ccm des Filtrates das Ammoniak wie angegeben ausgetrieben. Der Destillationsrückstand wird in Salzsäure gelöst, die Lösung in einen 100 ccm fassenden Meßkolben übergeführt, neutralisiert und wie unter a) bei der Aminosäurenbestimmung angegeben behandelt. Zur Formoltitration werden 50 ccm der neutralisierten Lösung (= 16 ccm Harn) verwendet. Die Differenz zwischen dem Aminosäurenstickstoff nach und vor der Salzsäurebehandlung gibt die in 16 ccm Harn vorhandene, peptidgebundene Stickstoffmenge an.

J. Yoshida[1]) empfiehlt die Anwendung der Sörensenschen Methode zur Bestimmung der Aminosäuren; das Verfahren ist genau; er kontrollierte es mit Glykokoll. Bei Anwesenheit von Ammoniumsalzen gibt die Methode, wie dies schon de Jager gefunden hatte, etwas zu niedrige Werte. Die Ammoniakbestimmung muß mit der größten Sorgfalt vorgenommen werden. Die Anwendung von Lackmus als Indicator zur Feststellung der wahren Neutralität der Anfangslösung ist ebenso geboten, wie die von Phenolphthalein nach der Formoltitrierung.

Nach dem Verfasser beträgt der Aminosäurenstickstoff etwa 1% (0,5—2,0%) des Gesamtstickstoffes; die Tagesmenge schwankt zwischen 0,05—0,18 g. Henriques fand für den Aminosäurenstickstoff bei normalen Individuen 2,2% des Gesamtstickstoffes.

H. Malfatti[2]), der, wie auch A. Ronchèse, die Formoltitration zur Bestimmung des Ammoniaks (S. 70) verwendet hat, fand auf Grund seiner Versuche die Methode von Sörensen und Henriques nicht ganz als einwandfrei. Es war ihm gelungen, in pathologischem Harne eine auf die Gegenwart von Aminosäuren zurückzuführende Differenz zwischen Formoltitration und sonstiger Ammoniakbestimmung festzustellen. Versuche mit Lösungen von Aminosäuren ergaben, daß stärkere Lösungen von Aminosäuren sich mit Formol leicht und gut titrieren lassen, ebenso verdünnte Lösungen nach Zusatz des gleichen Volumens Alkohol. Eine Verdünnung der Stammlösung mit Wasser (10 : 60) hatte bei Glykokoll keinen namhaften Einfluß auf das Endresultat, nur mußte viel Formol, bis kein weiterer Farbenumschlag eintrat, zugegeben werden. 10 mg Glykokoll = 1,7—1,8 mg N. können in 60 ccm Reaktionsflüssigkeit nicht übersehen werden. (Ein verzögertes Auftreten der Endreaktion kann geradezu als Probe auf die Gegenwart von Aminosäuren in größerer Menge in Harnen benutzt werden.) Bei Alanin wurden nur halbwegs befriedigende Resultate erhalten, bei Leucin, Tyrosin und einem Aminosäurengemisch aus Eiweiß waren die Ergebnisse nicht befriedigend. Wurden Harne nach Schlösing oder im Vakuum vom Ammoniak befreit und wurde der filtrierte Rückstand mit Formol titriert, so zeigte es sich, daß in allen normalen Harnen diese Rückstände etwas formoltitrierbare Substanz enthielten (= 2,6 mg N. für 100 g Harn), in pathologischen Harnen bedeutend mehr. Die Resultate sind jedoch ganz unsicher. Nach diesen Versuchen kommen vielleicht in den untersuchten normalen Harnen Aminosäuren, besonders Glykokoll vor, aber jedenfalls nur in recht geringer Menge.

Die Methode ist nach Malfatti nicht einwandfrei, da die Laugenmenge von der Neutralisation auf Lackmus bis zu der auf Phenolphthalein fälschlich den Ergebnissen der Formoltitration zugemessen wird. Es ist auch ein recht mißlicher Umstand, daß die Aminosäuren aus der Differenz der Formoltitration und einer Ammoniakbestimmung berechnet werden müssen. Malfatti versucht daher, die Aminosäuren im Harne direkt mit Formol zu titrieren, nachdem das Ammoniak durch Fällen mit Quecksilberchlorid entfernt wurde. In etwa 50 ccm Harn werden 2—4 g Quecksilberchlorid gelöst, dann wird in kleinen Portionen gepulvertes Natriumcarbonat bis zu eben merklicher alkalischer Reaktion auf Lackmuspapier eingetragen. Die Fällung wird abfiltriert,

[1]) Biochem. Zeitschr. 1909. **23.** 239.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **61.** 499; Zeitschr. analyt. Chem. 1908. **47.** 273.

das Filtrat rasch mit einigen Tropfen Eisessig versetzt, das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt und filtriert; die Kohlensäure und Schwefelwasserstoff werden durch Erwärmen beseitigt; in einer gemessenen Menge des Filtrates wird die Titration mit Formol vorgenommen. Die Methode liefert nach dem Verfasser, auf den Harn angewendet, nicht absolute, aber recht gute Vergleichswerte; ihre Empfindlichkeit kann auf 3—4 mg Glykokollstickstoff geschätzt werden.

Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß der Harn beim Aufbewahren eine formoltitrierbare und durch Quecksilber nicht fällbare Substanz bildet; ob dieses Glykokoll ist, muß dahingestellt bleiben.

V. Henriques und S. P. L. Sörensen[1]) führen diesen Einwänden gegenüber aus, daß beim Neutralisieren Lackmus und beim eigentlichen „Formoltitrieren" Phenolphthalein als Indicatoren zu verwenden sind; bei allen normalen Harnen leistet die Methode vorzügliche Dienste.

Eine von K. Glaessner[2]) empfohlene quantitative Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes beruht darauf, daß sich nach der Behandlung des Harnes mit Phosphorwolframsäure im Filtrate Harnstoff und die Monoaminosäuren vorfinden. Aus dem Rückstande des eingetrockneten Filtrates läßt sich nun mit einer Mischung aus gleichen Teilen wasserfreiem Äthyl- und Amylalkohol der Harnstoff vollkommen in Lösung bringen, die von Glässner geprüften Monoaminosäuren Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure bleiben ungelöst; Tyrosin löst sich in Spuren.

20 ccm Harn fällt man mit der Phosphorwolframsäuremischung (100 g Phosphorwolframsäure Merck in 100 ccm Salzsäure, D = 1,124, und 800 ccm Wasser) vollständig aus, filtriert nach 24 Stunden und dampft das Filtrat im Vakuum in einer flachen Schale ein. Nach dem vollständigen Austrocknen des Rückstandes in einem Trockenschranke bei 50° pulvert man den Rückstand, bringt ihn verlustlos in ein Kölbchen und gibt 50 ccm der Alkoholmischung hinzu. Das mit Steigrohr versehene Kölbchen erhitzt man 6 Stunden auf dem kochenden Wasserbade, filtriert dann heiß ab und wäscht das Filter mit der heißen Alkoholmischung aus. Von dem auf dem Filter befindlichen Rückstande bestimmt man den Stickstoff nach Kjeldahl (der Rückstand wird mit 10 ccm konz. Schwefelsäure, 0,5 g Kupfersulfat, 10 g Kaliumsulfat zerstört usw.).

W. Frey und A. Gigon[3]) nehmen die Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes im Harne neben Ammoniak in folgender Weise vor.

20 oder 50 ccm Harn werden in einem hohen schmalen Standgefäß mit 10—20 ccm einer gesättigten Barytlösung und mit 10—15 ccm Alkohol versetzt. Das Ammoniak wird nach K. Spiro (s. Harnstoff) durch einen Luftstrom (2 Stunden lang) abgetrieben, in $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure aufgefangen und titriert.

Der so behandelte Harn (d. h. nach der Entfernung des Ammoniaks) wird quantitativ in einen Meßkolben gebracht und mit Wasser auf 100 oder 200 ccm aufgefüllt. Nach dem Umschütteln wird filtriert. Vom klaren Filtrate werden 2 Proben von 40 oder 90 ccm entnommen; die erste Probe dient unter Verwendung von alkoholischer Rosolsäurelösung als Indicator zur Bestimmung der für die Neutralisation nötigen Menge $^1/_5$ n-Salzsäure; der zweiten Probe werden die nun bekannte Menge $^1/_5$ n-Säure und dann 10 ccm einer 40%igen mit Phenolphthalein und Natronlauge neutralisierten Formollösung hinzugefügt. Die wieder sauer gewordene Flüssigkeit titriert man mit $^1/_5$ n-Natronlauge (Phenolphthalein) bis zur rotvioletten Farbe. Aus den gebrauchten Kubikzentimetern Lauge läßt sich die Menge des Aminosäurenstickstoffes berechnen.

Die Verf. konnten die Ergebnisse von Sörensen bestätigen. Einfache Lösungen von Ammoniumsulfat, Glykokoll, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Asparaginsäure lassen sich nach der Methode genau titrieren. Tyrosin gibt einen zu hohen Wert.

H. Malfatti[4]) fand zu hohe Aminosäurenwerte, weil die gegen Phenolphthalein ausgeführte Formoltitration des Ammoniaks und der Aminosäuren von Sörensen und Henriques mit dem gegen Lackmus neutralisierten Harne ausgeführt wird, wodurch schwach saure Harnbestandteile als formoltitrierbarer Stickstoff mittitriert werden. Die Formoltitration im Harne muß von der Phenolphthaleinneutralität ausgehen und besser nur bis zum Auftreten der schwachen Phenolphthaleinfärbung fortgeführt werden. Die Differenz zwischen den von der Lackmus- und den von der Phenolphthaleinneutralität ausgehenden Titrationswerten bleibt auch nach Entfernung der Phosphate, Carbonate und des Ammoniaks bestehen, die wohl auf andere Harnbestandteile (Fettsäuren, Phenole) zurückzuführen ist.

Malfatti fand auf Glykokoll bezogen nur etwa 40 mg in 100 ccm Harn, Henriques 0,2%, andere fanden 0,08—0,12%. Nach seiner Ansicht kann die Formoltitration der Aminosäuren im Harne höchstens den Wert einer klinischen Schätzungsmethode beanspruchen; für die Entscheidung wissenschaftlicher Fragen scheint sie bisher noch zu wenig ausgebildet.

L. de Jager[5]) benutzt folgende Methode, die M. W. Scheltema[6]) empfiehlt. 20 ccm Harn werden mit 2 ccm einer 10%igen Kaliumoxalatlösung versetzt und mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge (In-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **63.** 27.
[2]) Zeitschr. exper. Patholog. 1908. **4.** 336.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1909. **22.** 309.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **66.** 152.
[5]) Ebenda. 1909. **62.** 333; 1910. **67.** 185.
[6]) Pharm. Weekbl. 1915. 1549.

dicator Phenolphthalein) bis zur Rotfärbung titriert (Ac. 1); nun wird 40 ccm neutralisiertes Formalin zugegeben und wieder titriert (Ac. 2). Ac_2—Ac_1 ergeben den Aminosäuren- und Ammoniakstickstoff. Zu weiteren 20 ccm Harn werden 2 ccm Kaliumoxalatlösung und 5 ccm einer Lösung von primärem Magnesiumphosphat, entsprechend 20 ccm $^1/_{10}$ n-Lauge hinzugesetzt; nachdem Natronlauge bis zur Rotfärbung zugegeben wurde, werden die Wände des Gefäßes mit einem Glasstabe gerieben; es wird weiter titriert und zwar wird mehr NaOH hinzugefügt, als zur Endreaktion erforderlich ist. Durch Zurücktitrieren mit $^1/_{10}$ n-Säure wird die Endreaktion (bis zur sichtbaren Rötung) erreicht; die dazu verbrauchte Menge Lauge ist Ac_3. Nach Zusatz von 4 ccm Formalin wird wieder titriert, durch abwechselnden Zusatz von NaOH und HCl, bis die Farbe die gleiche ist, wie bei der ersten Bestimmung (Ac_4). Ac_4—Ac_3 ergeben den Aminostickstoffwert; der Ammoniakgehalt muß gleich (Ac_1—Ac_2)—(Ac_4—Ac_3) sein. Eine Fehlerquelle liegt darin, daß eine Mischung von Glykokoll und Salmiak bei der Formoltitrierung eine niedrigere Aciditätszunahme zeigt, als die beiden Körper getrennt; ähnliche Verhältnisse liegen auch beim Harne vor. Die angegebene Methode ist empfehlenswert, um sich schnell ein Urteil über den Ammoniakgehalt im Harne zu bilden; der richtige Gehalt muß nach Schlösings Methode kontrolliert werden. Um bei gefärbtem Harne den Farbenumschlag in trüber Flüssigkeit deutlicher hervortreten zu lassen, gibt man zum Harne neben Phenolphthalein ein wenig einer sehr verdünnten Methylengrünlösung zu.

L. de Jager[1]) findet, daß die Sörensensche Methode zu hohe Zahlen gibt und daß man besser nach der von Malfatti angegebenen Methode arbeitet.

J. Bang[2]) hat die Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes im Harne nach der Formolmethode dadurch wesentlich erleichtert, daß er durch Schütteln des Harnes mit einer Blutkohle von Merck in Gegenwart von 20%igem Alkohol den Harn vollständig entfärbt, ohne ihm Aminosäuren zu entziehen. Die genuinen Eiweißkörper, die bei der Bestimmung stören, werden von der Kohle bei Gegenwart von Alkohol quantitativ absorbiert. Das Verhalten der Albumosen bliebe noch abzuwarten.

Die Ausführung gestaltet sich folgendermaßen:

50 ccm Harn werden in einem 100 ccm-Meßzylinder mit einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung und etwa 2 g festem Bariumchlorid versetzt. Nach erzielter Lösung bringt man von einer gesättigten Barytlösung soviel hinzu, daß die Flüssigkeit stark rotgefärbt ist. Nun gibt man 20 ccm 95%igen Alkohol in den Meßzylinder und füllt mit destilliertem Wasser bis zur Marke auf; dann setzt man einen großen Teelöffel voll Blutkohle hinzu und schüttelt tüchtig um. Nach 5 Minuten langem Stehen filtriert man durch ein trockenes Filter in ein trockenes Becherglas; 40 ccm vom Filtrate werden mit 0,5 ccm Phenolphthaleinlösung versetzt (das früher zugesetzte ist von der Kohle adsorbiert), mit $^n/_5$ Salzsäure neutralisiert, bis die rote Farbe verschwindet und dann weiter, bis ein Tropfen der Flüssigkeit auf Lackmuspapier neutrale Reaktion zeigt. Darauf setzt man etwa das gleiche Volumen neutralisierte Formollösung — Formol des Handels reagiert wegen der Anwesenheit von Ameisensäure immer sauer, man neutralisiert sie mit $^n/_5$ Lauge, Phenolphthalein als Indikator — hinzu und titriert mit $^n/_5$ Baryt- oder Natronlauge bis zu dem dritten Stadium.

1 ccm $^n/_5$ Lauge = 2,8 mg Aminosäurenstickstoff.

Gleichzeitig mit dem Aminosäurenstickstoff wird auch der Ammoniakstickstoff bestimmt; nach der Neutralisation, unter Verwendung von Lackmus, ist alles Ammoniak in Form von Salmiak vorhanden; durch den Formolzusatz wird das Ammoniak in Hexamethylentetramin verwandelt, wobei Salzsäure frei wird; es ist deshalb immer auch eine Ammoniakbestimmung auszuführen, wozu das Filtrat von der Phosphatfällung verwendet werden kann; 40 ccm davon genügen; die Bestimmung nimmt man nach Krüger-Reich oder Folin-Schaffer vor. Durch die Formoltitration wird auch der mit Formol titrierbare Eiweißstickstoff mitbestimmt. Dies spielt jedoch keine Rolle, da der normale Harn nur Spuren von Eiweiß enthält; dagegen muß klinisch nachweisbares Eiweiß aus dem Harne zuerst entfernt werden, ehe die Formoltitration angestellt wird.

A. *Glykokoll.* α-Aminoessigsäure,

Glycin $C_2H_5NO_2$ oder $\begin{matrix} CH_2NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$.

Das Glykokoll wurde im Harne von Gichtkranken vorgefunden (Ignatowski); wie im Eingange erwähnt, soll es auch im normalen Harne vorkommen; die gefundenen Mengen schwanken sehr, so daß es nicht ganz sicher ist, ob es sich wirklich nur um präformiertes Glykokoll handelt. Es bildet

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **67.** 185.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1915. **72.** 101.

sich bei der Zersetzung von Harnsäure, Xanthin, Guanin und Adenin, auch Hippursäure kann durch manche Bakterien in Glykokoll und Benzoesäure gespalten werden. A. v. Reuss[1]) konnte im Harne von Säuglingen aus den ersten Lebenstagen Glykokoll nachweisen.

Darstellung und Nachweis.

Hierüber wurde im vorhergehenden bei der allgemeinen Besprechung der Aminosäuren eingehender berichtet. Auf weitere Isolierungsverfahren[2]) (G. Embden und H. Reese, Embden und Marx) kann hier nur hingewiesen werden. Außer der dort erwähnten Methode zum Nachweise des Glykokolls sind noch zu nennen:

1. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge geht das Glykokoll in Hippursäure über; nach dem Ansäuern kann diese durch Essigäther in Lösung gebracht werden; den Rückstand der Lösung in Essigäther nimmt man mit Chloroform auf, das 5% Benzol enthält; Hippursäure fällt aus, die mit der Lactimidprobe (s. b. Hippursäure) nachgewiesen werden kann.
2. Wird Glykokoll mit Benzolsulfochlorid und Natronlauge geschüttelt, so entsteht nach dem Ansäuern Benzolsulfoglykokoll, das federähnliche, dünne Kristalle bildet; in Wasser schwer löslich.
3. Bei der Einwirkung von Salzsäuregas auf Glykokoll in absolutem Alkohol entsteht der in Wasser und Alkohol sehr leicht lösliche, schön krystallisierende salzsaure Glykokolläthylester, der bei 144° schmilzt und beim Kochen mit Alkali im Überschuß in Glykokoll und Alkohol gespalten wird. (Curtius.)
4. Kupferverbindung, Phenylisocyanatverbindung, s. Eigenschaften.

Eine genaue quantitative Bestimmung gibt es nicht.

Eigenschaften.

Das Glykokoll bildet farblose, harte, rhombische Krystalle oder vierseitige Prismen, besitzt süßen Geschmack und schmilzt bei 232—236° unter Zersetzung; schnell auf 240° erhitzt bildet sich eine purpurrote Flüssigkeit. In kaltem Wasser ist das Glykokoll löslich, schwer in heißem Alkohol, unlöslich ist es in kaltem Alkohol und in Äther. Die wässerige Lösung zeigt saure Reaktion. Mit Metalloxyden und Säuren verbindet sich das Glykokoll; Kupferoxydhydrat (Cuprihydroxyd) wird von siedendem Glykokoll gelöst; nach dem Erkalten und Konzentrieren scheiden sich dunkelblaue Nadeln von Glykokollkupfer aus.

Beim Erhitzen mit Ätzbaryt zerfällt das Glykokoll in Methylamin und in Kohlensäure; durch salpetrige Säure wird es in Glykolsäure, Stickstoff und Wasser zerlegt.

---

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1909. **22.** 158; Zeitschr. f. Kinderheilk. 1911. **3.** 286.
[2]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1906. **7.** 411; 1908. **11.** 308.

Durch Bleiessig und Ammoniak wird es gefällt, von Phosphorwolframsäure nur in ganz konz. Lösung.

Von Bedeutung sind der schön krystallisierende salzsaure Glykokollester (s. oben), das β-Naphthalinsulfoglykokoll oder -glycin mit dem Schmelzpunkte 156° (korrig. 159°) und die Phenylisocyanatverbindung, Schmelzpunkt 195°.

B. *Alanin.* $C_3H_7NO_2$ oder $\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH.NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$.

Alanin, Aminopropionsäure, wurde nur einmal neben Tyrosin, Leucin, Glykokoll, Phenylanalin und Arginin im Harne nach stattgefundener Phosphorvergiftung von J. Wohlgemuth[1]) vorgefunden, der auch eine Methode zur Isolierung und Darstellung angegeben hat.

Eigenschaften.

Das Alanin krystallisiert in Nadeln, auch großen rhombischen Krystallen (diese beim langsamen Verdunsten), löst sich leicht in Wasser, schmeckt süß; die wässerige Lösung dreht rechts; $\alpha_{[D]}^{20} = + 2{,}70$.

C. *Cystin.* $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ oder $\begin{matrix} CH_2—S—S—CH_2 \\ | \qquad\qquad | \\ CH.(NH_2) \qquad CH(NH_2). \\ | \qquad\qquad | \\ COOH \qquad\quad COOH \end{matrix}$

Cystin, α-Diamino-β-dithiodilactylsäure, wird in seltenen Fällen als einziger oder hauptsächlicher Bestandteil von Blasen- und Nierensteinen bei Menschen und Hunden gefunden; seine Hauptbedeutung liegt 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 als schwer löslich beim Stehen des Harnes, der zwar in Beziehung auf Farbe, Reaktion und Geruch normale Beschaffenheit zeigen, nicht selten aber einen eigentümlichen Geruch und grüngelbe Farbe aufweisen kann, als krystallinischer Niederschlag von grauweißer Farbe aus.

Im normalen Harne sollen Spuren von Cystin vorkommen.

Mitunter ist der Harn mit Blut vermengt (durch schleimhautreizende Blasensteine bedingt); mit Albuminurie verbindet sich die Cystinausscheidung äußerst selten; bei Cystinurie scheiden sich im Harne in manchen Fällen bestimmte Diamine, die im kranken Organismus entstanden sind, aus; dieselbe Ursache, die die Cystinurie verursacht, ist vielleicht auch die der Ausscheidung von Diaminen, die Diaminurie (s. diese).

Als Begleiter des Cystins können Cadaverin und Putrescin vorkommen, auch Tyrosin und Leucin wurden schon beobachtet, doch sind die genannten

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 44. 74

Diamine für Cystinurie nicht typisch. Es ist eben die Verbrennung der Diaminosäuren Lysin und Arginin eine unvollständige, wodurch die beiden erstgenannten Spaltungsprodukte entstehen können. Am wahrscheinlichsten erscheint es nach Abderhalden, daß die Ausscheidung von Cystin durch eine Störung im Abbau der Proteine im Zellstoffwechsel veranlaßt wird und daß das Auftreten von Cystin hiebei als ein Beweis für die Annahme, daß im intermediären Stoffwechsel Aminosäuren aus Eiweiß gebildet werden, aufgefaßt werden kann. Nach A. Loewy und C. Neuberg[1]) handelt es sich um eine Störung des Aminosäurenstoffwechsels im großen Stile. Das Cystin, durch die Hydrolyse des Eiweißes im Darme freigemacht, wird zwar resorbiert, aber nicht wie gewöhnlich in Wasser, Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelsäure zersetzt.

Die Ausscheidung des Cystins ist in Beziehung auf die 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, manchmal bei mehreren Mitgliedern der gleichen Familie. Die Cystinurie kann als eine Familienkrankheit betrachtet werden, sie ist immer chronisch. Sicher ist nach Th. Brugsch die Vererbung bei der durch Cystinurie veranlaßten Stoffwechselstörung. Reichliche Cystinausscheidung hat man nach Phosphorvergiftungen beobachtet. Bei der Fäulnis der Cystin enthaltenden Harne bildet sich als Zersetzungsprodukt des schwefelhaltigen Körpers, der jedenfalls aus dem Eiweißschwefel entsteht, Schwefelwasserstoff.

Das Wesen der Cystinurie in geschichtlicher, chemischer, physiologischer und klinischer Hinsicht hat G. Rosenfeld[2]) ausführlich besprochen

Über Cystinsteine und Cystinsedimente s. unter diesen Namen.

Darstellung, Nachweis und Bestimmung.

1. Hiezu bedient man sich der Methode von E. Baumann und Goldmann.[3])

Prinzip.

Schüttelt man eine Cystinlösung in Natronlauge mit Benzoylchlorid, so entsteht Benzoylcystin (oder das Natriumsalz des Dibenzoylcystins)

$$C_6H_8N_2S_2O_4Na_2.2\,C_6H_5.CO\,,$$

das sich in Äther löst.

Man schüttelt zum Nachweise 1000 ccm Harn mit 10 ccm Benzoylchlorid und 120 ccm 10%iger Natronlauge, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist, filtriert vom Niederschlage (aus Phosphaten und Verbindungen der Kohlenhydrate bestehend) ab, säuert das Filtrat mit 25%iger Schwefelsäure stark an und schüttelt dreimal mit Äther aus. Den beim Verdunsten des Äthers hinterbleibenden Rückstand, der das Benzoylcystin enthält — dieses krystallisiert

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904/05. **43.** 338.
[2]) Ergebn. d. Physiolog. 1920. **18.** 118. Ber. ges. Physiolog. **6.** 228.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 254.

aus Alkohol in feinen, drusenförmigen Nadeln (blumenkohlartig aussehende Massen), die in reinem Zustande bei 180—181° schmelzen —, 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).

2. Auf die Gegenwart von Cystin wird man aufmerksam gemacht, wenn sich im Harnsedimente farblose, sechsseitige Tafeln (s. Abb. Sedimente) vorfinden.

Zur Unterscheidung des Cystins 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 verändert; 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 gibt die Murexidprobe nicht. Aus Ammoniak krystallisiert das Cystin meist in Tafeln aus (auch ähnlich dem salpetersauren Harnstoff).

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).

Aus dem konz. Harne (am besten war dieser mit Bleiessig behandelt, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit) kann man nach Zusatz von Eisessig im Überschuß und nach 24—48stündigem Stehenlassen Cystin zur Abscheidung bringen. Dies gelingt aber nicht immer.

3. Cystin unter schwachem Erwärmen in Kalilauge gelöst, gibt nach dem Erkalten und Verdünnen mit Wasser auf Zusatz von Nitroprussidnatrium eine violette Färbung (Müller).

4. Cystin verbrennt auf dem Platinbleche mit blaugrüner Farbe und mit Geruch nach Blausäure.

Quantitative Bestimmungen des Cystins.

Ganz genaue Ergebnisse werden mit den empfohlenen Methoden nicht gewonnen.

1. Indirekte Methode.

Man bestimmt nach S. 89 den Gesamtschwefel und die Gesamtschwefelsäure in der Harnprobe. Die Menge des nicht in Form schwefelsaurer und ätherschwefelsaurer Salze vorhandenen Schwefels beträgt sonst ungefähr 17,2%; diese Menge zieht man von dem gefundenen Schwefel ab; der Rest entspricht dem im Cystin vorhandenen Schwefel. Dies Verfahren ist sehr ungenau.

2. Nach v. Udránszky und Baumann[1]) neutralisiert man den Ätherrückstand des nach S. 155 gewonnenen Benzoylcystins mit 12%iger Natronlauge, gibt zu dieser Lösung das doppelte Volumen der gleichen Natronlauge und kühlt auf 0° ab. Nach etwa 12—14stündigem Stehen filtriert man das abgeschiedene, in Natronlauge unlösliche Natronsalz des Benzoylcystins — glänzende Blättchen — ab, wäscht dieses mit wenig kalter Natronlauge,

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. **15.** 88.

löst dann in Wasser (600 ccm) und fällt aus dieser Lösung mit Salzsäure das Cystin, das sich in Form einer Gallerte ausscheidet. Das abgeschiedene Benzoylcystin wird abgesaugt, gewaschen, getrocknet und gewogen.

1 g Cystin = 1,87 Benzoylcystin.

3. Erwärmt man das Benzoylcystin mit Natronlauge und gibt Bleiacetatlösung zu, so scheidet sich Schwefelblei ab (Liebigs Reaktion auf Cystin). Wie Baumann, Suter[1]) nachgewiesen haben, geht die Abspaltung des Schwefels und somit die Bildung des Bleisulfides sehr langsam und unvollkommen vor sich und müßte zur vollständigen Abscheidung des Schwefels lange erhitzt werden. Man könnte zweckmäßiger das Benzoylcystin mit Soda und Salpeter verbrennen und durch eine Schwefelsäurebestimmung die vorhandene Menge Schwefel und daraus das Cystin berechnen.

Gef. $BaSO_4$. 0,5146 = Cystin.

P. Borrissow[2]) hat aus dem Cystin durch Reduktion (Zink und Salzsäure) Cystein hergestellt und dessen Eigenschaft, mit Quecksilberchlorid eine fast unlösliche Verbindung zu geben, für eine quantitative Bestimmungsmethode des Cystins verwenden wollen. Aber auch diese Methode liefert, wie die anderen, ungenaue Zahlen.

4. Methode nach J. F. Gaskell.[3])

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Schwerlöslichkeit des Cystins in Aceton.

Der filtrierte Harn (ein etwa vorhandenes, Cystin enthaltendes Sediment wird zu dem aus dem Harne abgeschiedenen Niederschlage gegeben) — 200 ccm — wird stark ammoniakalisch gemacht und zur Entfernung der Hauptmenge der Oxalate und Phosphate mit Chlorcalcium gefällt. Zum Filtrate bringt man das gleiche Volumen Aceton und säuert mit Essigsäure schwach an. Man läßt dann 3—4 Tage stehen, filtriert einen entstandenen Niederschlag ab, gibt hiezu das Sediment, wäscht mit Wasser aus und löst den Filterrückstand in $2^1/_2$%igem Ammoniak. Die Lösung wird wieder mit dem gleichen Volumen Aceton versetzt und mit Essigsäure angesäuert. Nach 12—24stündigem Stehen sammelt man den Niederschlag auf gewogenem Filter, trocknet bei 80° und wägt im Trockengläschen.

Der erhaltene hygroskopische Niederschlag kann beim Umkrystallisieren neben den üblichen hexagonalen Platten in zwei verschiedenen Krystallformen erhalten werden, die in salzsaurer Lösung gleichdrehend sind ($[\alpha]_D$ = − 222°). In ammoniakalischer Lösung beträgt die spez. Drehung im Mittel $[\alpha]_D = -97{,}5°$.

Beurteilung.

Der Verf. hat nach dem Ergebnis seiner Versuche 93—96% des dem Harne zugesetzten Cystins wieder gefunden.

Eine colorimetrische Bestimmung des Cystins beschreibt J. M. Looney.[4])

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895. **20.** 504.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **19.** 511.
[3]) Journ. of Physiolog. 1907. **36.** 142; Chem. Centralbl. 1908. **79.** I. 681.
[4]) Journ. Biol. Chem. 1922. **54.** 171.

Eigenschaften.

Das im Harne vorhandene l-Cystin — der saure Harn löst 0,05% — krystallisiert in schönen, farblosen, sechsseitigen Täfelchen (s. Sedimente) oder auch in Prismen, ist in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, in Ammoniak und den einfach- und doppeltkohlensauren Alkalien und Alkalihydroxyden löslich; Lösungen des Cystins drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links — in schwach salzsaurer Lösung $[\alpha]_D = -214^0$ (Baumann) — 224,3° (Moerner) —, doch ist cystinhaltiger Harn nur schwach linksdrehend (einige Minuten), wie der normale Harn. Die ammoniakalische Lösung dreht viel schwächer links. Erhitzt, zersetzt sich das Cystin. Eine salzsaure Lösung des Cystins scheidet, mit einer Auflösung von Kupferacetat im Überschusse versetzt, Cystinkupfer in Form kleiner blauer Kügelchen und himmelblau seidenglänzender Nadeln ab, umgeben von einem bläulich verlaufenden Saume, besonders bei gekreuztem Nicol schön sichtbar; später sind größere Büschel blauer Krystallnadeln zu erkennen. (J. Mauthner.) Beim Behandeln des Cystins mit Zinn und Salzsäure wird es in Cystein übergeführt, das durch die schwächsten Oxydationsmittel wieder in Cystin zurückverwandelt wird.

Cystein gibt in schwach salzsaurer Lösung mit etwas verdünnter Eisenchloridlösung und Ammoniak eine rotviolette Färbung, mit Kupfersulfatlösung eine vorübergehende Violettfärbung und dann einen grauen Niederschlag. (Suter.) Das salzsaure Cystein dreht viel schwächer links, wie das Cystin.

D. *Leucin*. α-Aminocapronsäure. α-Aminoisobutylessigsäure. $C_6H_{13}NO_2$ oder

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>\!CH—CH_2—CH(NH_2)—COOH.$$

E. *Tyrosin*, Para-Oxyphenyl-α-Aminopropionsäure. Oxyphenylalanin.

$$C_9H_{11}NO_3 \text{ oder } C_6H_4\!\!<\!\!\begin{matrix} OH \\ CH_2—CH(NH_2)—COOH. \end{matrix}$$

Außer Cystin treten als weitere Aminosäuren im Harne zwei unmittelbare Spaltungsprodukte der Eiweißkörper auf, das Leucin und das Tyrosin.

Beide Stoffe pflegen gewöhnlich gemeinsam im pathologischen Harne vorzukommen und sollen deswegen auch zusammen besprochen werden; eigentlich wäre das Tyrosin erst später bei den Stoffen, die der aromatischen Reihe angehören, zu erwähnen. Im normalen Harne fehlen Leucin und Tyrosin.

G. Pouchet will sie im normalen Harne angetroffen haben, ein einwandfreier Nachweis ist wohl noch nicht erbracht worden oder gelungen.

Sie kommen vor bei starkem rapidem Zerfalle des Lebergewebes, so bei akuter gelber Leberatrophie einhergehend mit einem raschen Eiweißzerfalle und auch bei anderen Leberkrankheiten, bei akuter Phosphorvergiftung (v. Jaksch fand sie hier jedoch selten) bei schwerem Typhus, bei perniciöser

Anämie, Leukämie und anderen Blutkrankheiten; bei Pocken sollen sie ebenfalls im Harne auftreten.

E. Abderhalden fand Tyrosin in einem schweren Falle von Ikterus durch Verschluß des Gallengangs, nach langer Chloroformnarkose, Abderhalden und Schittenhelm konnten die beiden Stoffe in einem Falle bei Cystinurie nachweisen.

Die beiden Stoffe bilden sich also bei raschem Eiweißzerfalle und deuten auf recht erhebliche Störungen des Stoffwechsels hin; sie finden sich im Harne stets in Lösung, doch können sie sich, wohl aber sehr selten, auch im Sedimente abscheiden; Leucin findet sich dann im Sedimente in Form von Kugeln, Tyrosin in Form feinster Nadelbüschel (s. Sedimente); letzteres pflegt in reichlicherer Menge wie Leucin vorhanden zu sein, es fällt auch als schwerer lösliche Substanz leichter im Sedimente aus. Öfters genügt zur Abscheidung und Kenntlichmachung unterm Mikroskope das langsame Verdunsten eines Tropfens Harn auf dem Objektträger mit etwas Essigsäure.

Darstellung, Bestimmung und Nachweis.

Zum sicheren Nachweise der Stoffe im Harne ist es nötig, sie wenigstens einigermaßen von anderen zu isolieren, da z. B. im Harne vorhandene andere Bestandteile (Oxysäuren) die Hoffmannsche Probe, wie die Chinonprobe ebenso geben, wie im Harne gelöstes Tyrosin.

Wenn zersetzter oder ammoniakhaltiger Harn vorliegt, gelingt die Isolierung manchmal nicht (s. später).

Nach Frerichs, Staedeler, Schotten.[1])

Der von Eiweiß befreite Harn (250—500 ccm, oder größere Mengen) wird mit Bleiessig ausgefällt, hierauf wird filtriert, das Filtrat vom Blei durch Schwefelwasserstoff befreit und der Schwefelwasserstoff durch Durchleiten von Luft entfernt. Man konzentriert das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlage möglichst stark und zieht den Rückstand zur Entfernung des Harnstoffs mit kleinen Mengen absoluten Alkohols aus; der ungelöst gebliebene Rückstand wird mit schwächerem ammoniakalischem Alkohol ausgezogen, die Flüssigkeit wird eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Entfernung des größten Teiles des Harnstoffes und die der Oxysäuren und Phenole wird auch dadurch erreicht, daß man das auf etwa 50 ccm konzentrierte Filtrat vom Schwefelbleiniederschlage mit etwas Salzsäure aufkocht, erkalten läßt und 1—2mal mit alkoholhaltigem Äther ausschüttelt. Die wässerige Lösung wird auf dem Wasserbade eingedampft, der sirupartige Rückstand mit 10—20 ccm Wasser aufgenommen und dann der Krystallisation überlassen. Etwa ausgeschiedene Krystalle untersucht man chemisch wie mikroskopisch auf Tyrosin und Leucin.

Bemerkt sei noch, daß man die beiden Körper zweckmäßig durch wenig Alkohol, noch besser (s. unten) durch heißen Eisessig trennen kann, worin sich das Leucin leichter löst, als das Tyrosin. Sollte das Tyrosin stark gefärbt

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

sein, so löst man es in heißem, mit viel Ammoniak versetztem Alkohol, der die färbenden Substanzen löst; beim Konzentrieren der Lösung im Wasserbade scheidet sich das Tyrosin in fast reinen Krystallen aus.

Wären die Krystallisationen oder die Lösungen immer noch unrein, dann hilft man sich in der Weise, daß man die beiden Stoffe in kochendem Wasser nach Zusatz von etwas Ammoniak löst und nun die heiße Lösung nochmals mit Bleiessig fällt, bis keine braune Bleifällung mehr entsteht. Man filtriert, erhitzt das Filtrat und fällt mit Schwefelsäure das Blei aus; es wird sofort heiß filtriert; beim Erkalten scheidet sich dann Tyrosin aus; das Filtrat behandelt man mit Schwefelwasserstoff, konzentriert dieses und kocht es nach Zusatz von frisch gefälltem Kupferoxydhydrat auf. Es kann nun ein Teil des Leucins im Kupferniederschlage, ein anderer im Filtrate sein; den Niederschlag verteilt man in Wasser, zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff und filtriert nach Zusatz von wenig Essigsäure. Das Filtrat, das man noch mit Tierkohle reinigen kann, scheidet nach dem Konzentrieren das Leucin ab; aus der Lösung (dem Filtrate vom Kupferniederschlage) gewinnt man das Leucin, wie eben bei der Behandlung des Niederschlages angegeben.

Durch Umkrystallisieren mit ammoniakhaltigem Alkohol gelingt noch weitere Reinigung.

Vollkommen rein kann man das Leucin bekommen durch Herstellung des Leucinäthylesters nach E. Fischer[1]); mit den im Harne vorhandenen Mengen dürfte aber dieser Ester wohl kaum zu erhalten sein.

Wenn die Isolierung nicht gelingt, wenn älterer oder ammoniakhaltiger Urin vorliegt, dann verfährt man in der Weise, daß man nach E. Abderhalden[2]) den Urin am besten unter vermindertem Drucke bis zur Trockne verdampft und den Rückstand in Wasser löst. Man erhält dann oft sogar aus verdünnten Lösungen leicht die Ausscheidung von Tyrosin und Leucin. Über die Isolierung der Aminosäuren mit Hilfe des Naphthalinsulfochlorids siehe S. 143.

J. Habermann und R. Ehrenfeld[3]) empfehlen zur quantitativen Bestimmung der beiden Aminosäuren das Erhitzen des Gemisches der beiden isolierten Körper am Rückflußkühler mit einer Mischung von Alkchol und Eisessig. Hiebei geht das Leucin sehr leicht in Lösung, während sich das Tyrosin am Boden des Gefäßes als pulverige Masse ausscheidet, die mit der Saugpumpe abfiltriert werden kann.

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 mit etwas Natronlauge löst sich dieser je nach dem Grade seiner Reinheit zu einer gar nicht oder mehr oder weniger gefärbten Flüssigkeit, die sich beim vorsichtigen Erwärmen auf dem Platinbleche über der Flamme zu einem ölartigen, dem Platinbleche nicht adhärierenden herumrollenden Tropfen zusammenzieht [Scherer[4])].
2. Im Reagenzglase über der Flamme erhitzt, sublimiert das Leucin zum Teil in weißen, wolligen Flocken, die sich an der Glaswandung niederschlagen, und unter Entwicklung eines Geruches nach Amylamin.
3. Die Leucinkrystalle lösen sich in Ätzkali, nicht in Äther (Unterschied von Fett, womit sie verwechselt werden könnten).
4. Reaktionen nach Salkowski.
   a) Eine nicht zu kleine Probe löst man in Wasser, entfärbt, wenn nötig, die Lösung durch etwas reine gutwirkende Tierkohle, filtriert

---

[1]) Berl. Bericht. 1901. **34.** 433

[2]) Brugsch-Schittenhelm, Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. Berlin-Wien 1908. 566.

[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **37.** 24.

[4]) Journ. prakt. Chem. 1857. **79.** 410.

und versetzt das Filtrat mit Natronlauge; zur Lösung gibt man 1—2 Tropfen Kupfersulfatlösung hinzu; das zuerst ausfallende Kupferhydroxyd löst sich unter Bildung von Leucinkupfer zu einer blauen Lösung, die beim Erhitzen nicht reduziert wird.

b) In ein Reagenzglas bringt man ein etwa 1 cm langes Stückchen Ätzkali (in Stangenform), etwas Leucin und 1—2 Tropfen Wasser. Man erhitzt bis zum Schmelzen des Kalis (Ammoniakentwicklung), löst die erkaltete Schmelze in Wasser und säuert mit verdünnter Schwefelsäure an. Geruch nach Baldriansäure. Leucin spaltet sich unter Sauerstoffaufnahme in Baldriansäure, Ammoniak und Kohlensäure.

Eigenschaften des Leucins.

Das Leucin krystallisiert in farblosen, zarten, perlmutterartig 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, an denen sich keine krystallinische Kontur wahrnehmen läßt (s. Sedimente).

Leucin löst sich schwer in kaltem Wasser, noch schwerer aber in Alkohol, dagegen leicht in Säuren und Laugen. Unreines Leucin ist leichter löslich. Bei schwachem Erhitzen (170°) sublimiert das Leucin zu wolligen, flockigen Massen unter Verbreitung eines eigentümlichen Geruches (Amylamin). Das natürlich vorkommende Leucin (das l-Leucin) dreht in wässeriger Lösung links (2—3%ige Lösung $[\alpha]_D^{20} = -10{,}35°$), in saurer und alkalischer Lösung rechts (3—5%ige Lösung $[\alpha]_D^{20} = +15{,}6°$ Fischer und Warburg). Durch salpetrige Säure wird der gesamte Stickstoff frei gemacht. Kennzeichnend sind der Äthylester und das in Wasser sehr schwer lösliche, in blaßblauen Schüppchen krystallisierende Leucinkupfer, beim Kochen von Leucin mit Kupferacetat entstehend; beim Erwärmen von Leucin mit Mercuronitrat wird letzteres in metallisches Quecksilber übergeführt [Hofmeister[1])].

Nachweis des Tyrosins.

1. Eine heiß bereitete Tyrosinlösung gibt mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kalium einen roten Niederschlag, die überstehende Flüssigkeit ist rosen- bis purpurrot (R. Hoffmanns[2]) Probe).

Man kann die Reaktion auch mit Hilfe von Millons Reagens vornehmen; es entsteht ebenfalls die rote Färbung, wenn man eine kleine Menge Tyrosin im Reagenzglase mit etwas Wasser und einigen Tropfen der Millonschen Lösung kocht (Millons Reagens s. beim Eiweißnachweis). Bei Anwesenheit reichlicher Tyrosinmengen scheiden sich aus der purpurroten Flüssigkeit zahlreiche rote Flocken aus.

2. Eine siedende wässerige Tyrosinlösung färbt sich mit 1%iger Essigsäure, dann tropfenweise mit 1%iger Natriumnitritlösung

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1877. **139.** 6.
[2]) Ann. Chem. Pharm. 1857. **87.** 124.

versetzt, schön rot; mit etwas trockenem Chinon wird die heiße wässerige Tyrosinlösung rubinrot [C. Wurster[1])].

3. Man läßt zu 2 ccm reiner Schwefelsäure 3—5 Tropfen reiner Aldehydlösung (5 ccm Acetaldehyd: 10 ccm Weingeist) in einem Reagenzglase tropfenweise und unter beständigem Umschütteln zufließen und fügt von der Tyrosinlösung (in etwas alkalischem Wasser gelöst) hinzu; die Mischung nimmt sogleich eine mehr oder weniger intensive johannisbeerrote Farbe an und zeigt ein breites Absorptionsband in Grün-Gelb [Denigès[2])].
4. Erhitzt man nach G. Denigès[3]) 0,02—0,03 Tyrosin mit 4 ccm Eisessig und 4 Tropfen Formol zum Sieden, läßt dann 3 ccm Schwefelsäure zufließen und schüttelt um, so entsteht eine rote Färbung.
5. Erwärmt man trockenes Tyrosin in einem trockenen Reagenzglase mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure etwa $^1/_2$ Stunde im kochenden Wasserbade, setzt dann Wasser zu und neutralisiert mit Barium- oder Calciumcarbonat, so erhält man ein farbloses Filtrat, das nach dem Konzentrieren in der Kälte auf Zusatz von stark verdünnter säurefreier Eisenchloridlösung schön violett wird [R. Piria[4])].
6. Beim Erhitzen von Tyrosin mit einer Mischung aus 1 Vol. 40%igem Formaldehyd, 45 Vol. Wasser und 55 Vol. konz. Schwefelsäure entsteht sofort oder nach kurzer Zeit eine schöne, lang andauernde Grünfärbung [C. Th. v. Mörners[5]) Probe].
7. Man bringt nach Aloy und Rabaut[6]) zu einer Lösung von Tyrosin in Salzsäure Chlorwasser im Überschuß und dazu Ammoniak; es entsteht eine schön rote Färbung. Bei sehr großer Verdünnung schüttelt man nach dem Zusatze von Chlorwasser mit Äther; bringt man dazu einige Tropfen Ammoniak, so tritt an der Grenzschicht die rote Färbung auf. Empfindliche Probe.
8. Sedimente, Tyrosin krystallisiert enthaltend, werden mit Wasser gewaschen und in Ammoniak unter Zusatz von kohlensaurem Ammonium gelöst; das Filtrat läßt man verdunsten; aus ammoniakalischer Lösung krystallisiert das Tyrosin in Büscheln deutlicher Prismen als Ammoniumverbindung.

Eigenschaften.

Das Tyrosin krystallisiert aus wässeriger Lösung in farblosen, seidenglänzenden, feinen mikroskopischen Krystallnädelchen, die zum Teil garben- oder besenartige Gebilde, Büschel, vorstellen, von denen je zwei Garben in

---

[1]) Zentralbl. Physiol. 1887. **1.** 193; 1888. **2.** 590.
[2]) Bull. de la Soc. pharm. de Bordeaux 1901.
[3]) Bull. Soc. Chim. 1908. [4] **3.** 786; Chem. Centralbl. 1908. **79.** II. 832.
[4]) Ann. Chem. Pharm. 1852. **82.** 251.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902/03. **37.** 86.
[6]) Bull. Soc. Chim. 1908 [4] **3.** 391; Chem. Centralbl. 1908. **79.** I. 1691.

Kreuzform übereinander liegen können (s. Sedimente); sie fließen nie zu Kugeln zusammen (Unterschied von Leucin). Aus ammoniakalischem Alkohol scheidet sich das Tyrosin als Ammoniumsalz in deutlichen büschelförmigen Prismen aus.

In kaltem Wasser und in Alkohol ist das Tyrosin schwer, in Äther ist es unlöslich; leicht löslich ist es in verdünnten Mineralsäuren und kohlensauren Alkalien, auch in ammoniak- oder salzsäurehaltigem Alkohol. Unlöslich ist es in Essigsäure. Auch das Tyrosin gibt wie die meisten Aminosäuren beim Kochen der wässerigen Lösung mit Kupferoxydhydrat ein in blauen Prismen krystallisierendes Kupfersalz (Tyrosinkupfer). Beim Eindampfen mit Salpetersäure entsteht neben Oxalsäure gelbes salpetersaures Nitrotyrosin, das sich mit Kalilauge oder Ammoniak rotbraun bis schwarzbraun färbt (Scherer). Das natürlich vorkommende Tyrosin dreht die Polarisationsebene nach links; die Drehung ist abhängig von der Konzentration der verwendeten Salzsäure, in der das Tyrosin gelöst wird.

Durch Fäulnisbakterien, Fäulnisprozesse im Darm, wird das Tyrosin über die Hydroparakumarsäure, p-Oxyphenylessigsäure in p-Kresol und schließlich bei Sauerstoffzutritt in Phenol übergeführt.

Als weitere Aminosäuren wurden noch

F. Histidin $C_6H_9N_3O_2$, β-Imidazolyl-α-aminopropionsäure und
G. Arginin $C_6H_{14}N_4O_2$, δ-Guanido-α-aminovaleriansäure

im Harne vorgefunden; ersteres einmal im normalen Harne von R. Engeland[1]), letzteres im Harne eines mit Phosphor Vergifteten von J. Wohlgemuth.[2]) Sie sind für uns ohne besonderes Interesse.

Lysin wurde von D. Ackermann und F. Kutscher[3]) im Harne eines Cystinurikers nachgewiesen. Sie geben das Verfahren zum Nachweis an.

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

Die Säure wurde gleichzeitig von E. Külz[4]) und O. Minkowski[5]) im diabetischen Harne aufgefunden, nachdem vorher Stadelmann[6]) ein Zersetzungsprodukt derselben, die α-Krotonsäure aus solchem Harne erhalten hatte. Sie findet sich im Harne besonders bei schweren Fällen von Diabetes und hier in manchmal großer Menge. Siehe auch Aceton. Dieses reichliche Vorhandensein bei Diabetes mellitus neben Zucker, etwas Eiweiß, Zylindern, neben meist in reichlicher Menge vorhandenen kleinen granulierten Zylindern (Külzsche Zylinder s. d.) gilt dann als Symptom drohender Säureintoxikation oder Acidose (Coma diabeticum). Die Oxydationskraft im Organismus ist herabgesetzt, die β-Oxybuttersäure wird nicht mehr oder nur zum Teil zu Acetessigsäure oxydiert, die Alkalien des Blutes werden gebunden und der

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **57.** 49.
[2]) Ebenda. 1905. **44.** 74.
[3]) Zeitschr. Biolog. 1911. **57.** 355.
[4]) Zeitschr. Biolog. 1884. **20.** 165.
[5]) Zentralbl. med. Wissensch. 1884. 242; Archiv exp. Pathol. u. Pharmakol. 1884. **18.** 35. 147.
[6]) Archiv exp. Pathol. u. Pharmakol. 1883. **17.** 419; Archiv klin. Mediz. 1885. **37.** 580.

Organismus kann der Säurevergiftung durch vermehrte Ammoniakbildung nicht mehr entgegentreten; es tritt der Tod ein. Auch bei anderen Krankheiten, Scharlach, Masern, Diphtherie, im Coma bei Krebskranken, bei Skorbut wurde die β-Oxybuttersäure vorgefunden.

Mit der Oxybuttersäure treten größere Mengen von Ammoniak auf, ja die Größe der Ammoniakausscheidung gibt einen ungefähren Begriff von dem Grade der bestehenden Acidose. Mit dieser Säurebildung geht der Ammoniakgehalt des Harnes allerdings nicht genau parallel, denn Ammoniak wird nur insoweit in Anspruch genommen, als die disponiblen Alkalien nicht dazu hinreichen [Sahli[1])]. Weiterhin hat die β-Oxybuttersäure noch besonderes Interesse, weil sie ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, also optisch aktiv ist und die Ebene des polarisierten Lichtes nach links dreht (spez. Drehung im Mittel $[\alpha]_D = -24{,}12^0$); die quantitative Bestimmung des Harnzuckers durch Polarisation kann hiedurch beeinträchtigt und unmöglich gemacht werden. In der 24stündigen Harnmenge von Diabetikern wurden von Külz 19—50 g, von Wolpe 15—16 g, von Magnus Levy sogar 119 g β-Oxybuttersäure nachgewiesen. Über die Entstehung der Säure wurde das Nähere schon bei der Besprechung des Acetons mitgeteilt.

Die Oxybuttersäure wird fast stets von Acetessigsäure begleitet.

Darstellung und Nachweis.

Wenn ein mit Hefe vergorener Harn noch linksdrehend ist, so ist das Vorhandensein von β-Oxybuttersäure wahrscheinlich. In Harnen, die weiter Acetessigsäure enthalten, kann man ebenfalls meist auf die Gegenwart von β-Oxybuttersäure rechnen. Man nimmt daher diese 2 Prüfungen zuerst vor.

1. Nach Stadelmann[2]) vergärt man diabetischen sterilisierten Harn mit reiner Hefe, 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 mehrmals umkrystallisierten Zinksalze erhält man durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die freie Säure, deren Lösung im Polarisationsapparate links dreht.

E. Fischer und H. Scheibler[3]) stellten aus der rohen, durch Ausziehen mit Äther gewonnenen β-Oxybuttersäure den Methylester dar. E. Külz[4]) stellt aus dem Ätherrückstande das Bleisalz der Säure her (vorsichtiger Zusatz von basisch essigsaurem Blei), zersetzt dieses mit Schwefelwasserstoff und führt die im Verdampfungsrückstande

[1]) Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. F. Deuticke, Leipzig und Wien.
[2]) Zeitschr. Biolog. 1884. **23.** 457.
[3]) Berl. Bericht. 1909. **42.** 1221.
[4]) Zeitschr. Biolog. 1884. **23.** 329.

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.

Beim Vergären verwende man sterilisierten Harn und reine Hefe, um die Bildung von Milchsäure auszuschließen.

2. Ein weiterer Nachweis beruht auf der Bildung von α-Crotonsäure aus β-Oxybuttersäure. Man dampft nach Külz den Harn — nach dem Vergären des vorhandenen Zuckers und nach dem Filtrieren — zum Sirup ein und destilliert den mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure vermischten Rückstand; das Destillat fängt man ohne jede Kühlung in einem Reagenzglase 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.

Durch Auswaschen mit kaltem Wasser werden Beimengungen, wie Benzoesäure (aus der Spaltung der Hippursäure entstanden) und Phenole entfernt.

3. O. F. Black[1]), dann G. Embden und E. Schmitz[2]), auch T. S. Hart[3]) führen die isolierte Oxybuttersäure (entweder die wässerige Lösung, oder das saure Ätherextrakt oder auch Harn nach Entfernung von Aceton und Acetessigsäure durch Kochen) durch Oxydation mit einigen Tropfen Wasserstoffsuperoxyd in Acetessigsäure über und bringen wenige Tropfen 5%iger Ferrosulfatlösung hinzu; es entsteht die bekannte violette Färbung (Embden-Schmitz). Black verwendet wenige Tropfen einer 5%igen Eisenchloridlösung, die eine Spur Ferrosalz enthält und bringt sie zu der mit 2—3 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd versetzten neutralen Lösung (durch Bariumcarbonat neutralisiert) der β-Oxybuttersäure. Hart gibt 1 ccm Eisessig hinzu und einige Tropfen frischer Nitroprussidnatriumlösung und überschichtet mit Ammoniak. Nach 4—5 Stunden bildet sich bei Anwesenheit der Oxybuttersäure ein purpurroter Ring.

Quantitative Bestimmung.

Hiezu wird die Drehung der isolierten Säure ermittelt, es ist aber notwendig, daß alle irgendwie störenden und die Drehung beeinflussenden Harnbestandteile entfernt sind.

1. Um über die Größe der β-Oxybuttersäureausscheidung Aufschluß zu bekommen, empfiehlt H. Sahli[4]) als das beste indirekte Mittel die quantitative Bestimmung der Ammoniakausscheidung mit Beziehung auf die von Magnus-Levy[5]) angegebenen Erörterungen. Magnus-Levy gibt folgende Schätzung an: Von der täglich im Harne des Diabetikers ausgeschiedenen, bestimmten Menge Ammoniak bringt man 1—2 g in Abzug, die für die Neutralisation des fixen Säureüberschusses aus der Eiweißnahrung in Betracht zu kommen haben. Der Rest wäre als das Maß für die pathologische Säureausfuhr zu betrachten. Ein Diabetiker mit 4 g Ammoniak würde also ungefähr dreimal soviel pathologische Säure im Harne ausscheiden, als einer mit 2 g, indem etwa 1 g von den 4 g oder 2 g durch normale Säuren gebunden sind. Dies vorausgesetzt, ist also von 2 g Ammoniak etwa 1 g, von 5 g sind etwa 3—4 g usw. Ammoniak als Maß der pathologischen Säuremenge zu betrachten; diese Zahlen, also 1 g, 3—4 g würden 6, 20 g Oxybuttersäure entsprechen. Eine solche Berechnung und Schätzung der Säure aus dem Ammoniak gilt nach Magnus-Levy nur für einen mehrtägigen Durchschnitt, da die Ammoniakbildung selbstverständlich keine einheitliche sein kann.

2. Nach Magnus-Levy[6]).

Von frischem Harne werden je 100 ccm (man nimmt 300—1000 ccm in Arbeit) mit je 30—40 g Ammoniumsulfat und mit je 10—15 ccm 20%iger

[1]) Journ. of Biolog. chem. 1908/09. **5.** 207.
[2]) l. c. S. 190.
[3]) Americ. Journ. med. Scienc. 1909. **137.** 839.
[4]) l. c. S. 150.
[5]) Archiv exp. Patholog. Therap. 1899. **42.** 1981.
[6]) Ergebn. d. inner. Mediz. u. Kinderheilk. 1908. **1.** 416.

Schwefelsäure versetzt und in einem Ätherextraktionsapparate vollständig extrahiert. Für größere Mengen verwendet man den Apparat von Zelmanowitz, für kleinere den von v. der Heide[1]) oder den bekannten Perkolator. Die Dauer der Extraktion kann 24—72 Stunden betragen; jedenfalls extrahiert man besser etwas zu lange, als zu kurz. Den Ätherauszug kann man zur Entfernung von Spuren von Mineralsäuren mit recht wenig Wasser schütteln, dann durch ein trockenes Filter filtrieren und in einer Schale freiwillig verdunsten lassen. Man destilliert den Äther zur Wiedergewinnung ab. Der aus einem Sirup bestehende Rückstand, der neben der Oxybuttersäure Fettsäuren, Hippursäure enthält, wird mit ungefähr 8—16 ccm Wasser aufgenommen und die trübe Lösung 12 Stunden in einem engen Zylinder beiseite gestellt, wobei sich Hippursäure krystallinisch ausscheidet und absetzt. Man gießt die klare Lösung in einen kleinen Meßzylinder, wäscht mit wenig Wasser nach und füllt auf 10, höchstens auf 20 ccm genau auf. Man bringt eine kleine Messerspitze Kieselgur hinzu und filtriert durch ein dichtes Filter, bis das Filtrat klar ist. Dieses wird polarisiert.

Man kontrolliert am besten, ob die Extraktion vollendet ist, in der Weise, daß man nach 24 Stunden den Ätherauszug in die Schale bringt und mit neuem Äther die Extraktion fortsetzt; man läßt nach weiterem, 24 Stunden dauerndem Extrahieren den Äther verdunsten und sieht, ob noch ein Rückstand bleibt; man kann dann mit einer neuen Äthermenge nochmals 24 Stunden lang ausziehen; gewöhnlich ist nach 48 Stunden die Säure extrahiert. Die zuletzt erhaltenen wässerigen Lösungen sind, da bei diesen jede Erwärmung vermieden worden ist, meist sehr gering gefärbt, so daß die Polarisation gut gelingt.

3. E. Embden und E. Schmitz[2]) verfahren ähnlich, ebenso H. Chr. Geelmuyden.[3])

Die beiden Erstgenannten empfehlen folgendes Verfahren:

100 ccm Harn werden mit 90 g Ammoniumsulfat versetzt und nach dem Ansäuern mit 5 ccm 25%iger Schwefelsäure mit Äther im Ätherextraktionsapparate nach Lind 7 Stunden extrahiert. Man filtriert die Ätherlösung in einen Destillationskolben, wäscht Extraktionsgefäß und Filter mit Äther nach, bringt 5 ccm Wasser hinzu und destilliert den Äther ab; zu starkes Erwärmen ist zu vermeiden. Den abgekühlten Rückstand, die wässerige Lösung, bringt man quantitativ in ein Meßzylinderchen, füllt auf 10—20 ccm auf, schüttelt mit etwas Tierkohle, filtriert und polarisiert.

Nach Letzterem werden 50 ccm Harn mit Sodalösung bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt, auf 10—15 ccm eingedampft und mit 50 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure angesäuert; dann wird Gips eingerührt, bis das Ganze ein grobes, trockenes Mehl bildet und dieses in einem Extraktionsapparate (Soxhlet) mit Äther extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird der Rückstand in Wasser gelöst, es wird auf 50 ccm aufgefüllt, nötigenfalls über Kieselgur (nicht Tierkohle) filtriert und polarisiert.

4. Nach P. Bergell.[4])

Ausführung.

100—300 ccm Harn werden, nachdem vorhandener Zucker durch Gärung entfernt ist, mit Soda schwach alkalisch gemacht und zum Sirup eingedampft. Der Sirup wird nach dem Erkalten mit sirupöser Phosphorsäure, mit 20—30 g entwässertem Kupfersulfat und 20—25 g feinem Sand verrieben. Die so getrocknete Masse wird in einer Patrone aus Filtrierpapier im Soxhletschen

---

[1]) Bei C. Gerhardt in Bonn a. Rh. erhältlich.
[2]) Abderhalden, Handbuch biochem. Arbeitsmethod. 1910. III. 2. 926.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. 95.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 33. 310.

Extraktionsapparate eine Stunde lang mit Äther, der durch geglühtes Kupfersulfat vorher entwässert war, extrahiert, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit 20 ccm Wasser aufgenommen. Die wässerige Lösung entfärbt man mit etwas Tierkohle und polarisiert die Lösung. Aus dem Werte der spezifischen Drehung läßt sich die vorhandene Menge der β-Oxybuttersäure bestimmen und berechnen. (Spezifische Drehung $[\alpha]_D = -24{,}12^0$).

Beurteilung.

Die Extraktion mit Äther ist länger (12—16 Stunden) auszudehnen. S. Shindo,[1]) auch A. Magnus-Levy[2]) konnten ein extrahierbares Pulver nicht bekommen. Dies gelingt schon mit ganz entwässertem Kupfersulfat (ich habe früher Gips genommen), von dem man eben etwas mehr als angegeben nimmt. Shindo verwendet Kieselgur. Er verfährt ebenso, verrührt den dünnen Sirup in der Schale mit konz. Phosphorsäure, dann mit Kieselgur und zieht das trockene Pulver 2 Tage im Soxhletschen Apparate mit Äther aus. Der Ätherrückstand wird ebenfalls mit 20 ccm Wasser aufgenommen, mit Tierkohle behandelt und im Filtrate die Linksdrehung bestimmt. 1° Linksdrehung im 100 mm-Rohr = 4,14% Oxybuttersäure der polarisierten Lösung; man berechnet daraus die Menge im Harne.

5. E. Ohlsson[3]) verwendet an Stelle des Äthers Essigäther als Extraktionsmittel, der nach den Erfahrungen von J. Bang als eine wesentliche Verbesserung anzusehen ist, da die Säure in Essigäther leichter löslich ist, wie in Äther; durch Sättigen des Harnes mit Ammoniumsulfat wird die Löslichkeit noch erhöht

200 ccm Harn werden mit 100 g Ammoniumsulfat und 25 ccm 20%iger Schwefelsäure versetzt. Nach dem Auflösen des Ammoniumsulfates wird das Volumen gemessen, aufgeschrieben und die Flüssigkeit filtriert. 275 ccm des Filtrates werden in einem entsprechend großen Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen Essigäther $^1/_2$—1 Minute geschüttelt; nach dem Trennen der beiden Flüssigkeiten bringt man den Essigäther in einen anderen Scheidetrichter, der 25 ccm 30%iger Sodalösung enthält und schüttelt tüchtig aus, die Oxybuttersäure geht als Natriumsalz in die Sodalösung. Diese bringt man in einen 50 ccm fassenden Meßzylinder, den Essigäther verwendet man zur zweiten Ausschüttelung des angewendeten Harnes und verfährt wie angegeben; das Ausschütteln mit Essigäther und mit der Sodalösung nimmt man im ganzen 6mal vor, man benützt den gleichen Essigäther und die gleiche Sodalösung. Nach dem letzten Ausschütteln bringt man die alle vorhandene β-Oxybuttersäure enthaltende Sodalösung in den 50 ccm Meßzylinder, säuert sie (Vorsicht!) mit 20%iger Schwefelsäure an und ergänzt den Inhalt des Zylinders mit Wasser auf 50 ccm. Wenn die Lösung stark gefärbt ist, soll man sie durch Schütteln mit Tierkohle entfärben und die Lösung polarisieren. Da Tierkohle nach Ohlsson etwa 5% der Säure adsorbiert, so wird man diese Entfärbungsart unterlassen und die Lösung besser durch Filtrieren über Kieselgur klären.

Es wird noch bemerkt, daß man das Verfahren, ohne daß es an Genauigkeit einbüßen soll, dadurch vereinfachen kann, daß man den Harn nur einmal ausschüttelt, wobei 42% der Oxybuttersäure in den Essigester übergehen sollen und daß man den gefundenen Wert mit dem Koeffizienten 2,38 $\left(\frac{100}{42}\right)$ multiplizieren soll, um den Wert für die gesamte vorhandene Oxybuttersäure zu erhalten.

Ein derartiges Vorgehen möchte ich nicht gutheißen. Ich bemerke noch, daß 1 g der Säure in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr = —0,4824° dreht oder daß 1° Drehung im 200 mm-Rohr = 2,07 g $\left(\frac{1}{0{,}4824}\right)$ Oxybuttersäure entspricht.

6. Verfahren nach Ph. Shaffer.[4])

Prinzip.

Die β-Oxybuttersäure wird durch Kaliumdichromat und Schwefelsäure zu Aceton oxydiert und dieses nach Messinger-Huppert bestimmt.

Ausführung.

25—250 ccm Harn werden in einem 500 ccm fassenden Meßkolben mit Bleiessig im Überschusse und 10 ccm konz. Ammoniak versetzt; es wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt und nach dem Umschütteln filtriert. 200 ccm des Filtrates werden auf 500—600 ccm verdünnt und unter Zusatz von 15 ccm konzentrierter Schwefelsäure und etwas Talkum destilliert (250 ccm Destillat A). Bei der Destillation ersetzt man aus einem Tropftrichter das verdampfende Wasser, um ein zu starkes Einengen des Kolbeninhaltes zu verhindern. Dieses Destillat enthält das präformierte

[1]) Inaug.-Dissert. München 1907.
[2]) l. c.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1916. **77.** 232.
[4]) Journ. of Biol. Chem. 1908. **5.** 211. Zeitschr. analyt. Chem. 1909. **48.** 590.

und das aus der Acetessigsäure gebildete Aceton, sowie die flüchtigen Fettsäuren. Nun wird der Destillationsrückstand mit 400—600 ccm einer 0,1—0,5%igen Lösung von Kaliumdichromat destilliert; diese Lösung läßt man gleichfalls aus einem Tropftrichter nachfließen. Es werden ungefähr 500 ccm Destillat B aufgefangen, das unter Zusatz von 20 ccm einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung und einigen Kubikzentimetern Natronlauge nochmals destilliert wird. Das erhaltene etwa 300 ccm betragende Destillat wird nach Messinger-Huppert mit Jod und Thiosulfat titriert.

Beurteilung.

Die störenden Stoffe (Glucuronsäure, Acetessigsäure, Acetaldehyd, Traubenzucker) sollen durch die verschiedenen Vorsichtsmaßregeln (Fällung mit Blei, Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd und Lauge [Traubenzucker]), entfernt oder wirkungslos gemacht werden, doch soll nach Embden und Schmitz bei zuckerhaltigem Harne die Methode nicht zu empfehlen sein.

Das von E. Darmstädter[1]) empfohlene Verfahren, das auf der Zerlegung der β-Oxybuttersäure durch konzentrierte Mineralsäuren in Wasser und in Crotonsäure und in der Bestimmung dieser beruht, ist nach Embden und Schmitz nicht brauchbar. Ebenso äußern sich S. Shindo und A. Magnus-Levy. Shindo hat diese Methode abgeändert.

Weitere Bestimmungsverfahren sind empfohlen von L. Michiels und A. Vandermeulen[2]) u. O. Pribram[3]).

Eigenschaften.

Die β-Oxybuttersäure bildet einen farb- und geruchlosen Sirup; sie krystallisiert auch in glashellen, plattenförmigen Krystallen (Schmelzpunkt 49—50°), ist levogyr, d. h. sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links ($[\alpha]_D = -24{,}12°$ für Lösungen von 1—11%) und gärt nicht; mit Schwefelsäure oder schon mit Wasser erhitzt, bildet sich bei 71—72° schmelzende α-Krotonsäure; durch Oxydation liefert die Oxybuttersäure Aceton. Durch Bleiessig wird sie nicht gefällt. Die Salze sind leicht löslich in Wasser und drehen ebenfalls links.

8. Der Harnstickstoff.

Der im Harne zur Ausscheidung kommende Stickstoff schließt eine Reihe verschiedener Stoffe ein, die man mit dem Namen „stickstoffhaltige Endprodukte" zu bezeichnen gewohnt ist. Als solche sind zu nennen der Harnstoff, die Harnsäure, das Kreatinin, die Purinbasen, das Ammoniak, auch Aminosäuren und Proteinsäuren. Von diesen genannten Stoffen ist allerdings der Harnstoff diejenige Stickstoffverbindung, die in weitaus reichlichster Menge vorkommt und die infolgedessen auch als das wichtigste stickstoffhaltige Endprodukt der Zersetzung von Eiweißstoffen im Organismus zu betrachten ist. Nach Camerer[4]) entfallen 83% des Stickstoffes auf Harnstoff, 5% auf Ammoniak, 1,6% auf Harnsäure, 0,2% auf Purinbasen, 2% auf Kreatinin, 0,5% auf Hippursäure, der Rest auf andere Stoffe (Reststickstoff).

Vom gesunden, erwachsenen normalen Menschen werden bei gewöhnlicher gemischter Kost in der Tagesmenge — in 24 Stunden — Harn etwa 11—15 g Stickstoff ausgeschieden.

Es ist selbstverständlich, daß die Kenntnis des ausgeschiedenen Stickstoffes zur Berechnung und Bestimmung des Eiweißumsatzes und des Nutzungs-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902/03. **37**. 355.
[2]) Annal. d. Pharm. 1912. Novbr./Dezbr.; Chem. Ztg. Rep. 1913. **37**. 491.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59**. 1170.
[4]) Der Gehalt des menschlichen Urins an stickstoffhaltigen Körpern, Tübingen 1901.

und Nährwertes einer Nahrung von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist. Hiezu ist zu erwähnen, daß der größte Teil des zur Ausscheidung kommenden Stickstoffes allerdings durch den Harn erfolgt, daß aber auch die Untersuchung des Kotes für eine richtige Berechnung nach der angedeuteten Richtung hin noch berücksichtigt werden muß, da in diesem die nicht zur Resorption gekommenen Eiweißstoffe und deren Umwandlungsprodukte enthalten sind. Vom gesunden Organismus wird die gleiche Menge Eiweiß, die zur Resorption gelangt, im Körper zersetzt und kommt im Harn und Kot zur Ausscheidung.

Nach J. Bang[1]) entspricht praktisch die totale Stickstoffmenge des Harnes dem gesamten Eiweißumsatze in dem betreffenden Zeitraume, da auf anderem Wege, weder durch die Haut, noch durch die Lungen, Eiweißstickstoff nicht ausgeschieden wird. Mit Exkrementen verläßt nur ein kleiner Bruchteil des Eiweißes (täglich etwa 1 g), der nicht zur Resorption gelangt ist, den Körper. Nur die unbedeutende Eiweißmenge, die dem täglichen Verbrauch an Haar, Nägeln und Epithelien entspricht, kann im Harne natürlich nicht wieder gefunden werden. Aus der Bestimmung der gesamten Stickstoffmenge des Harnes kann daher der gesamte Umsatz von Eiweiß im Organismus genau berechnet werden. Die Verteilung des Stickstoffes auf die verschiedenen Harnbestandteile ist unter normalen Bedingungen ziemlich konstant, so daß durch die Bestimmung dieser Verteilung entschieden werden kann, wie weit im gegebenen Falle der Stoffumsatz normal oder pathologisch ist und welches die eventuell vorliegende Abnormität ist; auch geben die verschiedenen stickstoffhaltigen Verbindungen des Harnes Aufschluß über Einzelheiten des Eiweißumsatzes.

In pathologischen Fällen, bei Diarrhöen, Fieber, Schweiß, Erkrankung der Nieren und des Herzens erscheint nicht aller Stickstoff im Harne; bei Resorption von stickstoffhaltiger Flüssigkeit, von Exsudaten, ist dieser Stickstoff aber wieder sehr vermehrt.

Für die angegebenen Zwecke wird man vorteilhaft in erster Linie die Gesamtstickstoffbestimmung in Anwendung ziehen. In besonderen Fällen wird es von Interesse sein, einen annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harne zu gewinnen; hiezu fehlt es nicht an guten Methoden, besonders die der Bestimmung des Harnstoffes sind so ausgebildet, daß dieser mit großer Genauigkeit bestimmt werden kann.

Quantitative Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

1. Bestimmung nach Kjeldahl.[2])

Prinzip.

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

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\,NaOH = Na_2SO_4 + NH_3 + 2\,H_2O.$$

[1]) a. a. O.

[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1883. **22**. 366.

Erforderliche Lösungen zur Kjeldahlschen 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 Liter reiner konzentrierter Schwefelsäure; auch konzentrierte Schwefelsäure allein, mit der man, wie E. Salkowski gefunden hat, in allen Fällen auskommt.

2. Salpetersäurefreie Natronlauge von 1,35 spez. Gew. (270 g NaOH im Liter).

3. Schwefelkaliumlösung (40 Teile Kalium sulfuratum in 1 Liter), zur Zersetzung etwa gebildeter Quecksilberamidverbindungen.

4. $^1/_{10}$ Normalschwefelsänre. S. 50.

5. $^1/_{10}$ Normalkalilauge. S. 53.

6. Metallisches Quecksilber. E. Salkowski verwendet einige Kubikzentimeter (5—6) einer 10%igen Lösung von Mercuriacetat; auch Kupfersulfat und Kaliumsulfat werden an Stelle des Quecksilbers empfohlen.

Die Reagenzien müssen rein sein, man kann oder soll sich davon durch einen blinden Versuch überzeugen.

Ausführung.

Je nach der Konzentration des Harnes werden 5 oder 6 ccm desselben in einem ungefähr 200—300 ccm fassenden Kölbchen (Fig. 32) mit rundem Boden mit 10—20 ccm der Schwefelsäuremischung oder der konz. Schwefelsäure unter Zusatz eines Tropfens von metallischem Quecksilber versetzt; die Mischung wird in dem schiefgestellten Kölbchen auf einem Drahtnetze mit einer anfangs kleineren, später größeren Flamme so lange erhitzt,

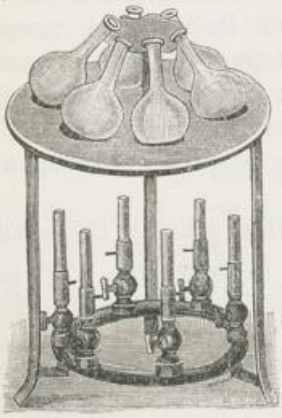


Fig. 32.

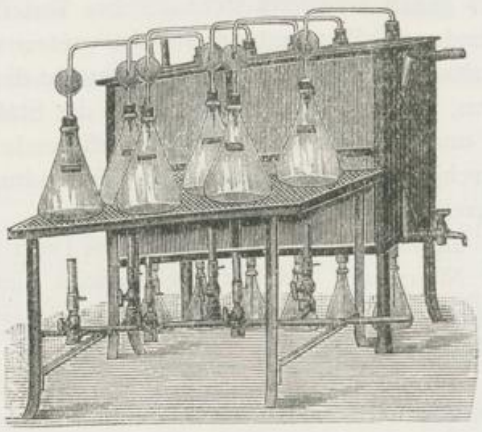


Fig. 33.

bis die Flüssigkeit ganz farblos geworden ist; nach dem Eintritte dieses Zeitpunktes setzt man aber das Erhitzen noch kurze Zeit, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde fort; irgendwelche schwarze kohlige Teile dürfen sich an der inneren Glaswand nicht vorfinden. Das Kölbchen ist mit einer gestielten Glaskugel verschlossen. Nach dem Abkühlen bringt man den Inhalt des Kölbchens mit wenig Wasser in den etwa 750 ccm fassenden Destillierkolben (Erlenmeyerkolben), spült das Kölbchen möglichst oft aus, damit nichts zurückbleibt, verdünnt noch bis zu etwa 250 ccm und setzt nach dem Erkalten oder Abkühlen rasch 80 ccm der Natronlauge — bei Anwendung von 20 ccm Schwefelsäure, bei weniger Säure auch entsprechend weniger Lauge, der Inhalt im Kolben muß aber stark alkalisch reagieren —, 25 ccm Schwefelkaliumlösung oder so viel,

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. 33). Letzteres taucht in einen 450—500 ccm fassenden Erlenmeyerkolben oder in ein Becherglas, das 50—100 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure enthält; die Spitze des Destillationsrohres läßt man etwas in die Flüssigkeit eintauchen. Sobald deutlich Wasserdämpfe übergehen, braucht das Destillationsrohr nicht mehr in die Flüssigkeit zu tauchen; man stellt daher die Vorlage, das Glas mit der $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure, tiefer. Nachdem etwa 100 ccm Flüssigkeit abdestilliert sind, spritzt man das anfangs in die Säure getauchte Rohr mit destilliertem Wasser ab und titriert die im Überschusse zugesetzte Schwefelsäure mit $^1/_{10}$ Normallauge unter Zusatz von Cochenilletinktur oder Lackmus oder am besten von wenigen Tropfen einer Luteollösung (S. 57) als Indicator zurück. (Man stellt sich bei der Verwendung von Cochenille oder Lackmus als Indicator ein damit gefärbtes Glas mit Wasser beim Titrieren zum Beobachten des Farbenumschlages daneben.) Auch Methylrot ist brauchbar (Übergang von Rot in Gelb). Die durch das überdestillierte Ammoniak neutralisierten Kubikzentimeter Schwefelsäure multipliziert man mit 1,401, um zu erfahren, wieviel Milligramme Stickstoff die angewandten Kubikzentimeter Harn enthielten. Zum Beispiel:

Vorgelegt wurden 100 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure,

zum Rücktitrieren verbraucht 45 ccm $^1/_{10}$ Normallauge,

durch das Ammoniak sind also 55 ccm $^1/_{10}$ n-Säure neutralisiert,

die angewendeten 5 ccm Harn enthielten daher

$$55 \cdot 1{,}401 = 77{,}05 \text{ mg N}, \quad 100 \text{ ccm} = 1{,}541 \text{ mg N}.$$

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

Man kann bei dem Zerstören des Harnes auch Kupfersulfat und Kaliumsulfat an Stelle des Katalysators Quecksilber nehmen; der Zusatz von Schwefelkaliumlösung erübrigt sich dann; weiter kann das Aufschließen in einem langhalsigen Rundkolben vorgenommen werden, in dem auch zugleich die Destillation ausgeführt wird.

In einen solchen Rundkolben von etwa 750 ccm Inhalt aus Jenaer Glas bringt man 5 ccm Harn, 10—15 ccm konz. reiner Schwefelsäure, 0,25—0,5 g krystallisiertes Kupfersulfat und 4,5 g Kaliumsulfat und erhitzt wie angegeben, erst mit kleiner, dann mit größerer Flamme, bis die Flüssigkeit grün geworden ist; zur Beendigung der Oxydation unterhält man noch eine halbe Stunde lang ein ruhiges Sieden des Kolbeninhaltes. Nach dem Abkühlen verdünnt man den Kolbeninhalt mit etwa 200 ccm Wasser, setzt die nötige Menge Natronlauge hinzu, verbindet den Kolben mit dem Kühler, destilliert und bestimmt das Ammoniak wie angegeben.

J. Bang hält die Verwendung von 2 ccm Harn für vollkommen genügend, die größeren Mengen für überflüssig und unpraktisch, da damit nur ein Zeitverlust und ein größerer Verbrauch an Lösungen verbunden sind. Er verwendet einen Rundkolben mit langem Halse aus Jenaer Glas von 300 ccm Inhalt, bringt in diesen den ganz genau abgemessenen Harn, 2 ccm, 10 ccm konz. Schwefelsäure, eine Messerspitze pulverisiertes Kupfersulfat und einen Teelöffel festes Kaliumsulfat und erhitzt in der angegebenen Weise. Nach dem Aufschlusse und dem Abkühlen gibt man 50 ccm Wasser in den Kolben, kühlt ab, bringt dann 70 ccm 30%iger Lauge, einige dünne Stückchen Zink dazu, verbindet mit dem Destillationsapparate und verfährt weiter wie oben.

Beurteilung.

Die Kjeldahlsche Bestimmung ist, wie schon angegeben, die einfachste und sicherste Methode, die die Ausführung einer großen Anzahl von solchen Bestimmungen nebeneinander ermöglicht und nur eine geringe Überwachung der Arbeit erfordert.

In einem Laboratorium wird man selbstverständlich diese Methode zu Rate ziehen; aber auch in jedem kleinen Laboratorium kann man die Bestimmung vornehmen, da man bei der Zerstörung jedes beliebige andere Gestell (es gibt solche besondere, sehr zweckmäßige für 1 Kolben passend) und zur Destillation jeden gewöhnlichen Kühler verwenden kann; man hat nur nötig, sich die Zerstörungskolben vorrätig zu halten.

Als Indicatoren halte ich neutrale Lackmuslösung (S. 56) oder besonders Luteol (ebenda) für die besten.

2. Verfahren zur Mikrobestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl geben an C. M. Öhme[1]), Ljungdahl.[2]) Nach letzterem werden 0,5—1,0 ccm Harn, sehr genau gemessen, in einem langhalsigen Kjeldahl-Kolben von 50 ccm Inhalt aus hartem Glase mit 1 ccm konz. Schwefelsäure, einigen Körnchen Kupfersulfat und einer Messerspitze (0,5 g) Kaliumsulfat (K_2SO_4) aufgeschlossen, was 5—20 Minuten in Anspruch nimmt. Nach der eingetretenen Grünfärbung setzt man das Sieden noch 20 Minuten fort und destilliert nach Zusatz von Lauge in bekannter Weise usw. Es empfiehlt sich, hier mit Wasserdampf zu destillieren, d. h. das Ammoniak in die vorgelegte Säure überzutreiben und auch den Destillierkolben direkt zu erhitzen. H. Lührig[3]) hat nach der von J. Bang angegebenen Weise gearbeitet mit wenigen Abänderungen und den abgebildeten Apparat benützt. Fig. 34. Bei der Anwendung der Mikromethoden müssen genau geprüfte Meßgefäße, Büretten, Pipetten mit Teilung in $^1/_{20}$ ccm verwendet werden; die Ablesung hat genauestens (Lupe) zu erfolgen.

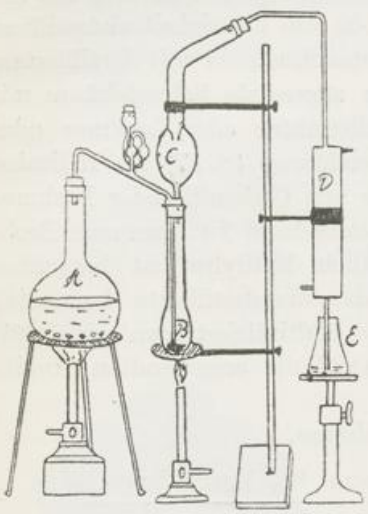


Fig. 34

Öhme verfährt ähnlich, er empfiehlt als Indikator Methylrot (1 : 1000); der Farbenumschlag ist hier von rot in kanariengelb.

V. C. Myers[4]) gibt ein Verfahren an, das wie das von O. Folin u. Ch. J. Farmer[5]) empfohlene darauf beruht, daß man 1 ccm des auf das 10—20fache verdünnten Harnes in einem Reagenzglase mit 0,1 ccm konz. Schwefelsäure, 0,05—0,1 g Kaliumsulfat und 1 Tropfen 10%iger Kupfersulfatlösung 5 Minuten über einem Mikrobrenner kocht. In der verdünnten, auf ein bestimmtes Volumen gebrachten aufgeschlossenen Lösung bestimmt man den Ammoniakgehalt (Ammoniumsulfat) kolorimetrisch unter Vergleich einer Lösung mit einem bestimmten Gehalte an reinem Ammoniumsulfat nach Zusatz einer verdünnten Nesslerlösung und unter Benützung des von Autenrieth-Koenigsberger empfohlenen Kolorimeters.

3. Um bei der Bestimmung des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahls Methode die Destillation des gebildeten Ammoniaks zu ersparen, wendet L. de Jager[6]) die Formoltitrierung an. Er schlägt, da das verwendete Kupfersulfat oder Quecksilber vorher entfernt werden müssen, folgenden Gang vor.

40 ccm Harn werden mit 5 g Natriumacetat und mit so viel einer 10%igen Eisenchloridlösung (zur Entfernung der Phosphate) versetzt, bis die Farbe rotbraun erscheint. Man füllt bis zu 50 ccm auf. Die Mischung wird in ein Erlenmeyersches Kölbchen gebracht, dieses genau gewogen und der Inhalt zum Kochen erhitzt, wobei die Phosphorsäure als Eisenphosphat gefällt, während das im Überschusse zugesetzte Eisen als basisch essigsaures Salz niedergeschlagen wird. Das Kölbchen wird nun mit Wasser bis zum ursprünglichen Gewichte versetzt, noch einmal auf die Flamme gestellt und die Flüssigkeit heiß filtriert. Von dem Filtrate werden nach dem Abkühlen 10 ccm = 8 ccm Harn abgemessen und im Kjeldahlschen Kolben mit 0,5 g Kupfersulfat, 3 g Kaliumsulfat und 8 ccm Schwefelsäure erhitzt. Zu dem in Wasser gelösten Reaktionsprodukte setzt man langsam 10 ccm einer 10%igen Natriumsulfidlösung und erhitzt zur Entfernung des Schwefelwasserstoffes, bis die Flüssigkeit klar erscheint. Man bringt den Inhalt im Kjeldahlkolben in ein Meßkölbchen, spült den Kolben mit Wasser nach, kühlt ab und füllt auf 100 ccm auf. Man

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1918. **55.** 17.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1917. **83.** 115.
[3]) Pharm. Centralh. 1921. **62.** 438; J. Bang, Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. J. F. Bergmann, Wiesbaden 1916. und 1920.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1915. **62.** 1076.
[5]) Journ. of Biolog. Chem. 1912. **11.** 493.
[6]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **67.** 1.

filtriert 50 ccm, entsprechend 4 ccm ursprünglichen Harnes ab und neutralisiert die Säure mit starker Natronlauge unter Zusatz von 3 Tropfen einer Phenolphthaleinlösung (Lackmus gibt nicht ganz richtige Werte) bis zur Rotfärbung, worauf man so viel starke Salzsäure zusetzt, bis die rote Farbe eben verschwunden ist; nun wird mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge bis zur Rosafärbung titriert, dann werden 6 ccm neutralisiertes Formalin zugesetzt, worauf wieder bis zur Rosafärbung mit der $^1/_{10}$ n-Lauge titriert wird. Beim Zusetzen der Lauge erfolgt Wärmeentwicklung; man muß die Lauge vorsichtig zugeben und einen etwaigen Überschuß sofort durch Säurezusatz absättigen, damit Ammoniak nicht zu Verlust geht.

L. de Jager fand brauchbare Werte.

4. Bestimmung des Stickstoffes nach der Methode von P. Rona und R. Ottenberg.[1])

5 ccm Harn werden mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 5 bis 8 Tropfen einer 1%igen Platinchloridlösung als Katalysator aufgeschlossen, mit etwa 100 ccm destilliertem Wasser quantitativ in einen ungefähr 350 ccm fassenden Erlenmeyerkolben gespült, mit 6—7 Tropfen einer Lackmuslösung (Lackmus von Kubel-Tiemann, von Kahlbaum bezogen) versetzt und etwa 20 ccm 33%iger Natronlauge hinzugefügt; dann wird an der Wasserleitung abgekühlt und nach dem Erkalten der Flüssigkeit weiter 33%ige Natronlauge zuerst kubikzentimeterweise, dann, wenn die blaue Farbe nicht mehr so schnell verschwindet, (wenn nötig, unter Kühlung) tropfenweise hinzugegeben, bis die Farbe eben blau geworden ist. Man macht die Flüssigkeit mit $^1/_5$ n-Säure wieder schwach sauer oder neutral und fügt nun bis zur deutlich blauen Farbe $^1/_5$ n-Lauge hinzu. Dann wird tropfenweise $^1/_5$ n-Säure zugesetzt, bis eben die erste deutliche Abweichung nach dem Violett auftritt. Um diesen Punkt deutlich zu erkennen, muß man eine Vergleichslösung von rein blauer Farbe benützen, die folgendermaßen hergestellt wird: 150 ccm destillierten Wassers werden mit 1 ccm $^1/_5$ n-Lauge und 10 Tropfen Lackmus versetzt. Bei der Verwendung dieser Lösung ist der Umschlag stets mit Leichtigkeit erkennbar. Nun fügt man zu der so neutralisierten Lösung 30 ccm Formaldehyd, das vorher unter Anwendung von Phenolphthalein gerade bis zur beginnenden Rosafärbung neutralisiert worden ist, titriert mit $^1/_5$ n-Lauge, fügt noch, sobald die Farbe beginnt blau zu werden, 1 ccm einer $^1/_2$%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert weiter bis zum ersten Auftreten der violetten Farbe, die als Mischfarbe von Lackmus und Phenolphthalein entsteht. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Lauge gibt direkt die entsprechende Ammoniak- und Stickstoffmenge an.

Beurteilung.

Die nach der „Formolmethode" 4 gewonnenen Werte stimmen mit den durch Destillation erhaltenen gut überein. Zu bemerken ist nur, daß hier die Phosphate nicht entfernt werden und daß bei Anwesenheit von viel Phosphat die Werte unter Umständen etwas zu hoch ausfallen.

5. Die von J. Liebig[2]) angegebene direkte Titration des Harnstoffes in dem von Phosphaten und Sulfaten durch Baryt, von Chloriden [nach Pflüger[3])] durch Silbernitrat befreiten Harne mit einer auf eine 2%ige Harnstofflösung eingestellten Mercurinitratlösung unter Mitverwendung einer Normalsodalösung ist weder eine sichere, noch auch eine einfache oder bequeme Methode, sie ist im Gegenteil sehr kompliziert; man muß besonders darauf eingearbeitet sein, wenn man einigermaßen zufriedenstellende Ergebnisse bekommen will; dazu kommt noch, daß mit diesem Verfahren ebenfalls der Gesamtstickstoff und nicht etwa der Harnstoff allein bestimmt wird.

Im Prinzip beruht das Verfahren auf der Eigenschaft des Harnstoffes, mit Mercurinitrat eine unlösliche Verbindung — $2\,CO(NH)_2 + Hg(NO_3)_2 + 3\,HgO$ — zu geben. Das Ende der Reaktion wird erkannt, wenn ein herausgenommener Tropfen der Mischung mit Natriumbicarbonat zusammengebracht gelb gefärbt wird. (Bildung von basischem Quecksilbernitrat.) Die Liebigsche Methode hat nur noch historisches Interesse.

B. Glassmann[4]) hat eine Abänderung des Verfahrens gebracht, auch Friedländer[5]).

6. Als Ersatz für die Kjeldahlsche hat J. Jolles[6]) eine Methode empfohlen, die darauf beruht, daß der größte Teil der stickstoffhaltigen Bestandteile bei der Behandlung mit Bromnatronlauge den Stickstoff direkt abgibt und daß durch Oxydation mit Permanganat die nicht direkt zersetzungsfähigen Stoffe in solche Körper übergehen, die in der angegebenen Weise reagieren.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. **24.** 354.
[2]) Liebigs Annal. 1853. **85.** 209.
[3]) Pflügers Archiv Physiol. 1880. **21.** 248.
[4]) Berl. Bericht. 1906. **39.** 705.
[5]) Zentralbl. inn. Mediz. 1901. **22.** Nr. 30.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1921. **68.** 1225.

9. Carbaminsäure. Aminoameisensäure. $CH_3 \cdot NO_2$ oder $CO\begin{<}{OH}{NH_2}$.

Diese kommt im freien Zustande im Harne nicht vor, sie zerfällt nach ihrer Abscheidung aus den Salzen in Ammoniak und in Kohlensäure.

Sie soll sich, wenn auch nicht regelmäßig, im normalen Harne vorfinden; ihre Herkunft in physiologischer Richtung ist noch unsicher und unentschieden, würde aber vielleicht durch die Bildungsweise des Harnstoffes aus Ammoniumcarbonat, wobei intermediär carbaminsaures Ammoniak auftritt, erklärt.

Die umständliche Darstellung, wozu J. Abel und E. Drechsel eine Vorschrift gegeben haben, zudem das noch nicht sichergestellte Vorkommen der präformierten Säure und der Mangel einer charakteristischen beweisenden Reaktion lassen eine weitere eingehende Betrachtung unnötig erscheinen, zumal dieser Säure eine besondere Bedeutung nicht zukommt.

Auf eine von J. J. R. Macleod und H. D. Haskins[1]) ausgearbeitete Methode einer quantitativen Bestimmung sei hingewiesen.

10. Der Harnstoff. Aminoameisensäureamid. CON_2H_4 oder $CO\begin{<}{NH_2}{NH_2}$.

Der Harnstoff — Carbamid — im Jahre 1773 von Rouelle im Harne entdeckt, ist der am reichlichsten im Harne vorkommende organische Stoff und der wichtigste der Endprodukte des Eiweißstoffwechsels. (S. 35 und 168.) Nach den Forschungen von Nencki, Salkowski, Schultzen, Schmiedeberg, R. Hofmeister, A. A. Epstein, ist es wahrscheinlich, daß der Harnstoff aus Aminosäuren, Zersetzungsprodukten des Eiweißmoleküls sich bildet. Bei der Oxydation werden diese Aminosäuren in Wasser, Kohlensäure und Ammoniak umgesetzt; aus den beiden letzteren entstehen in statu nascendi das carbaminsaure Ammonium, aus dem sich der Harnstoff unter Wasseraustritt oder Zersetzung in Harnstoff und Ammoniumcarbonat bildet.

$$CO\begin{<}{O \cdot NH_4}{NH_2} - H_2O = CO\begin{<}{NH_2}{NH_2} \quad \text{oder}$$

$$2\,CO\begin{<}{O \cdot NH_4}{NH_2} = CO\begin{<}{NH_2}{NH_2} + CO\begin{<}{O \cdot NH_4}{O \cdot NH_4}.$$

Nach den Untersuchungen von Abderhalden und seinen Mitarbeitern können wie die Aminosäuren auch Polypeptide im Tierkörper zu Harnstoff abgebaut werden.

Mit der im vorstehenden genannten Ansicht würde auch die von E. Drechsel[2]) im Einklange stehen, der die Entstehung des Harnstoffes aus Eiweiß durch Hydrolyse ohne direkte Oxydation annimmt. R. Fosse bestätigt diese Angabe. Nun wissen wir, daß die Menge des so gebildeten Harnstoffes von dem Gehalte der Eiweißkörper an Arginin, einer Diaminosäure, abhängig ist, die bei der Einwirkung des Trypsins im Darmkanal entsteht und die sich wohl auch in den Geweben beim Abbau der Proteine bilden wird.

---

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 1905. **12.** 444.
[2]) Berl. Bericht. 1890. **23.** 3096.

Durch fermentative Spaltung der Eiweißstoffe gelang A. Kossel und H. D. Dakin[1]) ebenfalls die Gewinnung von Harnstoff aus Arginin; sie stellten ferner fest, daß die Harnstoffabspaltung von einem besonderen Fermente, Arginase genannt, veranlaßt wird. Auch die Bildung von milchsaurem Ammonium bei dem Eiweißzerfalle ist erwiesen und könnte auch aus diesem in der Leber kohlensaures Ammonium und daraus wieder Harnstoff gebildet werden.

Nach den Versuchen v. Schroeders vollzieht sich die Harnstoffbildung hauptsächlich in der Leber, wenn auch andere Organe daran beteiligt sein dürften und die Leber, wie Nencki, Pawlow u. a. gefunden haben, nicht als ausschließlicher Ort der Harnstoffbildung anzusehen ist. Als Ausscheidungsorgane müssen die Nieren betrachtet 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 Menschenharne vorkommenden Harnstoffes ist eine verschiedene und hängt von der Nahrung ab. Im allgemeinen nimmt man an, daß der gesunde Mensch bei gemischter Nahrung in 24 Stunden 25—35 g (nach anderer Angabe 20—30 g) Harnstoff ausscheidet; die Frau scheidet etwas weniger aus (etwa 24—30 g). Der menschliche Harn enthält also ungefähr 2% Harnstoff.

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

Das Verhältnis des Stickstoffes des Harnstoffes zur gesamten Stickstoffmenge ist ungefähr 85 : 100 (Robins Koeffizient).

Dieser Koeffizient, Oxydationskoeffizient, läßt die größere oder geringere Intensität der Oxydationsvorgänge im Organismus erkennen; die Harnstoffbildung wird durch diese Vorgänge beeinflußt.

So kann eine Verminderung der Verhältniszahl, die nach anderen 91—94 : 100 betragen soll, eine unvollkommene, ungenügende Oxydation und eine Anhäufung anderer, dem Organismus nicht zuträglicher Stoffe anzeigen; bei Cholera sind z. B. Werte von 50—60 : 100 zu finden.

Über die Ambardsche Konstante siehe bei Chlornatrium S. 78.

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

Eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung Hyperazoturie findet, was eigentlich selbstverständlich ist, statt bei allen Krankheiten (akuten fieberhaften Krankheiten, Typhus, akuten Infektionskrankheiten), durch die ein Zerfall des Organeiweißes bedeutend gesteigert wird; die größte Ver-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41.** 321; 1904. **42.** 181; Münch. med. Wochenschr. 1904. **50.** Nr 13.

mehrung des Harnstoffes kann man bei Diabetes mellitus finden; hier kann die absolute Menge das Vier- bis Fünffache der normalen Menge betragen, sie kann zum Teil aber wenigstens auch durch die Fleischkost bedingt sein (bis über 100 g täglich). Medikamente (Coffein, Chinin, Natrium salicylicum), Kaffee, Kochsalz, Borax, Glaubersalz, Dampfbäder, Elektrizität bewirken gleichfalls eine mehr oder weniger vermehrte Ausscheidung.

Verminderung des Harnstoffes, Hypazoturie, tritt ein bei degenerativen Leberleiden, so bei der akuten gelben Leberatrophie, nach Phosphorvergiftungen, und zwar in so auffallender Weise, daß manchmal überhaupt gar keine Ausscheidung mehr beobachtet wird; hier bilden sich infolge der mangelhaften Oxydation der Eiweißkörper die Vorstufen des Harnstoffes, das Leucin und Tyrosin. Vermindert findet man den Harnstoff ferner bei Nierenkrankheiten, bei denen die Epithelien der gewundenen Harnkanälchen in Mitleidenschaft gezogen sind; hier 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.

Noch wäre der von Salkowski angegebenen Beurteilung zur Entscheidung der Frage, ob die im Harne ausgeschiedene Menge Stickstoff ausschließlich der aufgenommenen Nahrung und nicht dem Körpereiweiß entstammt, zu gedenken, die darauf beruht, daß eine verminderte Kochsalzausscheidung, die bei Gesunden ungefähr die Hälfte des Harnstoffes beträgt und eine vermehrte Stickstoffausscheidung darauf schließen lassen, daß in diesem Falle der Stickstoff aus dem Körpereiweiß stammt.

Darstellung aus dem Harne.

Man dampft Harn bis zum leichten Sirup auf dem Wasserbade ein, versetzt den Rückstand in der Kälte (durch Einstellen in Eiswasser) mit reiner farbloser, ebenfalls abgekühlter Salpetersäure im Überschusse und trennt den entstandenen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff rasch von der Mutterlauge durch Absaugen auf einem Filter; der salpetersaure Harnstoff wird mit Salpetersäure ausgewaschen und zwischen Filtrierpapier abgepreßt. Den in etwas Wasser gelösten salpetersauren Harnstoff zerlegt man mit kohlensaurem Baryt und zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mit 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 Absaugen von der Flüssigkeit befreit werden und durch Auflösen in Alkoholäther nötigenfalls noch weiter gereinigt werden können.

Man kann den Harnstoff auch als oxalsauren Harnstoff nach dem Verfahren von Freund und Töpfer (s. S. 187) isolieren; hier kann man größere Mengen Harn in Arbeit nehmen.

Eigenschaften.

Der Harnstoff krystallisiert in wasserfreien, langen, wasserhellen, vierseitigen rhombischen Prismen, die durch ein oder zwei schiefe Endflächen geschlossen sind. Der Harnstoff ist leicht löslich in Wasser und Alkohol — die Lösungen reagieren neutral —, er löst sich auch in wasser- und alkoholhaltigem Äther, unlöslich ist er in reinem Äther, Essigäther und Chloroform und besitzt einen bitterlichen kühlen, salpeterähnlichen Geschmack. Sein Schmelzpunkt liegt bei 132°.

Als basischer Körper verbindet sich der sehr reaktionsfähige Harnstoff mit vielen Säuren und liefert mit ihnen krystallisierende Salze, von denen besonders das salpetersaure und oxalsaure Salz wegen ihrer Schwerlöslichkeit zum Nachweise des Harnstoffes wichtig sind. Der Harnstoff zeigt neutrale Reaktion, mit Säuren gibt er Salze, die sauer reagieren. Mit Salzen (Chlornatrium, Chlorammonium, den Nitraten der Schwermetalle) vereinigt sich der Harnstoff zu krystallisierenden Verbindungen, von denen die mit salpetersaurem Quecksilberoxyd für die quantitative Bestimmung des Harnstoffes empfohlen wurden; Mercurinitrat gibt mit Harnstofflösungen einen weißen, flockigen Niederschlag, der je nach der Konzentration der Flüssigkeit 1, 2 und 3 Äquivalente Quecksilberoxyd auf ein Äquivalent Harnstoff enthält; diese Eigenschaft des Harnstoffes bildete den Ausgangspunkt für die nun nicht mehr in Anwendung kommende Harnstoffbestimmung nach Liebig. Mit Palladiumchlorür gibt der Harnstoff ein schwerlösliches Salz, $2CO \cdot (NH_2)_2 \cdot PdCl_2$.

Mit einer Lösung von unterchlorig- oder unterbromigsaurem Salz, ebenso mit salpetriger Säure zusammengebracht, zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser. Auf der Zerlegung des Harnstoffes durch Natriumhypobromit beruht die Bestimmung des Harnstoffes nach Hüfner mit den vielen hier empfohlenen Verfahren und Apparaten (Ureometern). Beim längeren Erhitzen auf 130° entsteht Biuret, Ammoniak und Cyansäure.

Beim Erwärmen einer Harnstofflösung — in wässeriger Lösung ist der Harnstoff nicht beständig, er zerfällt schon bei niederer Temperatur teilweise in das isomere Ammoniumcyanat und dann unter Wasseraufnahme weiter in Ammoniumcarbonat — zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure und Ammoniak; durch Zusatz von Alkalien und besonders von Säuren wird diese Hydrolyse befördert, im Autoklaren mit 20%iger Salzsäure oder Schwefelsäure auf 150° erhitzt, wird der Harnstoff im Verlaufe von 2 Stunden quantitativ gespalten.

Die Fähigkeit, Harnstoff zu hydrolysieren, kommt auch sehr vielen Bakterien, vor allem Mikrococcus ureae Past., nicht jedoch dem Bacter. col. comm. zu; dagegen greift das Bact. fluorescenz liquefaciens den Harn ungemein rasch an, es tritt die erwähnte Spaltung ein, ohne daß die übrigen stickstoffhaltigen Bestandteile verändert werden. Die Hydrolyse wird weiter durch die Gegenwart eines Enzyms, der Urease, die sehr verbreitet ist in Pflanzensamen, besonders in dem der Papilionaceen und hier vor allem in

der Sojabohne (Glycine, Soja hispida) veranlaßt. Die Sojabohnen und die Urease werden neuerdings zur quantitativen Bestimmung des Harnstoffes verwendet.

Qualitativer Nachweis.

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

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 beiseite. Unter dem Mikroskope sieht man dann entweder einzelne rhombische Tafeln (Fig. 35), oft auch solche, deren stumpfe Winkel durch Flächen in hexagonale Tafeln umgewandelt werden, oder der Harnstoff scheidet sich in sechsseitigen Täfelchen aus, deren Ränder sich dachziegelartig decken.

   Zum Unterschiede von Cystin und von den sechsseitigen Tafeln der Harnsäure sind die Krystalle des salpetersauren Harnstoffes in Wasser löslich.

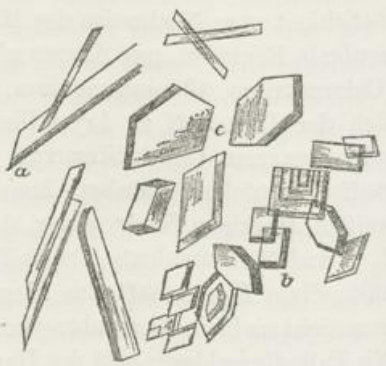


Fig. 35.

a Harnstoff.
b Salpetersaurer } Harnstoff.
c Oxalsaurer }

Zur Erkennung einer Flüssigkeit als Harn empfiehlt C. F. Reichardt[1]) folgendes Verfahren: Auf einen Objektträger tröpfelt man 1 Tropfen 1%ige Lösung $AuCl_3NaCl + 2\,H_2O$, 1 Tropfen 1%ige Lösung von KJ (frisch bereitet) und 2 Tropfen der Flüssigkeit. Man trocknet über Schwefelsäure und untersucht nach 12 Stunden; wenn die Flüssigkeit Harn ist, werden Harnsäure, Harnstoff und Kreatinin in außerordentlich deutlichen Krystallformen erkannt. Nach 2—3 Tagen nach der Aufbewahrung der Präparate im Exsiccator nehmen die Harnsäurekrystalle (Doppelwetzsteinform) ab, die Harnstoffdoppelverbindungen treten in seidenglänzenden Prismen mit Einlagerung blaugefärbter Jodkörper mehr hervor.

2. Wird konzentrierte Harnstofflösung oder konzentrierter Harn mit gesättigter Oxalsäurelösung zusammengebracht, so scheidet sich oxalsaurer Harnstoff $((CON_2H_4)_2 \cdot C_2H_2O_4 + H_2O)$ in Krystallen aus, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind; meist findet man in mikroskopischen Präparaten die prismatische Form (Fig. 35).

   In alkoholischer oder amylalkoholischer Lösung wird Harnstoff durch eine ätherische Lösung von Oxalsäure als krystallinisches Harnstoffoxalat gefällt (Brücke).

3. Eine charakteristische Reaktion ist die Biuretreaktion. Man erhitzt einige Kryställchen des wie oben angegeben hergestellten Harnstoffes in einem trockenen Reagenzglase gelinde, bis sie in ihrer

[1]) Pharm. Ztg. 1909. **54.** 1007.

ganzen Masse geschmolzen sind und kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist; hiebei entsteht zunächst durch Zusammentritt von 2 Molek. Harnstoff unter Austritt von Ammoniak Ammoniak und Biuret (NH_2—CO—NH—CO—NH_2), das Amid der Allophansäure. Daneben bildet sich noch aus 3 Molek. Harnstoff unter Abspaltung von 3 Molek. Ammoniak Cyanursäure. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, es werden etwas stark verdünnte Natronlauge oder Kalilauge und vorerst 1—2 Tropfen einer verdünnten Kupfersulfatlösung zugesetzt; die Lösung färbt sich anfangs rosa, dann, je weiter man mit dem Zusatze 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 (20%) 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 (H. Schiff).[1])

D. Ganassini[2]) löst 5 Tropfen Furfurol in 2 ccm 96%igem Alkohol und gibt 2 ccm Wasser und 1 ccm konz. Salzsäure hinzu; man läßt eine Stunde stehen. Wenige Tropfen dieser Lösung geben mit einer Spur Harnstoff eine prächtig purpurrote, allmählich in violett übergehende Färbung. Nach den Versuchen des Verf. gelingt die Ausführung der Reaktion nur mit unreinem Furfurol; die die Reaktion auslösende Verunreinigung wäre Aceton.

5. Nach Fenton[3]) gibt Methylfuril ($C_4H_3O \cdot CO \cdot CO \cdot C_4H_2O \cdot CH_3$) oder der Ketoaldehyd ($CHO \cdot C_4H_2 \cdot O \cdot CO \cdot C_4H_2 \cdot O \cdot CH_3$) mit Harnstoff nach Zusatz einer Spur Phosphoroxychlorid und Acetylchlorid eine schöne blaue Färbung. Noch 0,01 mg Harnstoff soll nachweisbar sein.

6. Harnstoff in verd. Salzsäure gibt, im Überschusse mit 40%igem Formaldehyd versetzt, einen weißen unlöslichen Niederschlag von Diformaldehydharnstoff (Goldschmidt).[4]) May, Jaffé haben diese Reaktion schon früher angegeben. Nach L. de Jager[5]) schadet ein Überschuß von Salzsäure weniger, als ein Zuviel an Formaldehyd. Eine maximale Fällung kommt zustande mit 200—300 mg Formalin und 1 ccm Salzsäure (25%ig), d. i. 3—4 Molek. Formalin auf 6 Molek. Salzsäure.

7. Nach E. Lüdy[6]) versetzt man den alkoholischen Auszug des eingedampften Harnes mit einer alkoholischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd in geringem Überschusse und dampft auf dem Wasserbade ein. Der trockene Rückstand wird mit Alkohol erwärmt, der

[1]) Berl. Bericht. 1877. **10.** 773.
[2]) Boll. Chim. Farm. 1920. **59.** 3.
[3]) Proc. chem. Soc. 1903. **18.** 243; Zeitschr. angew. Chem. 1903. 991.
[4]) Berl. Bericht. 1896. **29.** 2438.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 110.
[6]) Monatshefte f. Chem. 1890. **10.** 303. 310.

Alkohol abgegossen und diese Behandlung mit Alkohol noch 2—3mal wiederholt, bis der Alkohol mit Phenylhydrazinlösung keine Reaktion mehr gibt. Vorhandener Harnstoff ist in o-Nitrobenzilidendiureid übergegangen, einen weißen pulverigen Körper, der mit einer verdünnten Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin und etwa 5—10 Tropfen einer etwa 10%igen Schwefelsäure versetzt und zum Sieden erhitzt eine Rotfärbung gibt. — Bildung des Phenylhydrazons des o-Nitrobenzaldehyds, das aus dem gebildeten o-Nitrobenzilidendiureid frei wird. Das bei der Reaktion zugegebene o-Nitrobenzaldehyd muß ganz entfernt sein!

Beurteilung.

Die angeführten Reaktionen sind für den Nachweis kennzeichnend und genügend. In der zur Identifizierung vorliegenden Flüssigkeit könnte man noch auf Harnsäure (Abscheiden dieser durch Zusatz von Salzsäure zur Flüssigkeit und Murexidprobe der ausgeschiedenen Krystalle), sowie auf die Anwesenheit von Kreatinin prüfen.

Quantitative Bestimmung des Harnstoffes.

Die hiezu dienenden Methoden haben im allgemeinen das gemeinsam, daß man darauf ausgeht, den Harnstoff entweder möglichst frei von anderen störenden Stoffen zu gewinnen, ihn dann zu zersetzen und eines der Spaltungsprodukte zu bestimmen, oder daß man diese Zersetzung (Hydrolisierung) wenigstens in der Weise vornimmt, die eine eingreifende Änderung und Zersetzung der anderen Bestandteile möglichst vermeidet.

Hier mag erwähnt sein, daß nach den Versuchen F. Lippichs[1]) die Hauptmenge des nach Pflüger-Schöndorff, nach Mörner-Sjöqvist bestimmten Harnstoffes zweifellos Carbamid ist, daß eine vom Harnstoff äußerst schwer trennbare Substanz, wie Moor angab (Urein), dem Harnstoff im menschlichen Harne nicht beigemischt ist und daß der Harnstoffgehalt des menschlichen Harnes keineswegs wesentlich überschätzt worden ist. Nach Moor trifft dies für Harne von niederem spezifischem Gewichte, nicht aber für solche mit höherem spezifischem Gewichte (1,025—1,030) zu; letztere sollen Urein enthalten.

1. Die Methode von E. Pflüger, K. Bohland-L. Bleibtreu[2]) mit den Modifikationen nach Gumlich[3]), B. Schöndorff.[4])

Allgemeines und Prinzip.

Pflüger, Bohland, Bleibtreu haben den Harn mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure zur Entfernung von anderen störenden stickstoffhaltigen Bestandteilen behandelt und im Filtrate den vorhandenen Harnstoff durch Erhitzen mit Phosphorsäure hydrolisiert; aus dem gebildeten Ammoniumphosphat wurde das Ammoniak durch Lauge freigemacht und abdestilliert. Zugleich war noch im Filtrate direkt eine Ammoniakbestimmung auszuführen, dieser Wert von dem gefundenen Gesamtammoniak in Abzug zu bringen und der Rest auf Harnstoff zu berechnen.

K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist, M. Chassevant fanden nun, daß bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure unter Umständen, wenn der Harn reichlich Harnstoff enthält, etwas Harnstoff mit ausgefällt werden kann; das gleiche beobachtete auch Folin[5]) besonders bei Pneumonieharnen, die Eiweiß und größere Mengen Ammoniak enthielten; auch trotz der von Gumlich empfohlenen Verdünnung war die Ausfällung des Harnstoffes durch Phosphorwolframsäure nicht vollständig zu verhindern. Diese Beobachtungen haben sämtlich ihre Richtigkeit; nach den Versuchen von Schöndorff, Pflaundler[6]) ist die unvollständige Ausfällung des Harnstoffes nur

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **48.** 160. 577
[2]) Archiv Physiol. 1886. **38.** 575. 1889. **44.** 78.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1893. **17.** 10.
[4]) Archiv Physiol. 1895. **62.** 1. 51.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 505.
[6]) Ebenda. 1900. **30.** 75.

in der Qualität der zur Verwendung kommenden Phosphorwolframsäurepräparate zu suchen, von denen einzelne geringe Mengen Harnstoff mit ausschieden, Ammoniak aber wieder nur unvollständig fällten. Merck'sches Präparat fällt Ammoniak quantitativ, so daß nach Gumlich die besondere Ammoniakbestimmung unnötig wird. Hierin sind nach meiner Ansicht wohl die sich widersprechenden Urteile über die Anwendung der Phosphorwolframsäure zu suchen. Im Filtrate ist außer Harnstoff allerdings der Stickstoff des Allantoins, der Oxalursäure und ein Teil der Oxyproteinsäure (wohl auch der Alloxyproteinsäure und der Antoxyproteinsäure), vielleicht auch ein Teil des Kreatininstickstoffes vorhanden. Es wird aber wohl überhaupt unmöglich sein, den Harnstoffstickstoff so ganz für sich allein zu gewinnen.

Zuckerhaltiger Harn soll sich nach G. Satta[1]) für diese Methode nicht eignen; die Methode ist aber auch bei solchem Harne verwendbar, man muß nur dafür sorgen, daß der Harn auf etwa 1% Zuckergehalt gebracht und daß genügend Kalkhydrat zugesetzt ist (B. Schöndorff).[2])

Ausführung der Bestimmung.

Erforderliche Lösungen.

Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäurelösung.

100 ccm Salzsäure von 1,124 spezif. Gew. + 900 ccm Phosphorwolframsäurelösung 1 : 10 (Phosphorwolframsäure Merck).

Die Phosphorwolframsalzsäure darf bei längerem Stehen in einer 2—4%igen Harnstofflösung keine Fällung veranlassen; vorhandenes Ammoniak muß vollständig ausgefällt werden.

Man titriert, um die zum Ausfällen der Harnsäure usw. nötige Menge des Fällungsmittels kennen zu lernen, 10 ccm Harn mit der in einer Bürette befindlichen Phosphorwolframsäuremischung so lange, bis in 1 ccm der **klar** filtrierten Lösung auf Zusatz von 3 Tropfen der Phosphorwolframsäure keine Trübung mehr eintritt.

Man vermischt dann in einem graduierten Meßzylinder 50—100 ccm Harn (Harn über 1,017 spezifisches Gewicht wird mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt) mit dem bei der Vorprobe ermittelten Volumen der Phosphorwolframsäure, füllt mit Salzsäure (1 : 10) auf 150 oder 300 ccm auf, läßt 24 Stunden stehen, filtriert — am besten durch ein doppeltes Filter — ab, vermischt das vollkommen klare 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 entsprechende Menge zur Ammoniakbestimmung nach Schlösing (S. 66). 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 $4^1/_2$—5 Stunden, nach Ch. Sallerin 7 Stunden, im Trockenschranke auf 140—150° erhitzt; der Harnstoff wird hiedurch in Kohlensäure und Ammoniak gespalten; letzteres wird an Phosphorsäure gebunden. Nach dem Erkalten verdünnt man mit Wasser, gibt zum Freimachen des an die Phosphorsäure gebundenen Ammoniaks 20%ige Natronlauge im Überschusse hinzu und destilliert in der bei der Bestimmung nach der Kjeldahlschen Methode angegebenen Weise (S. 171). Das Destillat wird in $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure aufgefangen und wie bei der Kjeldahlschen Bestimmung titriert. Man muß so lange destillieren, bis das Destillat neutral reagiert; man kann auch zum Destillationsrückstande Wasser hinzugeben und nochmals destillieren. Von

[1]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1905. **6.** 358.
[2]) Archiv Physiol. 1907. **117.** 275.

der gefundenen und berechneten Stickstoffmenge ist die nach Schlösing gefundene in Abzug zu bringen; der Rest wird auf Harnstoff berechnet.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Säure = 0,001401 g N.
= 0,00300 g Harnstoff.

Mit Beziehung auf das oben Erwähnte kann die Ammoniakbestimmung in Wegfall kommen, wenn man eine Phosphorwolframsäure wählt, die alles Ammoniak fällt (Gumlich).

P. A. Levene und G. M. Meyer[1]) pipettieren 12,5 ccm Harn in einen graduierten Zylinder und geben eine 10%ige Phosphorwolframsäurelösung in 10%iger Schwefelsäure in geringem Überschusse hinzu. Nach 24stündigem Stehen füllt man mit 10%iger Schwefelsäure auf 50 ccm auf, filtriert und erhitzt 20 ccm im Autoklaven nach Benedikt und Gephart. Der Inhalt der Röhre wird in einen Destillierkolben gespült, der vorhandene körnige Niederschlag in Alkali gelöst, die Lösung alkalisch gemacht und destilliert. Nach Ch. G. L. Wolf und E. Oesterberg erhält man nach Benedikts und Gepharts Methode aber unrichtigere, höhere Werte; auch F. W. Gill, F. G. Allison und H. S. Grindley[2]) fanden unrichtige Werte; sie geben ein Verfahren an, das eine Kombination der Methoden von Benedikt, Gephart und Folin darstellt.

V. Henriques und S. A. Gammeltoft[3]) haben bei der Prüfung der verschiedenen Verfahren der Harnstoffbestimmung mit der Methode von Levene und Meyer die besten Resultate erhalten. Sie bestimmen zuerst in 5 ccm Harn die Menge einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure in $^1/_2$ n-Schwefelsäure, die nötig ist, um eben eine vollständige Fällung hervorzurufen (s. oben). Man mißt dann 10 ccm Harn ab, setzt die nötige Menge Phosphorwolframsäurelösung zu, füllt mit der $^1/_2$ n-Schwefelsäure auf 100 ccm auf, schüttelt und filtriert nach erfolgtem Absetzen des Niederschlages. Vom Filtrate bringt man 2mal je 10 ccm in einem Probierglas (Jenaer Glas) mit Zinnfolie bedeckt in einen Autoklaven, erhitzt $1^1/_2$ Stunden auf 150° und bestimmt das gebildete Ammoniak durch Titration in bekannter Weise, nachdem man es entweder nach Zusatz von Soda durch Durchleiten von Luft oder nach Zusatz von methylalkoholischer Bariumhydratlösung durch Destillation im Vakuum übergetrieben hat.

Das Verfahren von Henriques-Gammeltoft bezeichnen J. Bang (a. a. O.), **H. T. P. Rasmussen[4]) als zuverlässig.**

2. Die Methode nach K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.[5])

Allgemeines und Prinzip.

Die Genannten haben an Stelle der Phosphorwolframsäure eine gesättigte Chlorbariumlösung mit 5% Barythydrat angewendet und bringen mit Ätheralkohol den Harnstoff in Lösung; in dem Rückstande der Ätheralkohollösung wird nach dem Entfernen des präformierten Ammoniaks die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen. Nach Camerer und Söldner[6]), Salaskin und Zaleski[7]) begreift der hiebei gewonnene Stickstoff außer dem des Kreatinins und Allantoins auch den der Hippursäure in sich. Die Fehlerquelle wird dadurch umgangen, daß der nach dem Abdampfen des Ätheralkohols erhaltene Rückstand nach dem Entfernen von Ammoniak nicht direkt zur Kjeldahlschen Bestimmung verwendet, sondern daß der Harnstoff hydrolysiert wird, wobei eine Zersetzung der Hippursäure und des Kreatinins vermieden werden kann. Die Letztgenannten erhitzen zu dieser Zerlegung den Harnstoff im zugeschmolzenen Rohre, Braunstein[8]) verwendet Phosphorsäure, Mörner das von Folin[9]) empfohlene Magnesiumchlorid und Salzsäure.

A. Ausführung der Bestimmung nach Braunstein.

In einem Kolben werden 5 ccm — in einer genauen Bürette genau abgemessen — eiweißfreier Harn mit 5 ccm einer gesättigten Chlorbariumlösung, die 5% Barythydrat aufgelöst enthält, zusammengebracht; ferner werden 100 ccm einer Mischung, aus 2 Teilen 96%igem Weingeist und 1 Teil Äther bestehend, hinzugegeben, das Gefäß wird verschlossen und 12 Stunden

---

[1]) Journ. Amer. Chem. Soc. 1909. **31.** 717; Chem. Ztg. Rep. 1909. **33.** 402.
[2]) Ebenda. 1909. **31.** 1078; Chem. Centralbl. 1909. **80.** II. 2044.
[3]) Skand. Archiv Physiol. 1911. **25.** 153; Chem. Centralbl. 1911. **82.** I. 1450.
[4]) Skand. Archiv Physiol. 1913. **30.** 191.
[5]) Ebenda. 1891. **2.** 438.
[6]) Zeitschr. Biolog. 1899. **38.** 227.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1897. **28.** 73.
[8]) Ebenda. 1900. **31.** 381.
[9]) Ebenda. 1901. **32.** 504; 1902. **36.** 333; 1903. **37.** 548.

stehen gelassen; der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit 50 ccm Alkoholäther nötigenfalls mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe ausgewaschen. Aus dem klaren Filtrate wird bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur auf dem Wasserbade der Äther-Alkohol abdestilliert; die zurückbleibende Flüssigkeit bringt man verlustlos unter Nachspülen mit etwas Wasser in eine Schale und engt sie bei einer nicht über 60° betragenden Temperatur auf dem Wasserbade auf etwa 20—25 ccm ein; man gibt dann 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 Flüssigkeit spült man mit Wasser in einen Rundkolben und wäscht die Schale wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nach; zu dem Kolbeninhalte, den man auf 10—15 ccm eingeengt hat, bringt man 10 g krystallisierte Phosphorsäure, erhitzt $5^1/_2$ Stunden im Trockenkasten (Thermostaten) auf 140—145° (bei dieser Temperatur wird das Glykokoll der Hippursäure nicht zerlegt), löst den Rückstand nach dem Erkalten in Wasser und destilliert nach Zusatz von 60—70 ccm etwa 28%iger Kali- oder Natronlauge das aus dem Harnstoff gebildete Ammoniak in bekannter Weise ab:

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10} \text{ n-Säure} = 0{,}001401 \text{ g N.}$$
$$= 0{,}003 \text{ g Harnstoff.}$$

B. Ausführung der Bestimmung nach K. H. Mörner.[1])

Um die etwa vorhandenen und sich störend geltend machenden Kohlenhydrate zu entfernen, werden 5 ccm Harn, genauestens gemessen, mit 1,5 bis 2,0 g gepulvertem Baryumhydroxyd und nach wiederholtem Umschütteln, um das Baryumhydroxyd möglichst zu lösen, mit 100 ccm der Alkohol-Äthermischung (2 Vol. Alkohol von 96—97% und 1 Vol. Äther) versetzt. Nach etwa 24stündigem Stehen filtriert man, wäscht den Niederschlag aus und dampft das Filtrat, aus dem man durch Abdestillieren auf dem Wasserbade, wie oben, den Alkohol-Äther wieder gewonnen hat, nach Zusatz von Magnesiumoxyd bei etwa 50° ein; hiebei wird aller etwa vorhandene Zucker entfernt. Man nimmt den Rückstand mit Wasser und etwas Salzsäure auf, bringt die Lösung in einen 200 ccm fassenden Kolben, spült nach, setzt 2 ccm Salzsäure (1,124 spez. Gew.) hinzu und trocknet auf dem Wasserbade ein. Zum Rückstande gibt man 20 g krystallisiertes ammoniakfreies Magnesiumchlorid und 2 ccm konz. Salzsäure (D. = 1,124) und kocht den Inhalt des Kolbens unter Zugabe von Siedesteinchen oder dergl. auf einem Drahtnetze unter Benützung eines zweckentsprechenden Rückflußkühlers mindestens 2 Stunden lang. Der Kolbeninhalt wird mit Wasser verdünnt, in einen Destillierkolben nach Kjeldahl gespült, der erstere Kolben noch mit Wasser nachgewaschen, so daß etwa $^3/_4$ Liter Flüssigkeit erhalten werden und aus dieser Flüssigkeit nach Zusatz von 22 ccm 10%iger Lauge das Ammoniak in der angegebenen Weise abdestilliert und in 60—80 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefel-

[1]) Skand. Archiv Physiol. 1903. **14.** 300.

säure aufgefangen. Die Destillation beansprucht etwa 1 Stunde, bis alles Ammoniak übergegangen ist. Das Destillat wird zur Entfernung der Kohlensäure aufgekocht und nach dem Erkalten die im Überschusse zugesetzte $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure zurücktitriert. Als Indicator wird Lackmoid-Malachitgrün (10 g Lackmoid in 150 ccm Alkohol und 10—15 ccm 2%iger alkoholischer Malachitgrünlösung) empfohlen. Man kann auch Lackmus oder Luteol verwenden.

C. Ausführung der Bestimmung nach S. Salaskin und J. Zaleski[1]).

Es wird anfangs ebenso verfahren, wie bei der Ausführung der Bestimmung nach A, nur werden 75 ccm Alkohol-Äthermischung verwendet. Die Flüssigkeit wird mit Hilfe der Wasserluftpumpe direkt in ein besonderes Destillationsgefäß (Fig. 36) filtriert und der Niederschlag mit der gleichen Mischung von Alkohol und Äther ausgewaschen. Der Alkohol-Äther wird aus dem Apparate mit einem durch Schwefelsäure getrockneten, auf 80° erwärmten Luftstrom im Vakuum entfernt; der Apparat wird im Wasserbade von 40° erwärmt; zur Entfernung der Flüssigkeit bis auf etwa 10 ccm sind 6—8 Stunden nötig. Man gibt dann 0,2—0,3 g Magnesiumoxyd hinzu und entfernt in gleicher Weise das Ammoniak, was 4—6 Stunden in Anspruch nimmt. Man bringt an den Wänden entlang 4 ccm Salzsäure (1,124 spez. Gew.) in den Apparat und füllt dann mit Wasser bis zu einem bestimmten Volumen im Apparate (bis zum obersten Strich sind es 26 ccm) auf. Nach dem Umschütteln und Filtrieren werden abgemessene Mengen des Filtrates (10—20 ccm) in Röhren eingeschmolzen und diese im Schießofen 3 Stunden lang auf 130—140° erhitzt. Nach dem Abkühlen spült man den Inhalt der Röhren in Destillationskolben und destilliert das gebildete Ammoniak nach Zusatz von Magnesiumoxyd in vorgelegte Säure ab usw.

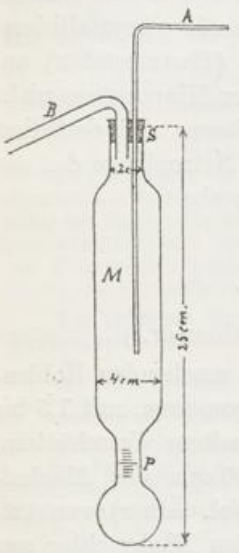


Fig. 36.

Beurteilung.

Die Methode nach Mörner und Sjöqvist in den angegebenen Ausführungen genügt allen Anforderungen auf Genauigkeit. Von W. Wiechowski[2]) wird diese Bestimmung des Harnstoffes, besonders in der Ausführung nach Mörner als die exakteste bezeichnet. C. Arnold und C. Mentzel, A. Chrustaler u. a. haben vorzügliche Ergebnisse erzielt. Ich finde die Ausführung nach A (Braunstein) einfacher und bequemer; bei Verwendung von Magnesiumchlorid zur Hydrolisierung des Harnstoffes muß dieses vorher auf einen etwaigen Gehalt an Ammoniak geprüft sein, da es ammoniakfrei schwer zu erhalten ist. Die Ausführung nach Salaskin und Zaleski ist wegen der im eingeschmolzenen Rohre vorzunehmenden Hydrolisierung des Harnstoffes umständlicher.

Bemerkt mag sein, daß H. D. Haskins die Verfahren 1 und 2 kombiniert hat.

D. Ausführung nach K. Spiro.[3])

Prinzip.

Hier wird die Bestimmung des Ammoniaks sehr zweckmäßig mit der des Harnstoffes verbunden.

25 ccm Harn werden in einen Äräometerzylinder mit $1^1/_2$ g Ätzbaryt und mit einer niedrigen Schicht Petroleum (auch Toluol oder Alkohol) versetzt; das vorhandene präformierte Ammoniak wird durch einen Luftstrom in die vorgelegte Säure geleitet (Seite 67). Der von Ammoniak befreite Harn wird mit der Alkoholäthermischung auf 400 ccm verdünnt; nach dem Umschütteln wird filtriert, ein Teil des Filtrates (etwa 80 ccm) wird bei niederer Temperatur eingedunstet und der Rückstand nach einem der angegebenen Verfahren zur Zerlegung des Harnstoffes weiter behandelt.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 73.
[2]) Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes; 11. Aufl. Wiesbaden 1910.
[3]) Beiträge chem. Physiol. u. Patholog. 1907. **9.** 481; Chem. Centralbl. 1907. **78.** II. 947.

3. Das Verfahren nach O. Folin.[1])

Prinzip.

Zur Zerlegung des Harnstoffes wird Salzsäure und krystallisiertes Magnesiumchlorid ($MgCl_2 + 6H_2O$) verwendet, das bei 112—115° schmilzt und bei 150—160° siedet; bei dieser Temperatur findet die Hydrolyse des Harnstoffes in kurzer Zeit statt, während andererseits Kreatinin und Hippursäure eine wesentliche Zersetzung nicht erfahren. Das entstandene Ammoniak wird in bekannter Weise abdestilliert.

Ausführung der Bestimmung.

3 ccm Harn werden mit 20 g krystallisiertem Magnesiumchlorid und 2 ccm konzentrierter Salzsäure in einem mit einem sog. doppelten Sicherheitsrohr (Rückflußrohr mit 3 Kugeln) versehenen Erlenmeyerkolben zum Kochen erhitzt und etwa $^3/_4$—1 Stunde im Sieden erhalten. Das gebogene Sicherheitsrohr hat 3 Kugeln, deren oberste natürlich mit einer Öffnung versehen ist und dient dazu, daß die Salzsäure nicht entweicht, sondern sich in den Kugeln wieder verdichtet, sammelt und zurückfließt. Wenn die Flüssigkeit stark schäumt, gibt man ein kleines Stückchen Paraffin in den Kolben; zu beachten ist, daß während des ruhigen Siedens Salzsäure im Überschusse vorhanden ist. (Man kann etwas Lackmus oder Alizarinrot in den Kolben bringen.) Nach erfolgtem Aufschließen des Harnstoffes wird die warme Schmelze mit Wasser aufgenommen, die Lösung in einen Destillierkolben gebracht, mit 7 ccm 20%iger Natronlauge versetzt und wie mehrmals angegeben destilliert. Die Destillation ist auch hier erst nach 1 Stunde als beendet anzusehen. Folin läßt etwa 350 ccm abdestillieren, um die letzte Spur Ammoniak auszutreiben. Das Destillat wird zur Entfernung der Kohlensäure aufgekocht, erkalten gelassen und die im Überschusse zugesetzte $^1/_{10}$n-Säure zurücktitriert. Das präformiert im Harne vorhandene Ammoniak wird in einer besonderen Harnmenge bestimmt und dieser Wert vom gefundenen in Abzug gebracht.

Beurteilung.

Die Methode liefert ebenfalls gute Ergebnisse; nicht zu vergessen ist, daß das im Magnesiumchlorid enthaltene Ammoniak, das vorher bestimmt wird, in Abzug zu bringen ist.

4. Die Bestimmung des Harnstoffes mit Urease.

Die von Takeuchi in der Sojabohne entdeckte Urease verwandelt, wie schon S. 177 erwähnt, Harnstoff unter Wasseraufnahme in Ammoniumcarbonat. E. K. Marshall[2]) hat die Eigenschaft der Urease für eine Bestimmung und zwar für eine einfache klinische von Harnstoff im Harne benutzt und empfohlen. Er gab folgende Ausführung an:

5 ccm Harn verdünnt man mit Wasser auf 100—125 ccm, fügt 2 ccm Sojabohnenextrakt hinzu und einige Tropfen Toluol, läßt über Nacht stehen und titriert das gebildete Ammoniumcarbonat mit $^n/_{10}$ Salzsäure, Methylorange als Indikator. Eine zweite Harnprobe (ebenfalls 5 ccm) behandelt man in gleicher Weise, nur daß man dieser Probe keine Enzymlösung zusetzt; das Ergebnis der zweiten Titration zieht man von dem ersten ab.

Mit diesem Verfahren beschäftigen sich eine ganze Reihe von Arbeiten; von diesen zahlreichen vorgeschlagenen Verbesserungen ist auch nach J. Bangs (a. a. O.) Ansicht die von D. van Slyke und Gl. E. Cullen[3]) angegebene Ausführung in vielen Beziehungen die beste für den klinischen Gebrauch. Marshall hat das Verfahren in der erwähnten Ausführung aufgegeben, da bei der von ihm geübten und angegebenen Arbeitsweise der Farbenumschlag nicht in der wünschenswerten Schärfe eintrat.

---

[1]) l. c.
[2]) Journ. of Biol. Chem. 1913 **14.** 28; **15.** 495.
[3]) Journ. of Biol. Chem. 1914. **19.** 211; Deutsch. med. Wochenschr. 1914 **40.** 1219.

Ausführung des Verfahrens.

1 ccm Harn wird genau abgemessen und in einen Zylinder, ähnlich wie ein Aräometerzylinder, von etwa 26—30 cm Höhe und 4—5 cm innerem Durchmesser gebracht; hiezu setzt man 10 ccm einer 6%igen Kaliumphosphatlösung (KH_2PO_4), 2 ccm 10%iger Ureaselösung und zur Verhinderung des Schäumens einige ccm flüssiges Paraffin oder noch besser 2 Tropfen Kaprylalkohol. Diesen Zylinder verschließt man mit einem doppelt durchbohrten Stopfen, in dessen einer Bohrung sich ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr befindet; der längere Schenkel muß in die im Zylinder befindliche Flüssigkeit bis fast auf den Boden des Gefäßes eintauchen; das eintauchende Ende kann kugelförmig aufgeblasen und mit einer Reihe kleiner Löcher versehen sein (wie bei der Ammoniakbestimmung nach Folin, S. 68); in die andere Bohrung bringt man ebenfalls ein rechtwinklig gebogenes Rohr mit kürzeren gleichen Schenkeln, das zur Verbindung mit dem zweiten Zylinder dient. Dieser zweite Zylinder wird mit genau 10—15 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure und 15—20 ccm Wasser gefüllt und mit der gleichen Vorrichtung wie der erste Zylinder verschlossen; zur Vorsicht kann man noch einen dritten Zylinder, nochmals mit etwa 5 ccm $^n/_{10}$ Säure und 25 ccm Wasser gefüllt, anschließen, um die Gewißheit zu haben, daß alles Ammoniak absorbiert wird. Der letzte Zylinder wird mit der Saugpumpe in Verbindung gebracht, vor den ersten Zylinder, den Entwicklungszylinder, bringt man eine Gaswaschflasche mit konz. Schwefelsäure, um die durchzusaugende Luft von vorhandenem Ammoniak zu reinigen. Man verbindet alle Flaschen und Zylinder luftdicht, läßt 15 bis 20 Minuten bei etwa 20° stehen und saugt zuerst vorsichtig eine halbe Minute lang Luft durch, um das Ammoniak, das sich möglicherweise in der Luft über dem Harne befindet, in die Säure überzuführen. Nun bringt man in den Entwicklungszylinder zum Harne 8—10 g Soda und saugt während einer halben Stunde mit der Saugpumpe Luft durch den Apparat, damit alles Ammoniak übergeht. Die in den beiden Zylindern befindliche Säure wird nach Zusatz von Methylrot wie üblich titriert (Umschlag in kanariengelb). Vorgelegte ccm $^n/_{10}$ Säure — der bei der Titration verbrauchten ccm $^n/_{10}$ Lauge = die für Ammoniak verbrauchten ccm.

1 ccm $^n/_{10}$ Säure = 0,0030 g Harnstoff.

Zu bemerken ist, daß nach dem Verfahren Harnstoff und Ammoniak zusammen bestimmt werden; es muß deshalb stets noch in einer weiteren Harnprobe der schon vorher vorhandene Ammoniakgehalt bestimmt und in Abzug gebracht werden.

Aufmerksam machen möchte ich, daß man die Urease oder das Sojabohnenmehl auf die Wirksamkeit prüfen muß.

Zur Bereitung von Soja-Urease in fester Form findet sich bei J. Bang folgende Vorschrift angegeben:

100 g Sojamehl werden mit 500 ccm Wasser verrührt. Nach 2stündigem Stehen und öfterem Umschütteln in dieser Zeit trennt man den Bodensatz durch Zentrifugieren von der Lösung; aus dieser wird die Urease durch Zufügen von mindestens 10 Volumen Aceton ausgefällt und nach dem Absitzen abfiltriert. Man trennt den Niederschlag vom Filter, preßt ihn zwischen Filtrier

papier ab und trocknet im Exsiccator. 100 ccm Filtrat liefern etwa 2 g Ausbeute. Zum Gebrauche stellt man eine 10%ige Lösung her. Die Urease erhält man selbstverständlich auch bei Kahlbaum, Merck u. a.

Mit dem Ureaseverfahren beschäftigten sich folgende Arbeiten:

A. Hahn und J. Saphra, Deutsch. med. Wochenschr. 1914. **40.** 430. Verfahren ganz ähnlich wie das ursprünglich von Marshall angegebene; es werden 1 g Harn, 10 ccm Wasser, ein Stäubchen Urease, 5 Tropfen Toluol verwendet, 20 Stunden stehen gelassen; 1 Probe ohne Urease. — Béla v. Horváth und H. Kadlitz, Ebenda. 1916. **42.** 414. — J. S. White und J. G. Williams, Pharm. Journ. 1916. [4]. **42.** 323, lassen 25 ccm Harn mit 4—5 g Sojabohnenpulver über Nacht stehen mit etwas Xylol usw. — H. Westers, Pharm. Centralh. 1916. **57.** 423, nimmt 5 ccm Harn, 50 ccm Wasser und 25 ccm eines Glycerin-Wasserauszuges des Sojamehles usw. — C. P. Mom, Pharm. Weekbl. 1916. 72; Pharm. Centralh. 1917. **58.** 187. — J. B. Summier und A. Bodansky, Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 57. Nach der Zersetzung des Harnes (1 ccm) wird ein Eiweißfällungsmittel, mit Salzsäure versetzte Quecksilberkaliumjodidlösung zugefügt, zentrifugiert und ein abgemessener Teil der überstehenden Flüssigkeit neßlerisiert. — O. Folin und G. J. Youngburg, Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 111. — A. M. Roman, Journ. of Urol. 1921. **4.** 531. — W. Strohmann und S. Flintzer, Zentralbl. inn. Mediz. 1921. **42.** 545. — G. Luigi Malerba, Rif. med. 1921. **37.** 362; Chem. Centralbl. 1921. **92.** IV. 848. — E. L. Kennawey, Brit. Journ. of exp. Pathолog. 1920. **1.** 135. — J. Carra, Bioch. e Therap. sperim. 1921. **8.** 225.

Beurteilung.

Das Ureaseverfahren ist brauchbar und empfiehlt sich besonders für klinische Untersuchungen.

5a. Bestimmung nach E. Freund und G. Töpfer.[1])

Prinzip.

Der Harnstoff wird als oxalsaurer Harnstoff isoliert und als solcher für die Bestimmung herangezogen.

Ausführung.

5 ccm Harn von normaler Konzentration werden unter Zusatz von 5 ccm 95%igem Alkohol auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet; der Rückstand wird mehrmals mit wasserfreiem Alkohol unter Zerreiben des Rückstandes ausgezogen, die Lösungen werden in ein Kjeldahlsches Kölbchen filtriert. Der Alkohol wird auf dem Wasserbade vorsichtig bis auf Spuren abgedunstet und der Rückstand mit etwa 70 ccm gesättigter ätherischer Oxalsäurelösung vermischt, worauf man den entstehenden Niederschlag absetzen läßt. Die ätherische Lösung wird vorsichtig durch ein Filter abgegossen, die Krystalle werden im Kölbchen mit 60—80 ccm Äther in mehreren Anteilen nachgewaschen und die Waschflüssigkeiten auf dasselbe Filter gegeben. Nach dem Abdunsten des Äthers wird das Filter auf das Kjeldahlsche Kölbchen gesetzt, der im Filter befindliche oxalsaure Harnstoff mit Wasser gelöst, das Filter nachgewaschen und die Lösung nach Zusatz von Phenolphthalein als Indicator bis zur schwachen Rotfärbung titriert.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10}\text{n-KOH} = 0{,}006 \text{ g Harnstoff.}$$

Zur Bestätigung dieses Ergebnisses wird der Kolbeninhalt nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure eingedampft und der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterzogen.

Beurteilung.

Während A. Jolles[2]) gute Resultate damit erhalten hat, findet H. Pollack[3]) die Methode nicht genau, da beim Eindampfen durch die sauren Phosphate etwas Harnstoff zersetzt wird und der oxalsaure Harnstoff in Ätheralkohol nicht ganz unlöslich ist; auch soll sich die Oxalsäure aus dem Niederschlage nicht ganz auswaschen lassen.

5b. Bestimmung als Dixanthylharnstoff nach R. Fosse.[4])

10 ccm des auf das zehnfache verdünnten Harnes, 35 ccm Eisessig werden mit 5 ccm einer 10%igen methylalkoholischen Lösung von Xanthydrol, Diphenopyrenol, und zwar in 5 gleichen Teilen, stets je 1 ccm, in Zwischenräumen von 10 Minuten versetzt. Nach Ablauf einer Stunde vom letzten Xanthydrolzusatz saugt man die Krystalle von Xanthylharnstoff über einer Siebscheibe auf einem gehärteten Filter ab, wäscht mit einigen ccm Äthylalkohol, trocknet Filter samt Niederschlag im Trockenschranke bei 100—105°, hebt die sich leicht ablösenden Krystalle vom Filter ab

[1]) Wien. klin. Rundschau. 1899. **13.** 371.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 137.
[3]) Archiv Physiol. 1901. **83.** 232; Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 140.
[4]) Compt. rend. 1914. **158.** 1076. 1588; **159.** 253; Journ. d. Pharm. Chem. 1917. 256.

und wägt. (Es wird ein silberner Trichter und eine konkav geformte Siebscheibe aus Silber zum Sammeln verwendet, was unnötig erscheint). Die erhaltenen Krystalle sind Dixanthylharnstoff:

$$O < (C_6H_4)_2 > CH \cdot NH \cdot CO$$
$$NH \cdot CH < (C_6H_4)_2 > O.$$

Bei der Bestimmung kleiner Harnstoffmengen für Verdünnungen über 1‰ (0,1 — 1 g Stickstoff im Liter) soll man eine der folgenden Arbeitsweisen wählen.

1. Die genau abgemessene Menge der Harnstofflösung verdünnt man mit dem doppelten Volumen Eisessig und setzt dreimal in Zwischenräumen von je 10 Minuten je $^1/_{20}$ Vol. einer 10%igen methylalkoholischen Xanthydrollösung zu; nach einer Stunde nach dem letzten Zusatz wird abfiltriert.

2. Man versetzt das Gemisch aus 1 Vol. Harnstofflösung und 2 Vol. Eisessig mit $^1/_{20}$ Vol. des Gesamtvolumens an 10%iger methylalkoholischer Xanthydrollösung und filtriert nach 1 Stunde ab.

Beurteilung.

Nach J. Carra[1]) gäbe dieses Verfahren sehr genaue Werte; es ist nur etwas sehr umständlich. Genau und bequem wird das Ureaseverfahren bezeichnet, das Hypobromitverfahren genügt nicht für wissenschaftliche Zwecke.

6. Verfahren, die auf der Bestimmung des Stickstoffes beruhen.

Die Eigenschaft des Harnstoffes, mit einer alkalischen Lösung von unterbromigsaurem Salz bei gewöhnlicher Temperatur in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser zu zerfallen, wurde für die Bestimmung des Harnstoffstickstoffes verwendet, indem die Kohlensäure von dem im Überschusse vorhandenen Ätzkali gebunden, der freigewordene Stickstoff in geeigneten Apparaten (Azotometer, Ureometer) gemessen und daraus der Stickstoff berechnet wurde. Eine große Anzahl solcher Ureometer, die sämtlich auf diesem Prinzipe beruhen, ermöglicht das direkte Ablesen der Harnstoffmenge für 1 ccm verwendeten Harn oder dergl.

Der Erfolg hat aber gelehrt, daß das Verfahren nicht einwandfrei ist und für wissenschaftliche Zwecke nicht genügt, da es mit verschiedenen Fehlerquellen behaftet ist; so wird einerseits bei der Zersetzung des Harnstoffes nicht aller Stickstoff frei — statt 371,37 ccm (0° und 760 mm Hg) N nur 354, 33 ccm (Hüfner) —, andererseits geben wieder andere Harnbestandteile Stickstoff ab, auch entstehen Zwischenprodukte, wie Hydrazin (Schestakon). Das Verfahren ist verlassen worden. Für klinische Zwecke, zur Orientierung, für tägliche vergleichende Bestimmungen mag das Verfahren in einem der zahlreichen empfohlenen Apparate (Ureometer) in Anwendung kommen. Den Apparaten liegt meist eine Anweisung zur Ausführung der Bestimmung bei.

Die Verfahren von Knop-Hüfner[2]), von A. Jolles[3]), von A. Kowarsky[4]) u. a. beruhen auf der Stickstoffermittlung.

E. Kraft empfiehlt für die klinischen Zwecke die Verwendung des Ureometers von Gade.[5]) Einen brauchbaren Stickstoffbestimmungsapparat, den man sich selbst herstellen kann, beschreibt F. Mezger[6]).

Jedenfalls ist es angebracht, den Harn erst nach der Vorbehandlung mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure, wie es Jolles u. Kowarsky, auch Marie Krogh[7]) empfehlen, zu verwenden.

Die von E. Riegler empfohlene Methode der Harnstoffbestimmung, die darauf beruht, daß der Harnstoff durch Millons Reagens in gleiche Volumina Kohlensäureanhydrid und Stickstoff zerlegt und daraus der Harnstoff berechnet wird, gehört nicht zu den genauen Methoden, da die Salpetersäure im Millonschen Reagens sowohl auf die Harnsäure, als auch auf eine Reihe von Purinbasen unter Bildung von Alloxan und Harnstoff einwirkt (A. Jolles).

F. Haesler ermittelt die bei der Reaktion mit Bromlauge entstehende Kohlensäure und berechnet daraus die Harnstoffmenge.

---

[1]) Bioch. e Terap. sperim. 1921. **8.** 225; Chem. Centralbl. 1922. 93. II. 468.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1877. **1.** 350.

[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 143; siehe auch Chem. Ztg. 1913. **37.** 1200. Dem Apparate von Jolles-Goeckel, von Dr. H. Goeckel, Berlin NW. 6, Luisenstraße 21 zu beziehen, liegt Gebrauchsanweisung bei. Tabelle ist Seite 189 aufgenommen.

[4]) M. Klopstock und A. Kowarsky, Praktik. der klin., chem., mikr. u. bakt. Untersuchungsmethoden. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1920. Das benützte Ureometer ist von Ernst Leitz in Berlin zu beziehen.

[5]) Von P. Altmann, Berlin NW. hergestellt.

[6]) Pharm. Centralh. 1921. **62.** 719.

[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **84.** 379.

Tabelle zur Harnstoffbestimmung nach dem Verfahren von Jolles mit dem Azotometer von Jolles-Goeckel.

1 ccm Stickstoff entspricht Grammen Harnstoff im Liter. — Temperatur in ° C.

Barometerstand	10°	12°	14°	15°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	23°	25°
700	0,943	0,934	0,926	0,922	0,917	0,913	0,909	0,904	0,900	0,895	0,886	0,877
2	0,945	0,937	0,929	0,925	0,920	0,916	0,911	0,907	0,903	0,898	0,889	0,879
4	0,948	0,940	0,932	0,927	0,923	0,919	0,914	0,909	0,905	0,901	0,891	0,882
6	0,951	0,943	0,934	0,930	0,926	0,921	0,917	0,912	0,908	0,903	0,894	0,885
8	0,954	0,945	0,937	0,932	0,928	0,924	0,920	0,915	0,910	0,906	0,897	0,887
710	0,957	0,948	0,939	0,935	0,931	0,927	0,922	0,917	0,913	0,909	0,899	0,890
12	0,959	0,951	0,942	0,938	0,933	0,929	0,925	0,920	0,916	0,911	0,902	0,892
14	0,962	0,953	0,945	0,941	0,936	0,932	0,927	0,923	0,919	0,914	0,904	0,895
16	0,964	0,956	0,948	0,944	0,938	0,934	0,930	0,926	0,921	0,916	0,907	0,897
18	0,967	0,959	0,951	0,946	0,941	0,937	0,933	0,928	0,924	0,919	0,910	0,900
720	0,970	0,962	0,953	0,949	0,944	0,940	0,935	0,931	0,927	0,921	0,912	0,903
22	0,973	0,964	0,956	0,951	0,947	0,943	0,938	0,933	0,929	0,924	0,915	0,905
24	0,975	0,967	0,958	0,954	0,950	0,945	0,940	0,936	0,932	0,927	0,917	0,908
26	0,978	0,970	0,961	0,957	0,952	0,948	0,943	0,938	0,934	0,930	0,920	0,910
28	0,981	0,973	0,964	0,959	0,955	0,951	0,946	0,941	0,937	0,933	0,922	0,913
730	0,984	0,975	0,967	0,962	0,957	0,954	0,949	0,944	0,939	0,935	0,925	0,915
32	0,987	0,978	0,969	0,965	0,960	0,956	0,951	0,947	0,942	0,938	0,928	0,918
34	0,989	0,981	0,972	0,968	0,963	0,959	0,954	0,950	0,945	0,940	0,931	0,921
36	0,992	0,983	0,975	0,970	0,966	0,961	0,957	0,952	0,947	0,943	0,933	0,923
38	0,995	0,986	0,977	0,973	0,969	0,964	0,959	0,955	0,950	0,945	0,936	0,926
740	0,998	0,989	0,980	0,975	0,971	0,967	0,962	0,957	0,952	0,948	0,938	0,928
42	1,000	0,992	0,982	0,978	0,974	0,969	0,964	0,960	0,955	0,951	0,941	0,931
44	1,003	0,994	0,985	0,981	0,976	0,972	0,967	0,962	0,958	0,953	0,944	0,934
46	1,005	0,997	0,988	0,983	0,979	0,975	0,970	0,965	0,961	0,956	0,946	0,937
48	1,008	0,999	0,991	0,986	0,981	0,977	0,973	0,968	0,963	0,958	0,949	0,939
750	1,011	1,002	0,993	0,989	0,984	0,980	0,975	0,970	0,966	0,961	0,951	0,942
52	1,014	1,005	0,996	0,992	0,987	0,982	0,978	0,973	0,968	0,963	0,954	0,945
54	1,017	1,008	0,999	0,994	0,990	0,985	0,981	0,975	0,971	0,966	0,957	0,947
56	1,019	1,011	1,001	0,997	0,992	0,988	0,983	0,978	0,974	0,969	0,959	0,950
58	1,022	1,013	1,004	0,999	0,995	0,991	0,986	0,981	0,976	0,971	0,962	0,952
760	1,025	1,016	1,007	1,002	0,998	0,993	0,988	0,984	0,979	0,974	0,964	0,955
62	1,028	1,018	1,010	1,005	1,000	0,996	0,991	0,987	0,981	0,976	0,967	0,957
64	1,030	1,021	1,012	1,008	1,003	0,999	0,993	0,989	0,984	0,979	0,969	0,960
66	1,033	1,024	1,015	1,011	1,006	1,001	0,996	0,992	0,987	0,981	0,972	0,963
68	1,036	1,027	1,017	1,013	1,008	1,004	0,999	0,994	0,989	0,984	0,974	0,965
770	1,039	1,029	1,020	1,016	1,011	1,006	1,002	0,997	0,992	0,987	0,977	0,968

Wahl der Methode.

Handelt es sich um eine genaue Bestimmung des Gesamtstickstoffes, dann ist die Kjeldahlsche Methode in Anwendung zu ziehen. Für klinische Zwecke kann die Formoltitrierung benützt werden. Bei der Bestimmung des Harnstoffes als solchen geben uns die Methoden 1, 2 (diese in den 4 verschiedenen Ausführungen), 3 und die unter 4 aufgeführten Verfahren der Bestimmung unter Verwendung von Urease brauchbare Ergebnisse. Die Methoden 1—3 sind, wie schon gesagt, als sehr genau zu bezeichnen; die Bestimmungen unter 4 sind leicht und rasch ausführbar. Die Stickstoff-(Harnstoff-)Bestimmung mit den Ureometer, Azotometer benannten, in den verschiedenartigsten Formen hergestellten Apparaten kann für klinische Zwecke, zur Orientierung, für täglich vorzunehmende Vergleichsbestimmungen benützt werden; man arbeitet sich am besten mit einem Apparate ein, dessen größere oder geringere Genauigkeit man mit einer 1%igen Harnstofflösung feststellt.

Verfahren zu einem annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harne.

Die genaue Verteilung des Stickstoffes auf die einzelnen stickstoffhaltigen Bestandteile kann nur durch eine gesonderte und einwandfreie Bestimmung

dieser ermittelt werden. Für viele orientierende Versuche genügt eine annähernde Übersicht, die nach den beiden im nachfolgenden aufgeführten Verfahren gewonnen werden kann; diese Übersicht kann in häufigen oder gewissen Fällen wertvolle Aufschlüsse bei verschiedenen Krankheiten geben und uns über die Produkte der Eiweißzersetzung im Organismus unterrichten.

1. Von M. Pfaundler[1]) angegebenes Verfahren.

Das Prinzip und die Ausführung der Methode.

Der innerhalb 24 Stunden entleerte Harn wird über Chloroform aufgefangen, alsbald nach der Entleerung mit stickstoffreier Salzsäure angesäuert und durch Verdünnung mit ungefähr einem halben Teile Wasser auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Vorhandene Niederschläge werden vor Entnahme der Proben gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt. Damit werden nun folgende Bestimmungen vorgenommen:

1. Ermittelung des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahl in bekannter Weise.
2. und 3. Bestimmung des Ammoniak- und leicht abspaltbaren Stickstoffes (n_1 und f_1 Niederschlag und Flüssigkeit). 20 ccm des, wie angegeben, vorbereiteten Harnes werden mit etwa 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung (100 g Phosphorwolframsäure Merck + 100 ccm Salzsäure spez. Gew. 1,124 (= etwa 24,5%) + 800 ccm destilliertes Wasser) gefällt. Nach 24stündigem Stehen der Proben in ammoniakfreier Atmosphäre wird durch ein aschearmes, stickstofffreies Filter in einen Erlenmeyerkolben klar filtriert, der Niederschlag mit Hilfe des Filtrates quantitativ übergespült und zwei- bis dreimal mit der zur Fällung verwendeten Lösung gewaschen. Hiebei darf sich das Filtrat nicht mehr trüben. Filter mit Niederschlag wird hierauf gleichfalls in einen Erlenmeyerkolben gebracht und gleich dem Filtrate mit etwa 10 g krystallisierter Phosphorsäure (oder dem gleichen Gewichte der leichter erhältlichen Metaphosphorsäure) versetzt. Beide Kolben kommen für 18—20 Stunden in einen auf 150° eingestellten Trockenkasten. (Ich habe, wie S. 181 ausgeführt, verfahren und fand ein 6—7stünd. Erhitzen genügend; M. Krüger und J. Schmid erhitzten zur Zersetzung des Harnstoffes [Hydrolisierung] 3—4 Stunden mit dem halben Volumen konz. H_2SO_4 auf 160—180°, diese Temperatur halte ich für etwas zu hoch.)

   Nach spontaner Abkühlung der beiden Proben werden sie mit heißem Wasser in einen Rundkolben aus Hartglas von etwa 1 Liter Inhalt (Schottenkolben) gespült, mit stickstofffreier Natronlauge zunächst vorsichtig annähernd neutralisiert und mit einem großen Überschusse von geglühter Magnesia bis zur deutlichen alkalischen Reaktion versetzt; das Ammoniak wird in eine mit entsprechender Menge $^1/_{10}$n-Säure (50—75 ccm) beschickte Vorlage wie beim Kjeldahlschen Verfahren abdestilliert. Die Zersetzung mit Phosphorsäure kann auch im Destillationskolben direkt erfolgen, wenn der Trockenkasten geräumig genug ist. Zur Verhinderung des Stoßens bei der Destillation setzt man etwas geglühten gepulverten Bimsstein zu. Nach beendeter erster Destillation und erfolgter Abkühlung des Kolbens wird dieser nochmals mit Wasser aufgefüllt und der Inhalt in eine zweite kleine Vorlage mit Säure abdestilliert, wobei in der Regel noch einige Kubikzentimeter $^1/_{10}$n-Säure neutralisiert werden.
4. und 5. Bestimmung des durch Säure nicht abspaltbaren Stickstoffes im Niederschlage, wie in der Fällung nach der Phosphorwolframsäurebehandlung (n_2 und f_2).

   Nach beendeter zweiter Destillation werden die beiden Kolbenrückstände zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt.

   Die Anwesenheit von viel Phosphorsäure und Phosphorwolframsäure macht die Kjeldahlsche Bestimmung insofern unangenehm, als sich an den Kolbenwandungen feste Teile ansetzen, die ein Springen der Kolben veranlassen können; man muß größere Mengen Zersetzungssäure nehmen. Man kann diese Bestimmung aber umgehen. Hat man nämlich in einer zweiten Probe des Harnes — die man gleich in der angegebenen Weise mitbehandelt — die Bestimmung des Gesamtstickstoffes des Phosphorwolframsäurefiltrates sowohl, wie des Niederschlages gleich nach Kjeldahl vorgenommen, so läßt sich der durch Säuren nicht abspaltbare Stickstoff aus der Differenz berechnen. Z. B.:

Gesamtstickstoff im Filtrate	138,516 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure und Magnesiabehandlung leicht abspaltbar f_1	130,578 „
Festgebundener Stickstoff f_2 = ...	7,938

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **30.** 75.

Gesamtstickstoff des Filterrückstandes	25,592 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure und Magnesiabehandlung leicht abspaltbar n_1	14,238 „
Festgebundener Stickstoff n_2 = ...	11,354.

Diese vier Bestimmungen also n_1, n_2 und f_1, f_2 müssen sich zum Gesamtstickstoffe des direkt verwendeten Harnes ergänzen. Die Differenz beträgt nach Pfaundler tatsächlich nur 1—2%. Man vergesse nicht, die stattgefundene Verdünnung des Harnes bei der Berechnung in Betracht zu ziehen. Ich habe, allerdings nur in zwei Fällen, mit eigenem normalem Harne Untersuchungen vorgenommen und fand die Angaben Pf. bestätigt.

Der Gesamtstickstoff des eiweiß- und albumosefreien Harnes wird auf diese Weise also in vier Fraktionen bestimmt.

1. Fraktion n_1. Durch Phosphorsäure abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen (Niederschlag). Also der gesamte Stickstoff des Ammoniaks, der Carbaminsäure, des Rhodans und ein Teil des Stickstoffes der Harnsäure, der Purinbasen, des Kreatinins, des Harnmucoides, der Eiweißkörper, auch des sog. Nucleoalbumins des normalen Harnes.

2. Fraktion n_2. Durch Phosphorsäure nicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Körper (Niederschlag).

   Stickstoffrest jener bei 1. angeführten Substanzen, die, wie Harnsäure, nur einen Teil des Stickstoffes festgebunden enthalten, ferner der Stickstoff der Diamine, der Diaminosäuren und wohl auch der etwa vorkommenden Ptomaine. $n_1 + n_2$ = gesamter durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff.

3. Fraktion f_1. Leicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper (Flüssigkeit oder Filtrat), d. h. der gesamte Stickstoff des Harnstoffes, des Allantoins, der Oxalursäure, gegebenenfalls ein Teil des Kreatininstickstoffes.

   Hier erscheint auch etwas mehr als die Hälfte des Oxyproteinsäurenstickstoffes, vorausgesetzt, daß sich die Oxyproteinsäure (s. d.) bezüglich der Stickstoffabspaltbarkeit nicht anders verhält, als es die mit dem reinen Salze von Pfaundler angestellten Versuche ergeben haben.

4. Fraktion f_2. Festgebundener Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper (Flüssigkeit oder Filtrat), der Aminosäuren und ihrer Derivate, also des Glykokolls (Hippursäure), der Taurin- und Cystinabkömmlinge, Leucin, Tyrosin und Cystin im pathologischen Harne.

   Hier ist auch der Rest der Oxyproteinsäure zu suchen.

In eiweiß- und albumosehaltigen Harnen müßte die 1. Fraktion durch den Amidostickstoff der Proteinsubstanzen, die 2. (n_2) durch den „Mono- und Diamidostickstoff" (Hausmann) vermehrt werden.

2. Ein ganz ähnliches Verfahren zur Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes geben M. Krüger und J. Schmid[1]) an; es beruht auf den schon von Pfaundler angegebenen Voraussetzungen.

Es werden 30 ccm Harn mit 3 ccm 10%iger Salzsäure und der, wie S. 181 angegeben, berechneten Menge an Phosphorwolframsäurelösung gefällt; nach 2 Minuten wird abfiltriert; mit dem Filtrate werden folgende Bestimmungen ausgeführt, nachdem man in 5 ccm des ursprünglichen Harnes eine Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen hat.

In je 10 ccm des Filtrates oder einer solchen Menge, die 5 ccm Harn entspricht, wird

a) der Gesamtstickstoff (Harnstoffstickstoff + Aminosäurenstickstoff) nach Kjeldahl und

b) der Harnstoffstickstoff allein durch Erhitzen mit dem halben Volumen konz. Schwefelsäure während 3—4 Stunden (die Zeit des Anwärmens nicht eingerechnet) auf 160—180° und Destillation nach dem Übersättigen[2]) mit Natronlauge (für 5 ccm konz. Schwefelsäure genügen 20—22 ccm 33%iger Natronlauge) bestimmt. Differenz zwischen a) und b) gibt den Aminosäurenstickstoff.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **31.** 556.

[2]) Wenn Cystin vorhanden ist, macht man mit Lauge annähernd neutral und gibt frisch ausgeglühte Magnesia im Überschusse hinzu.

Ein drittes Verfahren geben E. Freund und R. Fellerer[1]) an; sie bedienen sich hiebei des Sublimates.

Beurteilung.

Ganz eindeutig ist nach W. Wiechowski[2]) die Aufteilung nicht, da wohl die Trennung durch Phosphorwolframsäure annähernd vollständig ist, viele der stickstoffhaltigen Harnbestandteile jedoch einen Teil ihres Stickstoffes fest, einen anderen dagegen locker gebunden enthalten. Ein größerer Überschuß an Phosphorwolframsäure soll wegen der Löslichkeit des Niederschlages in dieser vermieden werden. Der Harn ist zu verdünnen, so daß der Harnstoffgehalt etwa 2% beträgt, um einer Fällung von Harnstoff und von Aminosäuren in konzentrierter Lösung vorzubeugen. Zuckerhaltigen Harn muß man nach Schöndorff[3]) bis auf etwa 1% Zuckergehalt verdünnen und die Phosphorwolframsäure durch viel Ätzkalk entfernen.

Kolloidaler Stickstoff.

Nach v. Jaksch weiß man, daß durchschnittlich 97% des durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffes und 87,5% des Gesamtstickstoffes aus Harnstickstoff, und 6,8% des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes aus Purinkörpern und Ammoniakstickstoff und 2,56% des Gesamtstickstoffes aus Aminosäurenstickstoff bestehen. Unter dem Reste von stickstoffhaltigen Substanzen befindet sich das stickstoffhaltige Harnkolloid.

Zum Nachweis des kolloidalen Stickstoffes hat zuerst E. Salkowski ein Verfahren angegeben, weiter haben darüber H. Pribram und J. Loewy, Eliacheff, Sasaki, Savarè und Ebbecke, Gross und Reh, K. Kojo, G. Dumitrescu, M. P. Semenow Versuche angestellt. Letzterer, H. Pribram und J. Loewy, P. L. J. de Bloeme, S. P. Swart und A. J. L. Terwen besprechen seine Bedeutung für die klinische Carcinomdiagnostik.

Salkowski[4]) fand, daß im Harne Carcinomkranker der Stickstoff der alkoholunlöslichen oder kolloidalen Substanzen im Verhältnis zur Menge des im normalen Harne vorhandenen kolloidalen Stickstoffes vermehrt ist, daß die Menge des kolloidalen Stickstoffs im normalen Harne etwa 3—4% des Gesamtstickstoffes beträgt, während im Harne an Carcinom Erkrankter diese Menge 7—8% ausmachte. Er gab zur Bestimmung des kolloidalen Stickstoffes folgendes Verfahren an: Von frischem, eiweißfreiem, sauer reagierendem Harn — sonst Zusatz einiger Tropfen Essigsäure — werden 100 ccm auf dem Wasserbade auf etwa 10 ccm eingedampft; hat der Harn ein höheres spezifisches Gewicht als 1,15, so nimmt man nur 50 ccm. Nach dem Erkalten bringt man 100 ccm absoluten Alkohol zu dem eingedampften Harne; der Inhalt der Schale muß aber noch flüssig, nicht krystallinisch erstarrt sein, da sonst der Harnstoff nicht völlig entfernt werden kann; den Alkohol gibt man allmählich unter beständigem Umrühren hinzu. Man läßt eine Stunde stehen, filtriert auf einem kleinen Filterchen ab, wäscht mit absolutem Alkohol — besonders den Filterrand berücksichtigen — bis zur vollständigen Entfernung des Harnstoffes (ohne Unterbrechung des Auswaschens) — Kontrolle, 10 ccm des Waschalkohols dampft man ein, löst in etwas Wasser und setzt frisch bereitete, klare Bromlauge (einige ccm Brom in etwa 20 ccm Natronlauge von 1,340 und Zugabe der mehrfachen Menge Wassers) hinzu; es darf sich keine Entwicklung von Gasbläschen (Stickstoff) bemerkbar machen, sonst ist noch Harnstoff vorhanden und man muß weiter auswaschen — und löst den Filterrückstand in wenig lauwarmem Wasser vollständig unter gründlichem Nachwaschen des Filters. In der Lösung nimmt man die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in bekannter Weise vor. Der gefundene Stickstoff, von Salkowski kolloidaler Stickstoff (KN) benannt, wird auch als Proteinsäurestickstoff angesehen. Das Verfahren muß sehr genau vorgenommen werden, es liefert auch leicht zu hohe Werte.

K. Kojo[5]), Gross und Reh[6]) haben Verfahren angegeben, wobei zuerst die Phosphate durch eine alkalische Chlorbariumlösung (1 Teil 10%iger Bariumchloridlösung und 2 Teile kaltgesättigtes Barytwasser) vollständig ausgefällt werden; das genau neutralisierte Filtrat wird mit Bleiessig behandelt, solange ein Niederschlag entsteht (30—35 ccm); in dem gut ausgewaschenen Niederschlage — das Waschwasser darf mit Mercurinitrat keine Harnstofffällung mehr geben — wird der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Kojo empfahl noch ein sog. Zinkverfahren; hier werden 100 ccm Harn vorsichtig genau mit Kalkmilch schwach alkalisch gemacht und mit Chlorkalziumlösung ausgefällt; der Niederschlag wird abfiltriert, gut ausgewaschen, das Filtrat mit Essigsäure versetzt in einer Menge, daß noch schwach alkalische Reaktion vorherrscht, und dieses mit wässeriger 10%iger Zinksulfat- oder

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36.** 401.

[2]) In Analyse des Harnes in Neubauer-Hupperts Lehrbuch. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910. I.

[3]) Archiv Physiol. 1907. **117.** 375.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. **47.** Nr. 38. Separatabdr.

[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **73.** 416.

[6]) Med. Klinik. 1911. **7.** 778.

Zinkchloridlösung gefällt (etwa 30 ccm sind nötig). Der abfiltrierte und ausgewaschene Niederschlag dient zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Kojo gibt noch ein direktes Verfahren an, bei dem der mit Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzte Harn direkt, ohne vorherige Entfernung der Phosphate, mit Zinkchlorid oder Zinksulfat gefällt und in der ausgewaschenen Fällung der Stickstoff ermittelt wird.

Das Auswaschen nimmt man am besten mit verdünnter Zinksulfat- oder Zinkchloridlösung vor.

Nach Kojo erhielten die durch Zinksalz, durch Bleiessig erhaltenen Niederschläge beim Kranken weit mehr Stickstoff, als beim Gesunden.

Pribram und Loewy[1]) geben auf Grund der von ihnen gemachten Erfahrungen an, daß die Kolloidvermehrung nicht kennzeichnend ist für das Vorhandensein eines malignen Tumors, geändert ist die Ausscheidung bei Sekretionsstörungen der Verdauungsorgane, wohl mit der Störung im Abbau des Nahrungseiweißes zusammenhängend; Erkrankungen der Leber und der Nieren können oft zur Kolloidvermehrung führen; die bei akuten, fieberhaften Erkrankungen beobachtete vermehrte Kolloidausscheidung ist wohl in einem erhöhten toxischen Eiweißzerfall bedingt, leicht erhöhte Werte fanden sich bei Erkrankungen, die auf Störungen der inneren Sekretion (Morb. Basedowii) beruhen; in ziemlich erhöhtem Maße vermehrt findet sich das stickstoffhaltige Harnkolloid vor bei Diabetes insipidus, in enormem Maße vermehrt bei Diabetes mellitus.

P. L. J. de Bloeme und Mitarbeiter fanden bei Carcinomen keine erhöhten Werte.

11. Baumstarks Körper. $C_3H_8N_2O$ oder $\begin{matrix} CH_2 \cdot NH_2 \\ | \\ CH_2 \cdot CO \cdot NH_2 \end{matrix}$.

Als ein Harnstoff, in dem CO durch $CO—C_2H_4$ ersetzt ist, oder als das Diamid der Fleischmilchsäure könnte der von F. Baumstark[2]) isolierte stickstoffhaltige Körper aufgefaßt werden.

Dieser wurde im ikterischen und auch im normalen Harne gefunden.

Darstellung.

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

Den zurückbleibenden Sirup versetzt man mit Ammoniak im Überschusse und mit basisch-essigsaurem Blei, filtriert die Flüssigkeit vom Bleiniederschlage ab, entfernt das Blei im Filtrate 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.

Baumstarks 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 er unlöslich. Mit Säuren bildet er leicht lösliche Salze, auch wird er durch Quecksilbernitrat, wie der Harnstoff, gefällt. Mit salpetriger Säure behandelt, entsteht aus ihm eine Milchsäure.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **69.** 239.

[2]) Berl. Bericht. 1874. **6.** 883. 1378; Annal. Chem. 1874. **173.** 342.

12. Kreatin. $C_4H_9N_3O_2$ oder $C\begin{<}\begin{matrix}NH_2\\CH\\N(CH_3)\,.\,CH_2\,.\,COOH\end{matrix}$.

Kreatin — Methylguanidinoessigsäure — soll sich im Harne der Säugetiere neben Kreatinin finden; nach Ansicht anderer Forscher soll jedoch im normalen Harne kein Kreatin vorhanden sein. So ist nach den Beobachtungen von M. Bürger und H. Machwitz[1]) beim gesunden Menschen sowohl der normale Harn, als der nach künstlicher Alkalizufuhr alkalisch gemachte bei fleischfreier, wie bei fleischreicher Kost frei von Kreatin; abundante Fleischzufuhr kann jedoch Kreatinurie hervorrufen. Dagegen wurde in vielen Krankheiten, bei Lebercarcinomen, bei akuten Fiebern, schwerem Diabetes, auch bei Typhus, in der ersten Zeit des Wochenbettes usw. eine nicht unbeträchtliche Kreatinausscheidung beobachtet. Diese reichlichere Kreatinausscheidung ist nach J. B. Leathes und E. Mellanby wohl auf Einschmelzung von Muskelgewebe oder durch eine verminderte Umwandlung von Kreatin in Kreatinin bedingt.

Im Hungerharne ist Kreatin regelmäßig vorhanden, wahrscheinlich kommen auch bei der Unterernährung geringe Mengen vor.

In ersterem Falle, im Hungerzustande, wurden Mengen von 0,15—0,30 g im Tag, bei Diabetes über 0,5 g und bei Carcinom sogar bis 4,0 g täglich im Harne gefunden. Die Kreatinausscheidung erscheint beim Diabetiker in gewissem Zusammenhange mit der Acidose; so scheiden schwere Diabetiker mit unaufhaltsam sinkender Toleranz, dauernder Acetonkörperausscheidung, Lipämie usw. unabhängig von der Ernährung dauernd Kreatin aus; in leichteren Fällen ist die Ausscheidung abhängig von alimentärer Fleischzufuhr.

Bei der Fäulnis des Harnes bildet sich Kreatin aus dem Kreatinin; zudem geht das Kreatin unter Wasseraustritt leicht in das Kreatinin über, besonders beim Erwärmen mit Mineralsäuren; durch Einwirkung von Alkali wird aber dieses in Kreatin zurückverwandelt. Vom Kreatinin unterscheidet es sich, daß es nicht die Weylsche Reaktion und auch in der Kälte keinen Niederschlag mit Chlorzink gibt. Im Gegensatze zu Kreatinin liefert das Kreatin mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, ebenso mit Pikrinsäure leicht lösliche Salze.

Nachweis und Bestimmung.

Eine genaue einwandfreie direkte Bestimmung existiert nicht. Der Gehalt im ganz frischen Harne kann in der Weise ermittelt werden, daß man das vorhandene Kreatinin (das präformierte) bestimmt und daß man den Harn mit Säuren erhitzt und nun abermals eine Kreatininbestimmung vornimmt. War Kreatin vorhanden, so ist dieses in Kreatinin umgewandelt worden. Aus der Differenz zwischen diesem Gesamtkreatinin und dem präformierten ergibt sich der Gehalt an Kreatin. Die Differenz ist noch mit $1{,}16\left(\frac{131}{113}\right)$ zu multiplizieren.

[1]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1913. **74.** 222.

13. Kreatinin, $C_4H_7N_3O$ oder $C\begin{<}\begin{matrix}NH{-}CO\\ NH\ \ |\\ NCH_3CH_2\end{matrix}$.

Methylguanidinoessigsäureanhydrid, Glykolmethylguanidin, Methylglykocyamidin ist mit Sicherheit als konstanter Bestandteil des menschlichen Harnes und des Harnes einiger Säugetiere zuerst von J. Liebig nachgewiesen worden (im Harne von 24 Stunden 0,6—1,5 g, nach anderen 1,7—2,1 g). Der Stickstoffgehalt im Kreatinin beträgt etwa 4,5—6% des Gesamtstickstoffes im Harne. Nach H. Lavesson[1]) wurde bei Männern im Tag durchschnittlich 1,172 g (0,677—1,93), bei Frauen 0,724 g (0,455—1,060), bei Kindern 0,332 g (0,107—0,825) Kreatinin gefunden. Die Kreatininausscheidung ist bei normalen Menschen für jedes Individuum täglich, sogar stündlich sehr gleichbleibend und ist, wenigstens bei fleischfreier Kost unabhängig von der Gesamtstickstoffausscheidung. Bei verschiedenen Individuen kann man dagegen recht große Unterschiede in der Ausscheidung finden.

Berechnet man aber die ausgeschiedene Kreatininmenge eines Menschen auf sein Körpergewicht, so ergibt sich doch eine ziemliche Gleichmäßigkeit, indem der Kreatininkoeffizient, d. h. die für 1 kg Körpergewicht ausgeschiedene Menge Kreatininstickstoff, normal zwischen 7—11 mg N, entsprechend 20 bis 30 mg Kreatinin, beträgt. Ein Mensch von 70 kg scheidet also täglich 1,5 bis 2,0 g Kreatinin aus. Ob das im Harne vorhandene Kreatinin — das Anhydrid des Kreatins — aus dem Kreatin der Muskeln, das, bevor es den Körper verläßt, in Kreatinin umgewandelt wird, allein stammt, ist nicht sicher entschieden; in den Muskeln sind etwa 3‰ Kreatin enthalten. Ein vermehrter Fleischgenuß veranlaßt vermehrte Kreatininausscheidung; eine solche bedingt wahrscheinlich auch ein vermehrter Eiweißzerfall der Körpermuskeln; dies wäre klinisch wichtig. Bei erhöhter Muskelarbeit soll die Kreatininmenge zunehmen, jedoch lauten hierüber die Ansichten noch verschieden. Kreatin und das Anhydrid lassen sich in geringen Mengen in fast allen Geweben nachweisen. Woher das Kreatin sicher stammt, ist noch unbekannt, vielleicht ist es als Vorstufe des Harnstoffes zu betrachten. Nach van Hoogenhuyze und Verploegh[2]) ist das Kreatin ein Stoffwechselprodukt, das nicht bei der Zusammenziehung der Muskelfasern gebildet wird, sondern in Muskeln und anderen Organen entsteht bei der Zersetzung des Eiweißes, die mit dem Leben der Zellen, abgesehen von den besonderen Arbeitsleistungen, wozu sie imstande sind, verknüpft ist. Jedenfalls ist die größte Menge des im Harne vorzufindenden Kreatinins endogenen Ursprungs, seine Bildung erfolgt im Körper selbst. In pathologischen Fällen wurde im Fieber bei akuten Krankheiten (Typhus, Pneumonie), bei Diabetes (Fleischdiät) eine Vermehrung, in der Rekonvalescenz bei akuten Krankheiten, bei Schwächezuständen, bei Nierenkrankheiten, bei Muskelatrophie eine Ver-

[1]) Biochem. Zeitschr. 1907. **4.** 40.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 428.

minderung konstatiert. Die Ausscheidung des Kreatinins läuft mit der des Harnstoffes parallel.

Darstellung, zugleich quantitativer Nachweis.

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

Zu bemerken ist, daß der Harn frei von Eiweiß und Zucker sein muß; ersteres wird durch Aufkochen, letzterer durch Vergären mit Hefe entfernt (man läßt 24 Stunden bei 30—35° C. vergären).

1. Verfahren nach Neubauer[1])-Salkowski.[2])

480 ccm Harn werden in einem Meßzylinder von 1 Liter Inhalt mit Kalkmilch oder mit Ammoniak 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, gibt 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. Um einer Umwandlung von Kreatinin in Kreatin vorzubeugen, dampft man das Filtrat am zweckmäßigsten bei schwach saurer Reaktion ein. Die Mischung gießt man in einen Meßzylinder, 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 zur Abscheidung des Chlornatriums stehen. Dann filtriert man durch ein trockenes Filter und versetzt in einem Becherglase 160 ccm des Filtrates nach dem Zufügen von essigsaurem Natrium, wenn man das Kalkfiltrat mit einer Mineralsäure angesäuert hatte (aus einer Kreatininlösung, die eine Mineralsäure enthält, scheidet sich kein Chlorzink-Kreatinin ab, deswegen der Zusatz von Natriumacetat), 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 zur Beschleunigung der Ausscheidung stark um 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 $((C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2)$ 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 Niederschlage wird bei 100° getrocknet und dann gewogen.

100 Teile Kreatininchlorzink enthalten 62,44 Teile Kreatinin.

Selbstverständlich kann man den Gehalt des Kreatinins aus dem Stickstoffgehalte der Zinkverbindung nach Kjeldahl bestimmen und berechnen

[1]) Annal. Chem. Pharm. 1861. **119.** 33.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1886. **10.** 113.

(S. 171). Man bringt Filter mit Inhalt in den Kjeldahlkolben, gibt die Säure hinzu und erhitzt langsam usw.

42 N = 113 Kreatinin.

Den Niederschlag prüft man noch mikroskopisch nach dem Befeuchten mit Alkohol auf Chlornatriumgehalt (Würfel), das nicht vorhanden sein darf. Ist letzteres zugegen, 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 dieses gewogen.

100 Teile Zinkoxyd entsprechen 317,4 Teilen Kreatinin.

Bei der Berechnung hat man die angewendete Harnmenge in Betracht zu ziehen; nach dem Neubauer-Salkowskischen Verfahren ist die in 320 ccm Harn enthaltene Kreatininmenge bestimmt worden.

Beurteilung.

Zur quantitativen Bestimmung ist das Verfahren weniger geeignet, da die Chlorzinkverbindung nie ganz rein zu erhalten ist und die Reaktion auch nicht quantitativ verläuft.

2. Darstellung nach O. Folin.[1])

Zu einem Liter Harn werden 18 g Pikrinsäure in heißem Alkohol (45 bis 50 ccm) gelöst unter Umschütteln zugesetzt; ohne die Wände des Gefäßes zu berühren, wird einige Minuten bis zur Ausfällung des Pikrates umgerührt. Nach etwa 1stündigem Stehen wird die Flüssigkeit abgegossen oder abgehebert und der auf einem Saugfilter gesammelte Niederschlag mit gesättigter Pikrinsäurelösung gewaschen. Das Doppelpikrat kann durch 4maliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser rein gewonnen werden. Der noch feuchte Niederschlag wird mit Kaliumbicarbonat (der Hälfte des Gewichtes des Niederschlages) und mit Wasser (für 1 Liter Harn etwa 40 ccm) längere Zeit in einer Reibschale verrieben, wobei das Kreatinin in Lösung geht und Kaliumpikrat abgeschieden wird, das man abfiltriert. Das Filtrat wird mit 20%iger Schwefelsäure neutralisiert, die schwach saure Lösung mit 2 Volumen Methyl- oder Äthylalkohol vermischt und mit wenig Tierkohle (etwa 6—7 g) entfärbt. Man filtriert alsbald Kaliumsulfat und Tierkohle ab, läßt eine Zeitlang stehen und filtriert nochmals. Das Filtrat, die Kreatininlösung, wird mit konzentrierter Zinkchloridlösung versetzt, das Doppelsalz nach etwa 12 Stunden abfiltriert, mit 50%igem Alkohol gewaschen und mit Bleihydrat gekocht. Man leitet ganz kurz Schwefelwasserstoff ein, filtriert, befreit das Filtrat vollständig vom Blei und filtriert wieder. Die Lösung wird mit Normalschwefelsäure (auf 4 g Gesamtkreatinin 50 ccm) eingedampft, 36—48 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, die Schwefelsäure mit der berechneten Menge titrierter Barythydratlösung zersetzt und das Bariumsulfat abfiltriert. Das Filtrat mit Waschwasser wird konzentriert, bis Kreatinin ausfällt, das sich nach dem Erkalten der Flüssigkeit als Krystallbrei ausscheidet, der abgesaugt

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41**. 223.

und einigemal mit wenig Alkohol gewaschen wird. Man krystallisiert noch zweimal um.

Man kann 4 Liter Harn in Arbeit nehmen. In der Lösung des noch nicht reinen Kreatinins und Kreatins (siehe oben) wird der Gehalt an Gesamtkreatinin nach Folin (siehe bei 3) bestimmt, um daraus die nötige Schwefelsäuremenge berechnen zu können.

Beurteilung.

Das Folinsche Verfahren ist das beste zur Darstellung von Kreatinin.

3. Bestimmung des Kreatinins nach O. Folin.[1])

Prinzip.

Die Methode ist eine kolorimetrische und beruht auf der von Jaffé angegebenen Eigenschaft der Rotfärbung des Kreatinins mit alkalischer Pikrinsäurelösung. Die Stärke der Färbung wird mit einer $^1/_2$ n-Kaliumbichromatlösung bestimmt; durch eine große Versuchsreihe ist folgendes festgestellt: 10 mg Kreatinin in 10 ccm Wasser gelöst gibt die maximale Rotfärbung 5—10 Minuten nach Zusatz von 15 ccm 1,2%iger Pikrinsäurelösung und 4—8 ccm 10%iger Natronlauge. Die in dieser Weise erhaltene Lösung, auf 500 ccm verdünnt, gibt eine Flüssigkeit, von der 8,1 mm im durchfallenden Lichte genau dieselbe Farbe zeigen, wie 8 mm $^1/_2$ n-Kaliumbichromatlösung.

Erforderlich sind:

1. Ein zwei Röhren enthaltendes Colorimeter nach Dubosq, in dem die Höhe der anzuwendenden Flüssigkeiten bis auf $^1/_{10}$ mm eingestellt werden kann.

Es können auch andere Colorimeter Verwendung finden: W. Autenrieth und J. Koenigsberger[2]) benützen ein von Hellige in Freiburg hergestelltes, hiezu brauchbares; van Hoogenhuyze und Verploegh[3]), R. Gottlieb und R. Stangassinger[4]), Funaro[5]) verwenden wieder andere, so ein von H. Runne in Heidelberg bezogenes.

2. Eine $^1/_2$ n-Kaliumbichromatlösung, 24,54 g im Liter. (Diese Lösung hält sich jahrelang unverändert).

An Stelle der Bichromatlösung empfiehlt Folin die Verwendung von Kreatinin selbst als Kontrolllösung. 1,6106 g Kreatininchlorzink in 1 Ltr. Wasser entsprechen 1 mgr Kreatinin im ccm; Folin und J. L. Morris[6]) geben an, daß in manchen Fällen eine Lösung zweckmäßiger ist, die man sich herstellt, indem man 0,001 g Kreatinin mit 20 ccm gesättigter Pikrinsäurelösung und 1,5 ccm 10%iger Natronlauge 10 Minuten stehen läßt und dann auf 100 ccm verdünnt.

Auch A. Hahn und G. Barkan[7]) empfehlen als Kontrolllösung Kreatinin und zwar ein von den Farbenfabriken vorm. Bayer & Co. in Elberfeld hergestelltes unter der Bezeichnung „Ilun"; sie geben ihr Verfahren an.

3. Eine annähernd gesättigte (1,2%ige) Pikrinsäurelösung.
4. 10%ige Natronlauge.

Zur Ausführung der Bestimmung wird von der $^1/_2$ n-Kaliumbichromatlösung in das eine Rohr des Colorimeters gegeben und genau bis auf 8 mm eingestellt. Um mit möglichst großer Sicherheit zu arbeiten, empfiehlt es sich, etwas $^1/_2$ Bichromatlösung auch in das zweite Rohr des Colorimeters einzugießen und mit dieser Lösung den colorimetrischen Gleichpunkt aufzusuchen. Das Mittel von drei oder vier Beobachtungen darf nicht mehr als 0,1 mm vom richtigen Wert (8 mm) abweichen, die Differenz zwischen je zwei Beobachtungen soll 0,3 mm nicht überschreiten. Nach einiger Übung ist der richtige Punkt leicht und sicher aufzufinden.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41.** 223.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1910. **57.** 998.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 419.
[4]) Ebenda. 1907. **52.** 4. 1908. **57.** 131.
[5]) Biochem. Zeitschr. 1908. **10.** 468.
[6]) Journ. of Biol. Chem. 1914. **17.** 459.
[7]) Zeitschr. Biolog. 1920. **72.** Heft 1 und 2; Pharm. Centralh. 1921. **62.** 457.

10 ccm des möglichst frischen Harnes werden jetzt in einen 500 ccm fassenden Meßkolben abgemessen und 15 ccm Pikrinsäurelösung und 5 ccm Natronlauge zugesetzt. Die Flüssigkeit wird ein paarmal geschüttelt und 5 Minuten ruhig stehen gelassen. Am Ende dieser Zeit wird der Meßkoben bis zum 500 ccm-Strich mit Wasser aufgefüllt und der Inhalt gut gemischt. Das zweite Rohr des Colorimeters wird nun sogleich mit dieser Lösung ausgespült und der colorimetrische Wert der Lösung wie vorher mit der in dem anderen Rohre des Colorimeters vorhandenen (8 mm) Kaliumbichromatlösung bestimmt.

Die dem colorimetrischen Werte entsprechenden Mengen Kreatinin sind unter Hinweis auf oben Festgestelltes (Faktor 8,1 mm für 10 mg Kreatinin, andere Werte dürfen nicht als Vergleichszahl angewendet werden) leicht zu berechnen. Nehmen wir an, daß drei Bestimmungen die colorimetrischen Werte 7,3 mm, 7,1 mm und 7,2 mm ergeben, im Mittel also 7,2 mm, so berechnet sich der Kreatiningehalt in 10 ccm Harn demnach auf $\frac{8,1}{7,2} \cdot 10 = 11,25$ mg.

Geben die colorimetrischen Beobachtungen Werte unter 5 mm, dann macht man eine zweite Bestimmung unter Anwendung von nur 5 ccm Harn; oder 25 ccm Harn werden zuerst mit 25 ccm Wasser verdünnt und die Bestimmung wird mit 10 ccm verdünnten Harnes ausgeführt, oder die Bestimmung wird mit 10 ccm nicht verdünnten Harnes unter Anwendung von einem 1000 ccm fassenden Meßkolben wiederholt. Gibt die erste colorimetrische Untersuchung andererseits Werte, die über 13 mm liegen, dann wird die Bestimmung mit 20 ccm Harn vorgenommen. Die zur Anwendung kommenden Mengen Harn sollen 7—15 mg Kreatinin für 500 ccm Flüssigkeit enthalten.

Da Aceton, Acetessigsäure, Schwefelwasserstoff stören, so müssen diese am besten durch Kochen des Harnes erst entfernt werden. Es erscheint leicht möglich, daß hiebei auch Kreatin in Kreatinin umgewandelt werden könnte. Aceton und Schwefelwasserstoff wären ja durch Destillation im Vakuum, auch durch Durchleiten von Luft zu entfernen. Zur Entfernung der Acetessigsäure müßte allerdings der Harn vor der Destillation angesäuert sein.

Um Acetessigsäure zu entfernen, versetzen G. Graham und E. P. Poutten[1]) 10 ccm Harn mit 1 ccm 10%iger Phosphorsäure und destillieren bei 65—70° und bei 210 mm Druck $^3/_4$ Stunden, wodurch — es gehen nur wenige Tropfen über — 0,2% Acetessigsäure entfernt werden; eine Umwandlung von Kreatin in Kreatinin soll nicht stattfinden.

Um auch das Kreatin zu bestimmen, werden nach Folin 10 ccm Harn mit 5 ccm Normalsalzsäure 3 Stunden lang auf dem siedenden Wasserbade am Rückflußkühler erhitzt, wodurch das Kreatin in Kreatinin übergeführt wird. Man bestimmt in der angegebenen Weise den Kreatiningehalt. Die Differenz ergibt den Gehalt an vorhandenem Kreatin; diese ist, wie schon angegeben, mit 1,16 zu multiplizieren.

Dorner, v. Hoogenhuyze und Verploegh[2]) lassen den Harn mit der doppelten Menge der Normalsalzsäure 3 Stunden erhitzen und dann die Flüssigkeit neutralisieren. Benedict und Myers[3]) erhitzen den Harn mit dem gleichen Volumen Normalsalzsäure 15 Minuten lang im Autoklaven, wobei alles Kreatin sicher umgewandelt wird. Letztere Methode hat sich nach F. C. Cook[4]) am besten bewährt.

[1]) Proc. Royal Soc. London Ser. B. 1914. **87.** 205; Chem. Centralbl. 1914. **85.** I. 1001.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 415; 1907. **52.** 228; 1908. **57.** 161.
[3]) Americ. Journ. of Physiol. 1907. **18.** 397.
[4]) Journ. Amer. Chem. Soc. 1909. **31.** 673.

Beurteilung.

C. J. C. van Hoogenhuyze und H. Verploegh haben die Folinsche Methode nachgeprüft und kommen auf Grund ihrer Untersuchungsergebnisse — es wurde eine sehr große Zahl von Harnen auf ihren Kreatiningehalt geprüft — zu dem Urteil, daß die Folinsche Methode gegenüber der seither benutzten Neubauerschen große Vorteile hat. Die Folinsche Methode beansprucht weit weniger Zeit und viel kleinere Harnmengen, so daß die Beobachtung der Schwankungen in der Ausscheidung im Laufe eines Tages durch Untersuchung verschiedener Portionen bedeutend erleichtert wird; auch an Sicherheit ist sie der anderen überlegen, da bei dieser und der folgenden (4) die Abscheidung des Kreatinins nicht immer eine quantitative war. Nach F. C. Cook erhält man bei Anwendung von 10 ccm Alkalilösung die besten Ergebnisse; zu viel Alkali zerstört Kreatinin, Verdünnung erniedrigt die Werte.

3. W. Autenrieth und G. Müller[1]) benützen zur Bestimmung des Kreatinins und des Kreatins das Folinsche Verfahren unter Verwendung des Colorimeters von Autenrieth-Koenigsberger; das Colorimeter liefert die Firma F. Hellige in Freiburg i. B.; dem Colorimeter liegt Gebrauchsanweisung zur Ausführung der Untersuchung bei.

4. Bestimmung nach R. Kolisch.[2])

200 ccm Harn werden mit soviel Kalkmilch und Chlorcalcium, 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 von einer Lösung (30 g Sublimat, 1,0 g essigsaures 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 oxydiert Filter mit Rückstand in der S. 170 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 Teile Kreatinin = 37,1 Teile Stickstoff.

Bestimmungen des Kreatinins hat G. Edlefsen[3]) angegeben, die aber nach dem Verf. noch eingehender geprüft werden sollen.

Eigenschaften.

Das Kreatinin krystallisiert in glänzenden, farblosen, wasserfreien Prismen, die sich in 10—12 Teilen kalten Wassers, leichter in heißem Wasser und in 102 Teilen absoluten Alkohols mit neutraler Reaktion lösen. In warmem Alkohol löst es sich leichter, in Äther ist es fast ganz unlöslich. 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, Goldchlorid und Chlorzink Doppelsalze. Das letztere $(C_4H_7N_3O)_2 . ZnCl_2$, zur Erkennung und Bestimmung dienend, krystallisiert in feinen Nadeln oder Prismen, die konzentrisch gruppierte Rosetten bilden oder Büschel, die sich kreuzen; auch haben die Krystalle manchmal das Aussehen von ineinander übergehenden Pinseln (Fig. 37). Silbernitrat scheidet einen aus feinen Nadeln bestehenden Nieder-

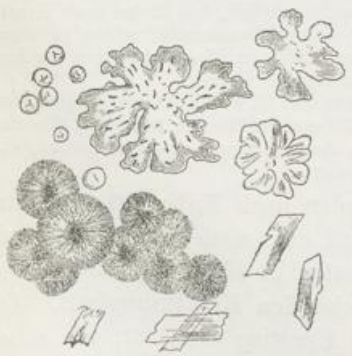


Fig. 37. Kreatininchlorzink
Nach Ultzmann, Hoffmann.

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **59.** 899.
[2]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1895. Nr. 11; Zeitschr. analyt. Chem. 1896. **35.** 483.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1908. **56.** 2524; Pharm. Centrlh. 1909. **50.** 111 und 406.

schlag aus, Quecksilberchlorid, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Pikrinsäure usw. erzeugen in saurer Lösung Fällungen, teils auch in schönen Krystallformen, feine farblose Nadeln beim Quecksilbersalz. Aus verdünnten Kreatininlösungen (Harn) scheiden sich, wenn man sie zuerst mit essigsaurem Natron und dann mit Quecksilberchlorid versetzt, nach einiger Zeit glasglänzende, wasserklare Kugeln ab ($4(C_4H_7N_3O \cdot HCl \cdot HgO)3HgCl_2$). Das pikrinsaure Salz, durch Umkrystallisieren in dünnen, gelben, glänzenden Nadeln zu erhalten, ist charakteristisch. (Jaffé.) Kreatinin wirkt reduzierend und stört die Trommersche Zuckerprobe, indem es teils Kupfer reduziert, teils ausgeschiedenes Kupferoxydul in Lösung hält. Bei Behandlung von Kreatinin mit Bromlauge werden 37% des Stickstoffes gasförmig abgespalten. In Berührung mit Basen geht das Kreatinin in Kreatin über; diese Umwandlung erfolgt auch durch längeres Stehenlassen der wässerigen Lösungen, schneller noch beim Kochen.

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. 37).
2. Versetzt man eine Kreatininlösung oder Harn mit einigen Tropfen zweckmäßig frisch bereiteter, sehr verdünnter, wässeriger Nitroprussidnatriumlösung (spez. Gewicht 1,003) und fügt dann tropfenweise verdünnte Natronlauge zu, so färbt sich die Flüssigkeit rubinrot und geht allmählich in strohgelb über. Säuert man die gelb gewordene Flüssigkeit stark mit Essigsäure (Eisessig) an, dann bleibt in der Kälte die gelbe Farbe, erhitzt man aber die Lösung, so nimmt diese zunächst eine grüne, dann eine blaue Färbung an; bei längerem Stehen bildet sich ein blauer Niederschlag von Berlinerblau (Reaktion Th. Weyl[1])-E. Salkowski). (Unterschied von Acetessigsäure, die sich durch vorheriges Kochen des Harns auch entfernen läßt.)

   Wenn man die gelbgewordene Flüssigkeit mit Essigsäure nur neutralisiert, so scheidet sich beim Schütteln ein krystallinischer Niederschlag aus (Nitrosoverbindung des Kreatinins). (Kramm.)

   Aceton, das ebenfalls die Reaktion gibt, ist durch Erhitzen oder Destillation im Dampfstrome zu entfernen.

V. Arnold[2]) empfiehlt die Vornahme dieser Reaktion (10—20 ccm des am besten vorher durch Tierkohle entfärbten Harnes werden mit einem Tropfen 4%iger Nitroprussidnatriumlösung und darauf mit 5—10 ccm 5%iger Kali- oder Natronlauge versetzt) zum Nachweise, ob vorher Fleisch oder Fleischbrühe genossen und ärztliche Diätvorschriften befolgt wurden. Nach dem Genusse von Fleisch oder Fleischbrühe entsteht bei der erwähnten Probe eine reine Violettfärbung der Flüssigkeit; diese Färbung geht bald durch Purpurrot und Braunrot in Gelb über.

Nach A. weiteren Untersuchungen wird das Eintreten der Reaktion durch einen endogen entstandenen Harnbestandteil bedingt, der mit der Ernährungstätigkeit zusammenhängen wird. Im nüchternen Zustand bleibt die Reaktion im Harne aus, sie zeigt, wenn sie eintritt, eine voraus-

[1]) Berl. Bericht. 1878. **11.** 217.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **49.** 397; 1913. **83.** 304; Wien. klin. Wochenschr. 1918. **31.** 354.

gegangene Nahrungsaufnahme an; wenn Fleisch oder Fleischbrühe genossen worden sind, tritt die Reaktion stark ein; bei schweren Infektionskrankheiten unterbleibt sie. Kanakichi Yanagowa[1]) hält die die violette Reaktion gebende Substanz für eine organische Schwefelverbindung, wahrscheinlich für eine Thioamidverbindung.

3. Fügt man zu einer Lösung von Kreatinin oder zu Harn etwas wässerige Pikrinsäurelösung und einige Tropfen Natronlauge, so färbt sich die Lösung oder der Harn sofort intensiv rot (M. Jaffé).[2]) Die Färbung bleibt länger bestehen. Sie beruht auf der Reduktion der Pikrinsäure durch das Kreatinin zu Pikraminsäure (neben Diaminonitrophenol und Triaminophenol). (Aceton zeigt nur rötlichgelbe, Kreatin eine gelbe, erst später in Rot übergehende Färbung.) Das Aceton, dann Acetessigsäure und Schwefelwasserstoff, die stören, kocht man am besten vorher weg.

Um aus dem Kreatininchlorzink reines Kreatinin darzustellen, löst man dieses in kochendem Wasser, zersetzt es durch Kochen mit fein verteiltem 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 dem Kreatin unlöslich ist, getrennt werden kann.

Wahl der Methode.

Zum qualitativen Nachweis im Harne direkt wendet man Methode 2, auch 3 an, für die quantitative Bestimmung eines der genannten Verfahren.

14. Oxalsäure. $C_2H_2O_4$ oder $\begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH \end{matrix}$.

Auch die Oxalsäure ist ein nie fehlender Bestandteil des Harnes Gesunder, wenngleich nur geringe Mengen dieser nachzuweisen sind (bis 0,02 g in 24 Stunden P. Fürbringer, bis 0,128 g S. Serkowski, 0,015 g Autenrieth und Barth). In Form des oxalsauren Kalkes findet sich die Oxalsäure im Sedimente des alkalischen, häufig auch in dem des saueren Harnes, dann in den Harnsteinen.

Die Oxalsäure wird zum Teil im intermediären Stoffwechsel erzeugt und wird auch bei oxalsäurefreier Nahrung, auch bei Hungerzuständen fast unverändert, d. h. in gleichen Mengen wie bei durchschnittlicher Ernährung ausgeschieden. Was den Übergang der Oxalsäure aus der Nahrung in den Harn anbelangt, so kann gesagt werden, daß der Hauptteil der Oxalsäure normalerweise nicht in den Harn übergeht, eine gegebenenfalls vermehrte Ausscheidung könnte zum geringeren Teile von den dem Organismus zugeführten Speisen, von denen eine große Reihe Oxalsäure oder oxalsauren Kalk fertig gebildet enthalten, abhängig sein. Solche Speisen sind Endivien, Tomaten, grüne Bohnen, Spargel, Kohl, Trauben, Äpfel, Honig usw.; oxalsäurehaltige Arzneimittel, wie Oxalsäure selbst, dann Rheum, Scilla, Senna,

[1]) Biochem. Zeitschr. 1914. **61.** 256.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1886. **10.** 399.

Baldrian usw. bedingen wohl eine Steigerung ihrer Menge im Harne, da sie dann nur teilweise oxydiert wird, obwohl der Organismus ein starkes Vermögen besitzt, Oxalsäure zu zerstören; allerdings scheint hier individuelle Veranlagung mitzusprechen.

Die Muttersubstanz der Oxalsäure sollen Glykokoll und glykokollhaltige Verbindungen und Derivate, wie Leim, Glyoxylsäure, Allantoin, auch die Kohlenhydrate bilden; auch an eine Beziehung zur Harnsäure wäre möglicherweise zu denken. Die angegebenen Möglichkeiten der Bildung der Oxalsäure wurden in letzter Zeit wieder bezweifelt. Nach Abderhalden ist es einstweilen nicht möglich, über die Herkunft der aus einer anderen Quelle als aus der Nahrung selbst stammenden Oxalsäure etwas auszusagen.

Eine vermehrte Ausscheidung des oxalsauren Kalkes wurde beobachtet oder soll vorkommen besonders bei der Verlangsamung des Stoffwechsels in einer bestimmten Richtung, bei Störungen der Verdauungsorgane, bei Indikanurie, bei nervösen Störungen, bei Ikterus, bei Lungentuberkulose (?). Eine vermehrte Oxalsäureausscheidung soll bei Diabetes mellitus vorhanden sein, indem hier die stickstofffreien Substanzen sowohl unverbrannt als Zucker und unvollkommen oxydiert als Oxalsäure in den Harn übergehen können. Von anderer Seite sind wieder entgegengesetzte Beobachtungen gemacht worden. Eine vermehrte Ausscheidung hat man als „Oxalurie" bezeichnet, wenngleich man diese Ausscheidung wohl nicht als eine selbständige, sondern nur als eine begleitende Krankheitserscheinung einer anderen Krankheit aufzufassen haben wird. Nach Senator ist die Oxalsäure nicht im geringsten ein Syptom des verlangsamten Stoffwechsels und der unvollständigen Verbrennung; die Ursache dieser öfteren Störung des Stoffwechsels ist noch nicht bekannt.

Eine lange andauernde Ausscheidung des Kalkoxalates, eine übermäßige Produktion kann 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; im normalen Harne kann sich sogar bei geringem Säuregrade desselben etwas Kalkoxalat beim Stehen ausscheiden; ein nach dem Genusse der oben erwähnten Stoffe auftretender reichlicher Gehalt an diesen Krystallen ist ebenfalls ohne Bedeutung.

Eine etwa vorhandene Oxalurie könnte nur durch eine quantitative Bestimmung der Oxalsäure ermittelt werden; auf Grund der Anwesenheit von Oxalaten im Sedimente ist man nicht berechtigt, eine Oxalurie festzustellen.

Darstellung und zugleich quantitativer Nachweis nach W. Autenrieth und H. Barth.[1])

Man versetzt die Tagesmenge Harn mit Chlorcalciumlösung im Überschusse, dann mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion, schüttelt

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 330.

gut durch und läßt über Nacht, d. h. 18—20 Stunden lang, zweckmäßig in einem Eisschranke stehen; die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit gießt man durch das Doppelfilter einer nicht zu kleinen Nutsche, gibt schließlich den Niederschlag darauf und spült mit wenig kaltem Wasser nach. Den gut abgesaugten Niederschlag bringt man in ein Becherglas und löst ihn in möglichst wenig heißer Salzsäure auf; es genügen gewöhnlich 30 ccm einer etwa 15%igen Säure. Die erhaltene Lösung schüttelt man in einer geräumigen, mit Glasstopfen verschließbaren Flasche oder in einem Scheidetrichter mit 4—5 Portionen von je 150—200 ccm Äther, der 3—5% absoluten Alkohol enthält, tüchtig aus.

Die sämtlichen Ätherauszüge bringt man zunächst in einen trockenen Glaskolben und läßt sie etwa 1 Stunde lang ruhig stehen; allenfalls sich noch ausscheidende wässerige Tropfen trennt man von der Ätherlösung durch Filtrieren. Zum Äther gibt man 5 ccm Wasser, um beim Erhitzen die Bildung des Oxalsäurediäthyläthers zu verhindern, destilliert den Äther ab, schüttelt die rückständige Flüssigkeit, wenn nötig, mit wenig calciumfreier Blutkohle und filtriert wieder.

Das auf 3—5 ccm eingeengte Filtrat versetzt man erst mit Chlorcalciumlösung, dann mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion, läßt einige Zeit absetzen und säuert mit verdünnter Essigsäure ganz schwach an. Nachdem die Flüssigkeit über Nacht gestanden hat, sammelt man das Calciumoxalat auf einem aschefreien Filter und wäscht mit kaltem Wasser aus; man löst es nochmals in Salzsäure, wäscht das Filter gut aus und fällt das Filtrat mit Ammoniak; diesen auf einem Filter gesammelten und ausgewaschenen Niederschlag verascht man und glüht den Niederschlag in bekannter Weise.

Gefundenes CaO mit 1,6071 multipliziert = Oxalsäure.

Man kann auch das ausgewaschene Calciumoxalat nach der zweiten Fällung mit Filter in das Becherglas zurückbringen, mit 20—30 ccm 10%iger Schwefelsäure versetzen, auf 50° erwärmen und mit $^n/_{10}$ Permanganatlösung titrieren. 1 ccm Permanganat = 0,0045 g Oxalsäure.

Beurteilung.

Die Vorzüge dieser Methode bestehen nach den Verfassern darin, daß man größere Mengen Harn in Arbeit nehmen kann, daß die Extraktion mit Äther aus einer nicht zu verdünnten wässerigen Lösung erfolgt und daß man nur die präformierte Oxalsäure bestimmt, da durch Vermeiden des Konzentrierens und Eindampfens des Harnes ein Übergang der Oxalsäure in die in Äther unlösliche Oxalursäure vermieden wird. S. Serkowski und Mozdzenski fanden das Verfahren brauchbar.

Nach Versuchen von H. Mc. Lean[1]) soll aber im Filtrate noch Oxalsäure vorhanden sein und das Verfahren wäre nicht ganz einwandfrei; er empfiehlt ein älteres Verfahren von Schultzen, nach dem 500 ccm Harn mit Ammoniak und Calciumchlorid gefällt werden; man dampft das Ganze (kein Filtrieren) bis zur dünnen Sirupkonsistenz ein, fällt mit Alkohol in großem Überschuß, bringt den Niederschlag soweit es geht aufs Filter und wäscht ihn mit Alkohol und Äther nach. Der Niederschlag im Filter und in der Schale wird in etwa 30 ccm 15%iger Salzsäure gelöst und nun in der geschilderten Weise mit Äther ausgeschüttelt. In ähnlicher Weise hat übrigens zuerst Salkowski[2]) die Bestimmung ausgeführt; er hat Harn auf $^1/_3$ eingedampft, dann Salzsäure (1,12) hinzugegeben, und zwar bei Anwendung von 500 ccm Harn 20 ccm und 3mal mit je 200 ccm Äther-Alkoholmischung (10:1) tüchtig ausgeschüttelt. Den Rückstand der Ausschüttelung (den Äther destilliert man ab) nimmt man mit wenig Wasser (10—15 ccm) auf, dampft ein, filtriert und fällt in der etwa 20 ccm betragenden Flüssigkeitsmenge nach Zusatz von Ammoniak und

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **60.** 20.
[2]) Ebenda. 1900. **29.** 437.

10%iger Calciumchloridlösung, sowie von Essigsäure (Lösen von Calciumphosphat) die Oxalsäure als oxalsauren Kalk, den man sammelt, auswäscht, glüht und wägt.
H. D. Dakin[1]) verfährt ähnlich.

N. A. Orlow[2]) empfiehlt an Stelle der Calciumsalze die Anwendung von Thoriumsalzen zur Fällung der Oxalsäure. Thoriumoxalat ist sehr schwer löslich in Säuren.

Auf das von A. Bau[3]) angegebene Verfahren und auf die von E. Salkowski[4]) dagegen erhobenen Bedenken sei hingewiesen.

Eigenschaften der Oxalsäure.

Die Oxalsäure krystallisiert mit 2 Mol. Krystallwasser in farblosen, rhombischen Prismen, ist löslich in Wasser und Alkohol, läßt sich bei langsamem 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 Quadratoktaedern, die mit Briefkuverten Ähnlichkeit haben. (S. Sedimente.)

Die Löslichkeit des Oxalates im Harne erklärt sich oder wird begünstigt durch eine starke saure Reaktion des Harnes, sowie durch einen hohen Gehalt an Magnesiasalzen bei geringem Gehalte an Kalksalzen.

15. Bernsteinsäure. $C_4H_6O_4$ oder $\begin{matrix} CH_2 . COOH \\ | \\ CH_2 . COOH \end{matrix}$.

Auch die Bernsteinsäure, Äthylendicarbonsäure, soll ein normaler Bestandteil des Harnes sein. Innerlich genommen geht sie unverändert in den Harn über. Die in den gegorenen Getränken in geringen Mengen vorkommende Bernsteinsäure dürfte die Ursache für das Vorkommen dieser Säure im Harne bilden; nach reichlichem Spargelgenuß und Asparagin sollen größere Mengen von Bernsteinsäure neben Ammoniak vorgefunden worden sein; Salkowski konnte auf Grund eingehend durchgeführter Versuche diese Befunde nicht bestätigen.

Darstellung.

Man gewinnt die Bernsteinsäure aus dem Harne, indem man diesen mit Baryt fällt, den Überschuß von Baryt durch Schwefelsäure entfernt und das Filtrat eindampft. Die konzentrierte Lösung wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Äther mehrmals ausgeschüttelt. Den Ätherrückstand reinigt man mit Salpetersäure, die 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.

---

[1]) Journ. of Biolog. chem. 1907. **3.** 57.
[2]) Farm. Journ. 1907. **46.** 1.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1921. **114.** 221.
[4]) Ebenda. 1921. **118.** 259.

Nachweis.

1. Erhitzt man die reine Säure oder das Natriumsalz mit saurem schwefelsaurem Kalium im Reagenszylinder, so sublimiert die Bernsteinsäure in weißen, zum Husten reizenden Dämpfen.
2. Eisenchlorid bewirkt in Lösungen blaßrote Niederschläge von bernsteinsaurem Eisenoxyd; neutrales essigsaures Blei erzeugt einen weißen, in Bernsteinsäure, Essigsäure und in neutralem Bleiacetat — sämtliche im Überschusse zugesetzt — löslichen Niederschlag.

Eigenschaften.

Die Bernsteinsäure bildet farblose, monokline Prismen, bei 182° (185°) schmelzend. In kaltem Wasser, heißem Alkohol ist sie löslich, wenig löslich in Äther; doch wird die Bernsteinsäure von Äther aus wässerigen Lösungen aufgenommen.

16. Oxalursäure. $C_3H_4N_2O_4$ oder $\begin{matrix} CO—NH\,.\,CO\,.\,NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$.

Die Oxalursäure kommt als Oxydationsprodukt der Harnsäure in minimalen Mengen jedenfalls als oxalursaures Ammonium im Harne vor und ist als Oxalsäure aufzufassen, in der die eine Hydroxylgruppe durch den Harnstoffrest ersetzt ist; unter Einwirkung von Säuren zerfällt sie leicht in Oxalsäure und Harnstoff. Die Oxalursäure hat nur wissenschaftliches Interesse.

Darstellung.

Man filtriert nach Neubauer[1]) 20—50 Liter Harn durch eine relativ kleine Menge gekörnter Tierkohle, die sich in einer pipettenartig geformten Glasröhre von etwa 300 ccm Inhalt befindet; man regelt 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 hie und da erneuert, nimmt oxalursaures Ammonium auf. Die Kohle wird mit destilliertem Wasser bis zur vollständigen Entfernung der Salzsäure und Phosphorsäure gewaschen, getrocknet und mit Alkohol ausgekocht. Den Verdampfungsrückstand nimmt man mit heißem Wasser auf, filtriert und konzentriert die Lösung, worauf sich in der Kälte oxalursaures Ammonium krystallinisch ausscheidet; den krystallinischen Rückstand reinigt man durch mehrmaliges Waschen mit Alkohol und Umkrystallisieren aus der wässerigen Lösung.

Qualitativer Nachweis.

1. Charakteristisch ist das Ammoniumsalz, das in seidenglänzenden, langen, an den Enden zugespitzten Prismen, in schönen Doppelbüscheln oder Rosetten angeordnet, krystallisiert, ferner das oxalsaure Silber, aus zierlichen, aus haarfeinen Nadeln zusammen-

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1868. 7. 225.

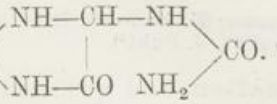
gesetzten Sternen und Rosetten bestehend und das oxalursaure Blei, in wohl ausgebildeten, vierseitigen Prismen mit sechs Endflächen krystallisierend.

2. Beim Vermischen einer verdünnten wässerigen Lösung von oxalursaurem Ammonium 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; unter dem Mikroskope findet man dann die bekannten Quadratoktaeder des oxalsauren Kalkes, der allerdings nur aus verdünnten Lösungen schön krystallisiert erhalten wird. Aus konzentrierten Lösungen scheidet sich oxalsaurer Kalk amorph aus.

Eigenschaften.

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

17. Allantoin. $C_4H_6N_4O_3$ oder



Allantoin, das Diureïd der Glyoxylsäure, ist das Hauptendprodukt des Purinstoffwechsels bei allen Säugetieren, mit Ausnahme von Menschen und den anthropoiden Affen und findet sich im Harne noch säugender Kälber, im leukämischen Blute, in der Allantoisflüssigkeit der Kühe, im Harne der neugeborenen Kinder, im Kindswasser. Im normalen menschlichen Harne soll es in sehr geringen Mengen, nach A. Schittenhelm und K. Wiener höchstens in Zentigrammen in der täglichen Ausscheidung, nach W. Wiechowski etwa 10 mg, im Tagesharne vorkommen. Die Angabe, daß Allantoin in größerer Menge im Harne von schwangeren Frauen sich vorfindet, ist unrichtig.

Die ursprüngliche Annahme, daß die geringen Allantoinmengen im Menschenharne einer minimalen Harnsäureoxydation ihren Ursprung verdanken, hat nach W. Wiechowski ihre Grundlage verloren, da der größte Teil des vom Menschen auch bei sogenanntem purinfreiem Regime ausgeschiedenen Allantoins sicherlich oxogener Natur ist.

Darstellung und quantitative Bestimmung.

1. Nach O. Loewy[1]) wird die Fällbarkeit des Allantoins mit Silberlösung benützt.

Der schwach saure Harn wird mit Quecksilberoxydulnitratlösung, der etwas metallisches Quecksilber beigefügt ist, gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser nachgewaschen und in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wird, nachdem der Schwefelwasserstoff durch Erwärmen entfernt ist, mit Magnesiumoxyd und Silber-

[1]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1900. **44.** 19.

nitratlösung versetzt. Der Niederschlag samt dem im Überschusse zugesetzten Magnesiumoxyd wird nach gründlichem Auswaschen entweder direkt zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl weiter verarbeitet, oder zur Identifizierung des Allantoins mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelsilber wird zur Trockene gebracht, der Trockenrückstand mit heißem Wasser extrahiert, das Extrakt mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällt, der Quecksilberniederschlag neuerdings mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat vom Schwefelquecksilber eingedampft, zur Trockene gebracht und der Rückstand gewogen.

1 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure nach Kjeldahl = 0,0039 g Allantoin.

Beurteilung.

Swain[1]) empfiehlt das angegebene Verfahren als brauchbar.

W. Wiechowski[2]) hat zum Zwecke der Darstellung und des Nachweises, wie der Bestimmung des Allantoins ein sehr eingehendes Verfahren angewendet und beschrieben. Hier muß auf die Literatur hingewiesen werden.

Weitere Literatur: K. Ascher[3]), R. H. A. Plimmer und Ruth F. Skelton[4]), H. Handvosky-Wiechowski[5]), J. Pohl[6]).

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Das Allantoin krystallisiert in großen, wasserhellen, in kaltem Wasser wenig löslichen glänzenden Prismen, in unreinem Zustande in Warzen und Körnern und schmilzt bei 230°. Es verbindet sich mit Säuren und Basen zu Salzen, von denen namentlich die mit Quecksilberoxyd und Silberoxyd wichtig sind. Durch Bleiacetat, Phosphorwolframsäure, Mercuronitrat und Mercurisulfat in schwefelsaurer Lösung wird es nicht gefällt, dagegen entsteht mit Mercurinitrat, mit Mercuriacetat in Natriumacetatlösung und mit Silbernitrat und wenig Ammoniak eine flockige Fällung. Der Stickstoffgehalt beträgt 35,44%.

Beim Erhitzen mit Salzsäure und anderen Säuren zerfällt das Allantoin in Allantursäure und Harnstoff.

Das Allantoin gibt, wie der Harnstoff die Schiffsche 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 Niederschlag von Allantoinsilber. Der gesammelte gewaschene, im

---

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 1902. **6.** 38.

[2]) Beiträge chem. Physiol. Pathol. 1908. **11.** 109; Biochem. Zeitschr. 1909. **19.** 368; 1910. **25.** 431; Neubauer-Hupperts Analyse des Harnes, die Purinstoffe und das Allantoin. S. 905 bis 1080. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1913.

[3]) Biochem. Zeitschr. 1910. **26.** 270.

[4]) Biochem. Journ. 1914. **8.** 70.

[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1914. **90.** 211.

[6]) Biochem. Zeitschr. 1916. **78.** 200.

Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Niederschlag enthält nach dem Glühen 40,71 % Ag.

2. Mit einigen Kryställchen stellt man die Schiffsche Reaktion an (S. 179). Hiebei ist zu bemerken, daß Harnstoff die gleiche Reaktion gibt.
3. Beim Behandeln von etwas Allantoin mit Pepton und konz. Schwefelsäure entsteht eine Violettfärbung, die durch Zusatz eines Tropfens sehr verdünnter Eisenchlorid- oder Platinchloridlösung vertieft wird. Man setzt zur Allantoinlösung ein Stäubchen Wittes Pepton — ja nicht zu viel — und unterschichtet mit konz. Schwefelsäure. Es entsteht dann der violette Ring. Vor dem Spektroskope zeigt die Lösung ein Band im gelben Anteil des Spektrums (Wiechowski, O. Adler, K. Ascher.) Eine für Glyoxylsäure charakteristische Reaktion.
4. Salpetersaures Quecksilberoxyd bewirkt eine Fällung. Bei anhaltendem Kochen wird Fehlingsche Lösung durch Allantoin reduziert.

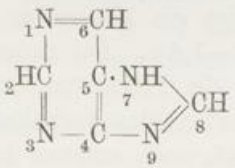
18. Purinkörper. Harnsäure und Purinbasen, Xanthinbasen.

Mit diesem Namen bezeichnet man, seitdem die genialen Untersuchungen E. Fischers[1]) die Ableitung der zu dieser Gruppe gehörenden Substanzen von einer gemeinsamen Muttersubstanz klargelegt haben, eine Gruppe von Verbindungen, die sich von dem Purin ableiten lassen; diese Verbindungen sind fast sämtlich synthetisch dargestellt worden.

Zu diesen Purinkörpern, die früher wegen des in ihnen enthaltenen Alloxankernes Alloxurkörper bezeichnet wurden, gehören die Harnsäure und eine Anzahl von Stoffen, die im tierischen Organismus sich vorfinden und die unter dem seitherigen Namen Xanthinbasen, Nucleinbasen bekannt waren, die man nun aber zweckmäßig als Purinbasen bezeichnen wird.

Die Muttersubstanz, das Purin

$C_5H_4N_4$ oder

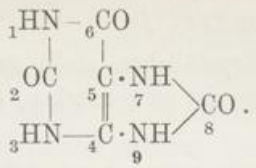


ist eine neungliedrige Kohlenstickstoff-Wasserstoffverbindung, von der sich durch Substitution der Wasserstoffatome die Harnsäure sowohl, wie auch die sämtlichen Purinbasen ableiten und erklären lassen. Das Purin ist gleichzeitig Säure und starke Base, schmilzt bei 216—217°, ist sehr leicht löslich in Wasser und beständig gegen oxydierende Agenzien; bemerkenswert ist die Unlöslichkeit seines Zinksalzes.

[1]) Berl. Bericht. 1899. **32.** 435—504.

A. Die Harnsäure.

$C_5H_4N_4O_3$ oder



Diese ist aufzufassen als ein Trioxypurin und zwar 2,6,8 Trioxypurin.

Im normalen Harne ist sie größtenteils als saures Natriumurat, in nur geringer Menge als freie Harnsäure vorhanden, die jedoch gelöst bleibt, da Harn größere Harnsäuremengen aufzulösen vermag, als Wasser.

Die Harnsäure ist nach dem Harnstoff der wichtigste stickstoffhaltige, regelmäßige Bestandteil des Harnes, der sich auch in verschiedenen anderen Organen (Lunge, Milz, Leber, Blut usw.) vorfindet. Sie wurde zuerst von Scheele aus dem Harne isoliert. Im Harne der Vögel, der Reptilien nimmt die Harnsäure die Stelle ein, wie der Harnstoff im Harne der Säugetiere; sie ist hier das Endprodukt des Stoffwechsels; beim Menschen ist sie das des Purinstoffwechsels; von den Purinbasen wird nur ein geringer Teil durch den Harn ausgeschieden. Der Mensch vermag die in seinem Körper erzeugte und entstehende Harnsäure nicht weiter zu zersetzen, von den meisten Säugetieren wird sie aber fast vollständig zu Allantoin oxydiert, das im Harne zur Ausscheidung kommt.

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, nach anderen 0,7—0,75, 0,2—1,0, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt in hohem Maße von der Menge und der Art der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Nach H. Laveson wird im Durchschnitt bei Männern 0,680 g, bei Frauen 0,502 g, bei Kindern 0,359 g Harnsäure im Tage ausgeschieden. Bei purinfreier Kost ist die Ausscheidung der Harnsäure (der endogenen) für den Tag und das Individuum eine ziemlich konstante Größe. Durch jede purinhaltige Nahrung wird die Ausscheidung erhöht; so wird in ersterem Falle nur 0,3—0,4 g endogene Harnsäure in 24 Stunden ausgeschieden, bei gemischter Kost steigt die Menge bis 0,5—0,7 g und bei sehr reichlicher Fleischnahrung bis 1—1,4 g. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen soll die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes verlaufen; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchschnitt 1 : 45, nach anderen kann es noch höher sein; nach Salkowski ist 1 : 40 die Grenze des Normalen, eine Annahme, die vielleicht nicht ganz begründet ist. Bei der linealen Leukämie kann das Verhältnis z. B. von 1 : 9 beobachtet werden. Das Verhältnis der Harnsäure zum Purinstickstoff ist etwa 8,0—12,0 : 1.

Das Verhältnis der Harnsäure zu den sauren Phosphaten ist normal 0,2—0,35 (Zerners Koeffizient). Die Harnsäure, im Organismus fast vollständig als Monourat vorhanden, fällt als Niederschlag aus, wenn in dem schwach sauren Harne zu wenig saure Phosphate vorhanden sind, es kann

also durch diesen Koeffizienten die Regelmäßigkeit der Harnsäureausscheidung bestimmt werden (Serkowski). Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden bei Zuständen, bei denen ein größerer Zerfall von Körpereiweiß und besonders von purinhaltigem stattfindet, so bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnucleins erklären läßt. Hier — bei Leukämie — können in der Tagesmenge des Urins bis zu 5 g zur Ausscheidung kommen. Die Ansicht, daß im Fieber die Harnsäure zunimmt, scheint widerlegt zu sein, ebenso haben neuere Untersuchungen festgestellt, daß die Harnsäureausscheidung im Harne bei Gichtleidenden für die Diagnose nicht zu verwerten ist, da die gefundenen Mengen der hier ausgeschiedenen Harnsäure gar keine Anhaltspunkte geben. Bei der echten Gicht besteht nach Th. Brugsch[1]) der Konstitutionsdefekt in einer Störung des Purinstoffwechsels mit verschlechterter Ausscheidungsmöglichkeit der Harnsäure. Je stärker der Gichtkranke mit Purinen belastet wird, je stärker ist die Störung, je größer auch die Anhäufung der Harnsäure im Blute mit allen daraus resultierenden Folgeerscheinungen der Harnsäureablagerungen, gegen die der Körper unter bestimmten Bedingungen reaktionsfähig ist. Die Gichtanfälle stellen nur die Reaktion gegen die abgelagerte Harnsäure vor und kommen einem natürlichen Heilungsvorgange gleich. Es wird für wahrscheinlich gehalten, daß für Gicht eine durch Vererbung erworbene (latente) Diathese besteht. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natrium), von coffeinhaltigen Getränken, bei Phosphorvergiftung, von Radiumemanation, besonders bei Atophan wird eine Vermehrung beobachtet. Vermindert wird die Harnsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, nach Genuß verschiedener Medikamente, wie Chinin, Coffein, Antipyrin, Eisen, Blei, Vinum Colchici, Urotropin, Piperazin und dergl. Eine Verminderung findet weiter statt nach Einnehmen von Nährpräparaten, Kochsalz, alkalischen Wässern, nach dem Genusse von Eiern, Milch, Kirschen. Die Harnsäurebildung wird nicht, wie angenommen, allein durch die Milz, sondern vielmehr hauptsächlich durch die Leber und Muskeln betätigt (Meissner, Minkowski); sie wird wohl in dem Zerfalle von nucleinhaltigen Geweben zu suchen sein.

Nach R. Burian[2]) soll die Harnsäure aus dem Hypoxanthin, das im Muskel kontinuierlich gebildet wird, entstehen; es soll nur ein recht kleiner Teil der endogenen Harnpurine aus den Nucleinproteiden, abgestoßenen Zellen, dagegen ein sehr großer Teil aus dem Muskelstoffwechsel hervorgehen. Mit endogener Harnsäure bezeichnen Burian und Schur die bei purinfreier

[1]) Allgemeine Prognostik. Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1922.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **43**. 532.

Kost ausgeschiedene Harnsäure im Gegensatze zu der aus den Nahrungspurinen gebildeten exogenen Harnsäure.

Nach Abderhalden[1]) ist durch Untersuchungen der Beweis erbracht, daß der größte Teil der Harnsäure, wenn nicht alle, auf den Abbau der Nucleinsäuren und ihrer Spaltungsprodukte, und zwar auf den der Purinbasen zurückgeführt werden muß, wobei auch verschiedene Enzyme, sog. Desamidierungsenzyme, Amidasen (Adenase, Guanase), mitwirken sollen. Schon Meissner vertrat diese Anschauung.

Nach Th. Brugsch und A. Schittenhelm kann die Harnsäure nur aus den in den Nucleoproteiden enthaltenen Purinbasen entstehen und niemals aus anderen Quellen, wie den Aminosäuren des Eiweißes. In Betracht kommen die Aminopurine Adenin und Guanin und die bereits Produkte des fortschreitenden Stoffwechsels darstellenden Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin. Zur Abwicklung des Nucleinstoffwechsels im Organismus sind mehrere Fermente nötig (Schittenhelm), so die Nuclease, die die Nucleinsäure aufspaltet und aus ihr die Purinbasen freimacht, die Purindesamidase, die die Aminopurine in Oxypurine überführt, die Xanthinoxydase, die wieder die Oxypurine zu Harnsäure oxydiert und das urikolytische Ferment, das die Harnsäure aufspaltet. Als Quellen für die Purine kommen in Betracht die Fleischnahrung (exogene Harnsäurebildung) und die Zellen des Organismus selbst (endogene Bildung der Harnsäure). Nach F. Smetánka[2]) ist die Harnsäurebildung mit der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen und anderer Organe verbunden; jeder, auch purinfreier, Proteingenuß hat eine erhöhte Harnsäureausscheidung zur Folge.

Bei der Beurteilung der Menge der zur Ausscheidung gelangten Harnsäure hat man in Betracht zu ziehen ihre scheinbare Vermehrung durch übermäßige Arbeit, große Ermüdung, Muskelübung, eine wirkliche Vermehrung nach Leukämie, Lebercirrhose.

Darstellung.

Man gewinnt die Harnsäure am besten nach der beim quantitativen Nachweise angegebenen Methode von Salkowski-Ludwig, auch durch Versetzen des Harnes mit Salzsäure, wie beim Verfahren nach Heintz-Schwanert ausgeführt.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die reine Harnsäure bildet ein weißes, leichtes, geruch- und geschmackloses Pulver, aus rhombischen, durchsichtigen Prismen oder Täfelchen bestehend; aus saurem Harne, ebenso beim Stehenlassen von Harn mit Säuren krystallisiert sie in den verschiedensten, fast stets gelbgefärbten Formen aus (Fig. 38). Dieses Ausscheiden der freien Säure im Harne nach dem Abkühlen findet seine Erklärung in den meisten Fällen in der stattgehabten Umsetzung der sauren Alkalisalze (saure Urate) mit den phosphorsauren

[1]) Lehrbuch der physiol. Chem. Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1906.
[2]) Archiv Physiol. 1911. 138. 217.

Alkalien, indem das saure Phosphat in das Dinatriumphosphat übergeht und die nach Wegnahme eines Teiles des Alkalis des harnsauren Salzes freigewordene Harnsäure sich ausscheidet; daß andere Vorgänge diese Ausscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß darüber noch zu wenig. Die Grundform der Krystalle ist die Wetzsteinform, rhombisches Vertikalprisma; gewöhnlich findet man unter dem Mikroskope große Doppelwetzsteine in Kreuzform, ferner viele miteinander verwachsene, dünnere und längere Wetzsteinformen und Nadeln; häufig finden sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 38); s. auch Sedimente.

Fig. 38. Harnsäure in verschiedenen Formen (250—300fache Vergr.).

Die Harnsäure ist außerordentlich schwer löslich in Wasser, nach den einwandfreien Versuchen von W. His und Th. Paul[1]) bei 18° im Verhältnis 1 : 39480. In wässeriger Lösung verhält sich die Harnsäure als einbasische Säure, es existieren in wässeriger Lösung nur primäre, einfachsaure Salze (Biurate). Bei Anwesenheit von starken Basen ist die Harnsäure imstande, unter Bildung sekundärer Harnsäure-Anionen noch ein zweites H-Ion abzudissoziieren und dann sekundäre (neutrale Urate) zu bilden; diese lassen sich nur in fester Form darstellen, in Lösung existieren nur primäre Salze, die sekundären zerfallen hydrolytisch in freies Alkali und in primäres Urat.

Nach Gudzent soll die Harnsäure zwei Reihen primärer Salze bilden, die sich durch ihre Löslichkeitsverhältnisse unterscheiden; die eine (erste) Reihe (a-Salze) soll nach der Lösung infolge einer intramolekularen Umlagerung von der Laktim- in die Laktamform langsam in b-Salze übergehen; die a-Salze sind leichter löslich, die b-Salze beständiger. Die Salze der alkalischen Erden und der meisten Schwermetalle sind sehr schwer löslich; durch salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure (Hupperts Reaktion), auch durch konzentrierte alkoholische Pikrinsäurelösung wird die Harnsäure vollkommen gefällt. Mit Phosphormolybdänsäure entsteht ein krystallisierter, blauer, metallisch glänzender Niederschlag, unterm Mikroskope aus Prismen bestehend. 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 warmem Glycerin und in Salzlösungen (Borax, kohlensaure, phosphorsaure und essigsaure Alkalien, Lithiumsalze) bei Gegen-

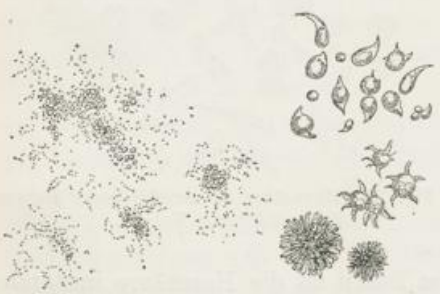
[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900/1901. **31.** 41.

wart von Harnstoff, sowie bei Anwesenheit mehrerer organischer Basen, Piperidin, Piperazin, Äthyl- und Propylamin.

Erhitzt zersetzt sich die Harnsäure unter Bildung von Harnstoff, Cyanursäure, kohlensaurem Ammonium und Blausäure; mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure; in neutraler oder alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat, Bleisuperoxyd, Braunstein, Ferricyankalium, Natriumperoxyd u. a. behandelt wird die Harnsäure in Kohlensäure und Allantoin übergeführt; Fehlingsche Lösung wird aus dem gleichen Grunde reduziert (s. Nachweis).

Bei Einwirkung von Natriumhypobromit während längerer Zeit wird etwa die Hälfte des Stickstoffes als Gas abgespalten.

Aus saurem Harne sondern sich beim Stehen gerne saure harnsaure Sedimente ab; saures harnsaures Kalium oder Natrium finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch Uroerythrin, Urochrom, Urobilin noch ziegelrot oder schmutziggelb — wenn die zwei letztgenannten Farbstoffe in Betracht kommen — gefärbt erscheinen (Fieberharn — sedimentum lateritium —), manchmal auch als gelbes, selten weißes Sediment und bilden unter dem Mikroskope moosförmig gruppierte, kleine amorphe Körnchen, bisweilen auch Kugeln und Biskuitformen (Fig. 39).



Harnsaures Natron (etwa 200fache Vergr.) Harnsaures Ammon (etwa 350fache Vergr.)
Fig. 39.

Nach R. Kohler[1]) bilden den Hauptbestandteil des Sedimentum lateritium die Quadriurate, Gemische von primärem Urat mit Harnsäure. Diese sog. Quadriurate oder Tetraurate existieren als Verbindungen nicht.

Die aus den harnsauren Salzen bestehenden Sedimente lösen sich beim schwachen Erwärmen leicht, fallen aber beim Erkalten wieder aus. Das harnsaure Ammonium findet sich im Sedimente von alkalischem Harne in Form gelbgefärbter kugeliger, auch mit Stacheln besetzter Massen; dieses Salz kommt in Phosphatsteinen und Blasenkonkrementen vor (Fig. 39). Aus einer vermehrten Harnsäureausscheidung darf nicht auf eine vermehrte Harnsäuresekretion geschlossen werden.

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 völlig eintrocknen, so bleibt meistens schon ein rotgefärbter Rückstand, der auf Zusatz von wenig

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **70.** 360; Münch. med. Wochenschr. 1914. **61.** 1249.

Ammoniak — man bläst am besten Ammoniakdämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, die 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 Kalium. (Murexidprobe von Liebig und Woehler.)

Wird der Verdampfungsrückstand einer Spur Harnsäure mit Salpetersäure oder Bromwasser (Überführen der Harnsäure in Alloxan) mit einigen Kubikzentimetern konzentrierter Schwefelsäure und einigen Tropfen thiophenhaltigen Benzols versetzt und gemischt, so entsteht eine schöne blaue Färbung (G. Denigès).

Bei der Probe nach Denigès darf man das Abrauchen der Salpetersäure, wenn man diese in Anwendung zieht, nicht bis zum Eintreten der Rotfärbung fortsetzen.

2. Ein empfindliches Reagens auf Harnsäure empfehlen O. Folin und W. Denis.[1])

100 g wolframsaures Natrium und 80 ccm 85%iger Phosphorsäure werden mit 750 g Wasser zwei Stunden lang am Rückflußkühler gekocht; man läßt erkalten und verdünnt auf 1 Liter. Wenn man 1—2 ccm einer Harnsäurelösung mit 1—2 ccm des Reagens vermischt und im Überschusse gesättigte Sodalösung, 3—10 ccm, zugibt, so entsteht eine blaue Färbung. Das Verfahren wurde zu einem quantitativen, colorimetrischen empfohlen.

3. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn diese nicht im Überschusse vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschusse von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoin oxydiert wird (Babo).

Beurteilung.

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

Auch die Schiffsche 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 Natrium, so entsteht ein schwarzer Fleck) ist mit Vorsicht aufzunehmen, da diese Reaktion durch eine Reihe anderer Stoffe ebenfalls hervorgebracht werden kann.

Ganassinis Probe beruht darauf, daß eine schwach alkalische Harnsäurelösung mit einem löslichen Zinksalz eine weiße Fällung gibt, die auf einem Filter gesammelt allmählich durch Oxydation besonders im Sonnenlichte lichtblau gefärbt wird.

4. Prüfung unter dem Mikroskope (Fig. 38 u. Sedimente).

Die quantitative Bestimmung der Harnsäure.

Diese Bestimmung ist wohl nur von Wert, wenn sie in einem Teile der sorgfältig gesammelten, in 24 Stunden entleerten Harnmenge und öfters

[1]) Journ. of Biol. Chem. 1912. **12.** 239.

vorgenommen wird und wenn der Puringehalt der eingenommenen Nahrung bekannt ist, im Falle nicht von seiten des Arztes andere Wünsche bestehen. Ausgeschiedene freie Harnsäure, die sich beim Erwärmen nicht löst, muß berücksichtigt werden. Man filtriert eine Durchschnittsprobe und bestimmt die abgeschiedene Harnsäure gesondert. Diese Menge ist der gelöst vorhandenen und bestimmten Harnsäure zuzuzählen.

1. Methode nach Heintz-Schwanert.[1])

Bedingungen.

Eiweißhaltiger Harn muß erst vom Eiweiß befreit werden (s. S. 36), ebenso kann auch zuckerhaltiger Harn keine Verwendung finden, da sich die Harnsäure hier nur unvollkommen abscheidet.

Von sehr verdünntem Harne verwendet man 400 ccm und dampft diese auf die Hälfte ein; von Harn mit einem spez. Gew. von 1,020 genügen 200 ccm, von noch konzentrierterem 100 ccm. Hat sich im Harne, worauf vom Beginne jeder Bestimmung besonders zu achten ist, ein Harnsäure enthaltendes Sediment (Urate) abgesetzt, so ist dieses durch Einstellen der Flasche usw. in heißes Wasser wieder in Lösung zu bringen; nach dem Abkühlen des Harnes auf die gewöhnliche Temperatur mißt man erst ab. Über abgeschiedene freie Harnsäure s. oben.

Ausführung.

200 cmm Harn werden in einem Becherglase mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt, 36—48 Stunden an einem kühlen Orte stehen gelassen und die ausgeschiedenen Krystalle auf einem bei 105—110° getrockneten und gewogenen Filter oder zweckmäßiger im Goochschen Tiegel gesammelt; nach dem Auswaschen mit kaltem Wasser — man soll möglichst wenig Wasser (30 ccm) 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.

D. Sauzeat[2]) macht in einer Kritik der Verfahren der Bestimmung der Harnsäure und Xanthinbasen aufmerksam, daß bei der Bestimmung der Harnsäure durch direkte Fällung mit einer Säure die vorherige Entfernung der Phosphate und Mucine erforderlich ist. Er läßt dies durch Zugabe von 25 ccm einer Uranacetatlösung (5 g Uranacetat, 60 ccm 30%ige Essigsäure zu 1 Ltr. mit Wasser) zu 100 ccm Harn bewerkstelligen. 100 ccm des Filtrates werden dann nach dem genauen Neutralisieren mit Natronlauge mit 10 ccm 25%iger Salzsäure versetzt; die nach 48stündigem Stehen abgeschiedene Harnsäure wird gesammelt usw. Siehe Verfahren von 4a und b.

2. Methode von Salkowski-[3])Ludwig[4]) mit den von O. Folin und Ph. A. Shaffer[5]) angegebenen Abänderungen.

Prinzip.

Es wird die Harnsäure als Silbermagnesiasalz ausgefällt und die aus der Silberfällung freigemachte Säure entweder gewogen, nach Kjeldahl bestimmt oder titriert; eiweißhaltiger Harn muß vom Eiweiß befreit werden; bei zuckerhaltigem Harne ist das Verfahren nicht gut anwendbar.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1864. **130.** 179 und 1872. **163.** 153.

[2]) Journ. Pharm. et Chim. 1912 [7]. **5.** 164. 445. 485.

[3]) Archiv Physiol. 1872. **5.** 210; Centralbl. med. Wissenschaft. 1894. **32.** 514; Archiv Physiol. 1898. **69.** 268.

[4]) Wien. med. Jahrb. 1884. 597. Zeitschr. analyt. Chem. 1885. **24.** 637.

[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 552.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung.

Man löst 26 g Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser, gibt 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 danach riecht, und dann so viel kalt gesättigte Chlorammoniumlösung, bis der entstandene Niederschlag von Magnesiahydrat wieder gelöst wird; man füllt bis zur Marke auf. Die Lösung muß klar sein.

3. Schwefelalkalilösung nach Ludwig.

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

4. Schwefelwasserstoff nach Salkowski.

Die von O. Folin und Ph. A. Shaffer angebrachten Abänderungen sind an den betreffenden Stellen angefügt.

Ausführung.

Der bis zum spezifischen Gewichte von 1,020 verdünnte Harn — man verwendet 200 ccm — wird unter Umrühren in einem Becherglase mit einer Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, die man vorher in einem Becherglase gemischt und mit so viel Ammoniak versetzt hatte, daß das ausgeschiedene Chlorsilber sich wieder löste, versetzt und $^1/_2$—1 Stunde ruhig stehen gelassen.

Salkowski scheidet erst durch 50 ccm der Magnesiamischung zu 200 ccm Harn die Phosphate ab, füllt zu 300 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und filtriert sofort durch ein Faltenfilter 225 ccm = 150 ccm Harn ab; dieses Filtrat wird mit 15 ccm einer 3%igen ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man sich nach dem Absetzen des Niederschlages überzeugt, daß die Flüssigkeit Silber im Überschusse enthält. Folin und Shaffer fanden, daß das zuerst angegebene, von Ludwig stammende Verfahren das richtigere ist, da durch das Magnesiumphosphat immer etwas Harnsäure mitgerissen wird, auf 100 ccm normalen Harnes im Mittel etwa 0,002 g Harnsäure.

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 Filterrückstand mit Hilfe der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurückgebracht; das Filter soll man nicht verletzen. Nun säuert man nach Salkowski mit Salzsäure an und leitet in die ungefähr 200—250 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlage der harnsauren Silbermagnesia bis zur Sättigung Schwefelwasserstoff ein und zwar, nachdem man vorher (nach Shaffer und Folin) 5—10 ccm einer 1%igen Kupfersulfatlösung zugesetzt und die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt hat. Das Kochen wird einige Minuten nach der Sättigung mit Schwefelwasserstoff fortgesetzt und die heiße Flüssigkeit durch das schon benutzte Filter vom Silbersulfid abfiltriert; der Niederschlag wird mit heißem Wasser ausgewaschen.

Auf diese Weise erhält man vollkommen klare Filtrate, aus denen sich durch das nachherige Eindampfen kein Silbersulfid mehr abscheidet; nach Ludwig wird, aber weniger zweckmäßig, in alkalischer Lösung durch Schwefelalkalilösung entsilbert; es werden 20 ccm dieser Lösung mit der gleichen Menge Wassers verdünnt und zum Sieden erhitzt; diese Lösung wird durch das bereits benützte Filter in das Becherglas mit dem Niederschlage filtriert. Man wäscht mit heißem Wasser nach, erwärmt 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 Krystalli-

sier- oder Porzellanschale; bei diesem Verfahren ist es mißlich und schwierig, alles Silbersulfid aufs Filter zu bringen; beim späteren Eindampfen scheidet sich manchmal noch Silbersulfid aus, auch kann durch das Schwefelalkali leicht eine Spur Harnsäure zersetzt werden.

Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbade in einer Porzellan- oder Krystallisierschale (auch Becherglas) bis auf wenige Kubikzentimeter (etwa 10 ccm) ein, fügt 5—10 Tropfen Salzsäure hinzu, läßt 12 Stunden stehen und sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag entweder auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter oder im Goochschen Tiegel, oder in einem mit Asbest gefüllten sog. Zuckerröhrchen (Allihn), indem man das Filtrat benutzt, um die letzten Teile der ausgeschiedenen Harnsäure aufs Filter zu bringen. Man wäscht schließlich mit kleinen Mengen Wasser nach, bis das Filtrat keine Chlorreaktion mehr gibt und mißt die Menge des Filtrates und des Waschwassers, die zusammen nicht mehr wie 50—60 ccm betragen sollen. Man wäscht noch 2mal mit absolutem Alkohol, dann mit Äther und wägt nach dem Trocknen.

Hat man nach Ludwig mit Schwefelalkali gearbeitet, dann wäscht man den Filterrückstand nach dem Waschen mit Alkohol einige Male mit frisch rektifiziertem Schwefelkohlenstoff und hierauf mit Äther.

Für je 10 ccm Waschwasser hat man noch 0,00048 g Harnsäure der gewogenen hinzuzuzählen.

Die abfiltrierte Harnsäure kann man auch nach Kjeldahl verbrennen und den Stickstoffgehalt bestimmen (S. 169). Ebstein, Bödtker, Geelmuyden führten in dieser Weise die Bestimmung aus. Stickstoff·3 = Harnsäure.

Folin und Shaffer, ebenso G. H. Poulin[1]) empfehlen, die Harnsäure zu titrieren, statt zu wägen; man braucht dann gar nicht die letzten Spuren Harnsäure auf das Filter zu bringen, sondern kann diese direkt in das Becherglas spülen, mit Hilfe von ein wenig Natronlauge (man verwende kein durch Alkohol gereinigtes Ätznatron) lösen und nach Schwefelsäurezusatz mit Permanganat titrieren (S. 220).

Beurteilung.

Die Methode liefert, in der angegebenen Weise vorgenommen, recht gute Resultate. Xanthin wird auch als Silberverbindung ausgefällt, auch ist dieses in Wasser schwer löslich, so daß ein Teil als Harnsäure gewogen wird; doch ist dieser Fehler bei den geringen vorhandenen Mengen an Xanthin im Harne nicht von Belang.

3. Methode der Harnsäurebestimmung durch Wägen der Harnsäure nach F. G. Hopkins.[2])

Prinzip.

Die Harnsäure wird als Ammoniumurat abgeschieden und die aus dieser Verbindung freigemachte Harnsäure zur Wägung gebracht.

100 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 30 g pulverisiertem reinem Ammoniumchlorid versetzt — das Ammoniumurat ist nur in einer ganz oder nahezu ganzgesättigten Ammoniumchloridlösung unlöslich —; das Salz wird durch Umrühren mit einem Glasstabe in Lösung gebracht und

[1]) Thèse de Lille 1901; Zeitschr. analyt. Chem. 1902. **41.** 392.
[2]) Proc. of the Lond. roy. Soc. 1893. **52.** 93.

das Becherglas mit Inhalt über Nacht (— die meist angegebene Zeit von $1^1/_2$—2 Stunden reicht nicht aus —) an einem kühlen Orte stehen gelassen. Das nach dieser Zeit abgeschiedene Ammoniumurat wird auf einem Filter gesammelt, hiebei wird aber die überstehende Flüssigkeit zuerst vorsichtig, ohne den Niederschlag aufzurühren, durch das Filter gegossen — es kommt vor, daß das Ammoniumurat anfangs auf der Flüssigkeit sich befindet, durch gelindes Schütteln und Bewegen des Becherglases fällt das Urat zu Boden — und der Niederschlag mit einer kaltgesättigten Chlorammoniumlösung oder einer 10%igen Ammoniumsulfatlösung (s. Beurteilung) nachgewaschen. Den Inhalt des Filters spritzt man nach dem Durchstoßen des Filterchens mit Wasser in eine Porzellanschale oder in ein kleines Becherglas, gibt etwa 2 ccm 25%iger Salzsäure hinzu, dampft auf etwa 10—15 ccm auf dem Wasserbade ein, läßt erkalten und sammelt die ausgeschiedene Harnsäure in der S. 218 angegebenen Weise. Nach dem Trocknen des Filters mit Inhalt bei 105—110° wird gewogen. Für je 15 ccm Filtrat — dieses kann man zweckmäßig in einem graduierten Zylinder auffangen — hat man dem Gewichte der Harnsäure 1 mg zuzuzählen.

Beurteilung.

Diese Methode ist einfach in der Ausführung und gibt gute Resultate; die Acidität des Harnes darf keine zu große sein, sonst fällt das Ammoniumurat nicht aus; man wird stark saure Harne so weit neutralisieren, daß nur schwach saure Reaktion vorliegt. In dem auf dem Filter gesammelten Ammoniumurat kann die Harnsäure auch titrimetrisch bestimmt werden. Es muß aber dann das Ammoniumurat auf dem Filter mit 10%iger, von Chlor und Ferrosalz vollkommen freier Ammoniumsulfatlösung solange ausgewaschen werden, bis das Filtrat chlorfrei ist, da Salzsäure bei der Titration mit Permanganat bekanntlich stört. (Siehe Methode Nr. 4, a).

Eine größere Anzahl von Arbeiten beschäftigt sich mit der Abscheidung der Harnsäure aus dem Harne in Form ihres Zinksalzes, so M. Siegfried[1]), Bellocq[2]), D. Sauzeat[3]), E. Salkowski[4]), M. Kashiwabara[5]), F. Lucien, F. L. Morris[6]). Die Verfahren gipfeln darin, daß aus dem schwach alkalisch gemachten Harne durch Zinksulfat, auch Zinkchlorid die Harnsäure ausgefällt und aus dem ausgewaschenen Zinkurat durch Salzsäure die freie Harnsäure abgeschieden wird, die entweder zur Wägung kommt oder titrimetrisch bestimmt wird.

Vorteile vor den Verfahren, bei denen die Abscheidung der Harnsäure in Form des Ammoniumsalzes erfolgt, besitzen diese Verfahren kaum.

4. Titrimetrische Bestimmungsmethoden.

a) Titrimetrische Bestimmung nach Hopkins, modifiziert von O. Folin und Ph. A. Shaffer.[7])

Prinzip.

Die Harnsäure wird als Ammoniumurat abgeschieden und dieses nach Zusatz von Schwefelsäure mit Permanganat titriert.

Allgemeines über die Methode.

Folin und Shaffer haben die Hopkinsche Ammoniumsulfatmethode in der nachstehenden Weise gestaltet, nachdem sie im Laufe zahlreicher Untersuchungen den Grund gefunden hatten, weshalb es bei manchen Harnen unmöglich war, die nach Salkowski oder Hopkins ermittelten Werte auch durch direktes Titrieren der Ammoniumsalzfällungen zu erhalten; der Grund war

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **24.** 398.
[2]) Journ. Pharm. Chem. 1900. **12.** 103.
[3]) Journ. Pharm. et Chim. 1912. [7]. **5.** 164. 445. 485.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **85.** 346.
[5]) Ebenda 1913. **84.** 223.
[6]) Journ. Biol. Chem. 1919. **37.** 231.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 552.

der, daß ein in manchen Harnen vorkommender Körper — die Verf. nehmen an, daß es sich vielleicht um die von K. Mörner erwähnte Mucoidsubstanz handelt, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein kann — durch geringe Mengen Ammoniumsalze gefällt wird und auch Kaliumpermanganat reduziert. Sie haben durch Versuche mit diesem isolierten Körper gefunden, daß er durch Ammoniumchlorid quantitativ gefällt wird, daß er in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich ist und die Biuretreaktion gibt; in saurer Lösung wird er durch Ammoniumsulfat gefällt, indem bei solchen Harnen eine flockige, allerdings schwer sichtbare Fällung entsteht. Da dieser Körper sich schwer filtrieren läßt, so muß in der sauren Lösung gleichzeitig noch ein anderer Niederschlag erzeugt werden, um das Filtrieren zu erleichtern; eine solche gut abzufiltrierende, bei saurer Reaktion entstehende Fällung wird durch Zusatz von etwas Uranacetat erzeugt. Die Ammoniumsulfatmethode gestaltet sich nun in folgender Weise.

Erforderliche Lösungen.

1. 500 g Ammoniumsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10%iger Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm Wasser gelöst. Das Volumen der so erhaltenen Lösung ist fast genau 1 Liter.

2. 10%ige Ammoniumsulfatlösung.

3. $^{n}/_{20}$ Permanganatlösung.

Ausführung.

75 ccm der Lösung 1 werden mit 300 ccm Harn gemischt und in einem nicht zu weiten Zylinder 5 Minuten stehen gelassen, worauf man durch ein Faltenfilter filtriert und 125 ccm vom Filtrate = 100 ccm Harn in ein Becherglas abmißt. Dem Becherglasinhalte setzt man 5 ccm konzentrierten Ammoniaks zu und läßt die Lösung nach dem Umrühren bis zum nächsten Tage stehen. Von dem nun am Boden des Becherglases abgesetzten Ammoniumurat wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig auf ein Filter (Schleicher u. Schüll Nr. 597) gegossen, zuletzt wird das Ammoniumurat mit 10%iger Ammoniumsulfatlösung auf das Filter gespült und einige Male gewaschen. Den Inhalt des Filters spritzt man mit Wasser in das Becherglas, und zwar empfiehlt es sich, beim Zurückspülen des Urates in das Becherglas das Filter zuerst aus dem Trichter zu nehmen und zu öffnen, anstatt dasselbe nur mit dem Glasstabe zu durchstoßen. Dem Ammoniumurat, in annähernd 100 ccm Wasser aufgeschlemmt, wird 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt und die erhaltene Lösung sogleich mit $^{1}/_{20}$n-Permanganatlösung (1,582:1 Liter) titriert. Gegen das Ende der Titration ist es zweckmäßig, die Kaliumpermanganatlösung in Portionen von je 2 Tropfen zufließen zu lassen, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist.

1 ccm $^{1}/_{20}$ n-Permanganatlösung = 0,00375 g Harnsäure.

Die Permanganatlösung kontrolliert man mit Oxalsäure. Eine Korrektur von 3 mg Harnsäure für je 100 ccm des angewendeten Harnes ist wegen der Löslichkeit des Ammoniumurates anzubringen, 3 mg sind der gefundenen Harnsäure zuzuzählen.

Beurteilung.

Die von den Autoren erhaltenen Zahlen stimmen mit den nach der Methode von Salkowski-Ludwig erhaltenen überein. Ich habe ebenfalls gute Resultate mit dieser Methode erzielt. Am besten führt man die Bestimmung doppelt aus; man mißt vom Filtrate noch weitere 125 ccm (= 100 ccm Harn) ab und verfährt, wie angegeben.

Ikterische Harne — überhaupt stark gefärbte Harne — müssen zuerst durch Zusatz von etwas Eiweißlösung und Aufkochen entfärbt werden.

b) Aufrecht[1]) läßt 25 ccm eiweißfreien Harn auf etwa 5 ccm auf dem Wasserbade eindampfen und diesen Rückstand in ein von Goedecke u. Cie. in Berlin N. zu beziehendes Zentri-

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. 627 u. 1911. 48. 879.

fugenröhrchen füllen und mit Wasser bis zur Marke U nachspülen; bis zur Marke R wird eine gesättigte Lösung von Ammoniumchlorid (35 : 100) zugefügt. Nach dem Mischen und Abkühlen wird etwa 3—5 Minuten lang zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird vorsichtig abgegossen, das Sediment mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals zentrifugiert; man gießt die klare Flüssigkeit ab und wiederholt dieses Waschen und Zentrifugieren mit Ammoniumsulfatlösung noch einige Male, um den Niederschlag chlorfrei zu erhalten; den aus Ammoniumurat bestehenden Niederschlag löst man in etwa 10 ccm einer erwärmten 1%igen Natriumcarbonatlösung, spült das Röhrchen gut nach, säuert mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure an, erhitzt zum Sieden und titriert rasch mit $^1/_{100}$ n-Permanganatlösung bis zur Rotfärbung. 1 ccm $^1/_{100}$ Lösung = 0,74 mg Harnsäure. Eiweiß muß vorher durch Essigsäure in bekannter Weise abgeschieden werden. Harne, die sog. Mucoidstoffe enthalten, die auch durch Ammoniumchloridlösung gefällt werden, sind erst von diesen zu befreien; man läßt 100 ccm Harn mit 25 ccm einer sauren Ammoniumsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammoniumsulfat, 5 g Uranacetat, 60 ccm 10%iger Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm Wasser gelöst) 5 Minuten stehen und nimmt vom Filtrate 25 ccm (= 20 ccm Harn), die man mit 1 ccm 10%igen Ammoniaks versetzt und auf etwa $^1/_5$ eindampft; dann verfährt man weiter, wie angegeben.

Nach G. Gregor[1]) ist dieses Verfahren für eine rasche und annähernde Bestimmung brauchbar. Nach A. Stephan[2]) werden durch die Anwesenheit von Mucoidsubstanzen im Harne Fehler entstehen können. R. Schmiedel[3]) hält das Aufrechtsche Verfahren für das für die Praxis am meisten geeignete.

c) G. Guerin[4]) verfährt in folgender Weise:

In 100—125 ccm Harn löst man 1 g trockenes Natriumcarbonat und filtriert. Man erhält einen Niederschlag von Erdphosphaten, dessen Volumen etwa so groß ist, wie die Volumenvermehrung durch den Sodazusatz.

Zu 100 ccm des Filtrates gibt man 25 ccm einer Lösung von 50 g Ammoniumnitrat in Wasser zu 100 ccm, fügt 5 ccm Ammoniak hinzu und läßt über Nacht stehen; das abgeschiedene Ammoniumurat wird auf einem Filter gesammelt, mit einer 10% Ammoniumnitrat und 1% Ammoniak enthaltenden Lösung nachgewaschen und der Niederschlag mit ungefähr 100 ccm Wasser in einen Erlenmeyerkolben gespült. Nach Zugabe von 40 ccm $^1/_2$ n-Schwefelsäure erhitzt man auf 50° und fügt Permanganatlösung (1,5 g : 1 Ltr.) unter Umrühren bis zur Rotfärbung hinzu. Verbrauchte Kubikzentimeter Permanganatlösung mit 0,00356 multipliziert = Harnsäure in 100 ccm Harn.

Im Harne ausgeschiedene Harnsäure muß selbstverständlich durch Erwärmen des Harnes gelöst werden.

d) Die nach Hopkins Methode abgeschiedene Harnsäure kann auch durch Titrieren mit einer $^1/_{20}$ n-Piperidinlösung nach Tunnicliffe und Rosenheim[5]) bestimmt werden. Die Bestimmung ist eine genaue.

Erforderliche Lösung.

Eine $^1/_{20}$ n-Piperidinlösung, im Liter 4,25 g Piperidin enthaltend; man stellt die Lösung unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator mit einer $^1/_{20}$ oder $^1/_{10}$ n-Säure ein.

Ausführung.

Man erhitzt die abgeschiedene, mit Alkohol gewaschene Harnsäure in einem Becherglase mit ungefähr 15—20 ccm heißen Wassers, setzt einige Tropfen Phenolphthalein zu und titriert die heiße Flüssigkeit mit der $^1/_{20}$ n-Piperidinlösung, bis vollkommene Lösung der Harnsäure erfolgt ist und die Flüssigkeit eine bleibende Rotfärbung zeigt.

1 ccm $^1/_{20}$ n-Piperidinlösung = 0,0084 g Harnsäure.

Die Harnsäure kann man auch mit Lauge gegebenenfalls nach vorherigem Versetzen mit neutralisiertem Formaldehyd (Soerensen) unter Verwendung von Methylorange als Indikator titrieren. Die Harnsäure reagiert hiebei als einbasische Säure, 1 ccm $^n/_{10}$ Lauge = 0,0168 g Harnsäure.

F. Flatow empfiehlt in ähnlicher Weise vorzugehen.

e) Nach C. A. Ronchèse[6]):

Prinzip.

Die Methode beruht darauf, daß Harnsäure in Gegenwart von Borax, Kalium- oder Ammoniumcarbonat bei gewöhnlicher Temperatur durch Jod oxydiert wird.

1 Mol. Harnsäure = 2 Mol. Jod.

---

[1]) Zeitschr. allgem. österr. Apoth.-Ver. 1912. **50.** 531.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1911. **48.** 837.
[3]) Südd. Apoth.-Ztg. 1914. **54.** Nr. 1.
[4]) Journ. d. Pharm. et Chem. 1906. [6] **23.** 516.
[5]) Zentralbl. Physiol. 1897. **11.** 434.
[6]) Journ. d. Pharm. et Chem. 1906. [6] **23.** 336.

Ausführung.

Man versetzt 100 ccm Harn mit 15 ccm Ammoniak und 15 g Chlorammonium und läßt $^1/_2$ Stunde stehen. Man filtriert das ausgeschiedene Ammoniumurat ab, wäscht den Niederschlag mit einer Lösung, aus 150 ccm Ammoniak, 150 g Chlorammonium und 700 g Wasser bestehend, aus, spritzt ihn vom Filter ab, suspendiert ihn in Wasser und bringt ihn durch etwas verdünnte Essigsäure in Lösung. Zur Lösung gibt man 20 ccm einer gesättigten Lösung von Borax und Kaliumbicarbonat und titriert mit einer $^1/_{10}$ n-Jodlösung und nach Zusatz von Stärkelösung in bekannter Weise, bis die Flüssigkeit deutlich blau gefärbt ist.

Verbrauchte Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-Jodlösung . 0,084 + 0,01 = die im Liter Harn enthaltene Harnsäure.

Beurteilung.

Zum Absetzenlassen des Ammoniumurates muß man länger stehen lassen. Ob die Methode genaue Werte gibt, ist zu bezweifeln.

P. P. Pizzorno[1]) empfiehlt eine ähnliche Methode, ebenso Repiton. Nach H. Caron[2]), C J. Reichardt[3]), T. Gigli[4]) sind diese Verfahren nicht fehlerfrei.

f) Titrimetrische Bestimmung der Harnsäure für klinische Zwecke durch Formoltitration nach A. Kowarsky.[5])

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Abscheidung der Harnsäure als Ammoniumurat nach Hopkins (S. 218); die Menge des durch die Harnsäure gebundenen Ammoniaks wird durch Formoltitration bestimmt und aus dem Ergebnis die Harnsäure berechnet.

Ausführung.

Man bringt 5—6 ccm Harn in ein Reagenzglas, setzt eine kleine Messerspitze Natriumcarbonat hinzu zur Erzielung einer schwach alkalischen Reaktion und erwärmt bis zum Aufkochen; hierauf wird abgekühlt und filtriert; vom klaren Filtrate mißt man mit einer Pipette genau 2,0 ccm ab, bringt sie in ein trockenes Zentrifugenglas und setzt 0,6 g Ammoniumchlorid hinzu, am besten mit Hilfe eines Trichters, damit die kleineren Krystalle nicht an den Wänden des Glases hängen bleiben. Man rührt leicht um, bis sich alles gelöst hat und läßt 2—4 Stunden stehen. Dann wird kräftig abzentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen und durch etwa 5 ccm 25%iges Ammoniumchlorid ersetzt, wobei das Sediment vor dem Zusatze der Lösung mit einem dünnen Glasstab aufgewirbelt wird; der Glasstab wird beim Zusatze der Lösung mit dieser abgespült. Es wird wieder zentrifugiert und das Sediment in derselben Weise mit etwa 9—10 ccm Aceton-Alkohol (gleiche Teile) ausgewaschen. Nach dem Zusatze von Aceton-Alkohol wird besonders gut mit dem Glasstabe umgerührt, um das ausgeschiedene Ammoniumchlorid wieder aufzulösen. Man wiederholt das Auswaschen des Sedimentes mit Aceton-Alkohol, bis die abgegossene Flüssigkeit mit einer Silbernitratlösung keine Spur von Trübung gibt. Mit dem auf diese Weise vom Ammoniumchlorid befreiten harnsauren Ammonium wird jetzt die Formoltitrierung ausgeführt.

Man bringt in ein zweites Zentrifugengläschen 5 Tropfen Formalin, setzt einen Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und tropft aus einer Bürette solange $^n/_{200}$ Natronlauge hinzu, bis eine bleibende Rosafärbung eingetreten ist; zu dem Ammoniumuratniederschlage im ersten Röhrchen setzt man tropfenweise heißes Wasser bis zur Auflösung und fügt einen Tropfen Phenolphthalein und $^n/_{200}$ Natronlauge bis zur bleibenden Rosafärbung hinzu. Hierauf gießt man das neutralisierte Formalin in das Röhrchen mit neutraler Ammoniumuratlösung; es tritt Entfärbung ein. Jetzt notiert man den Stand der Bürette (sie muß in 0,05 ccm eingeteilt sein) und titriert die farblose Flüssigkeit bis zum Auftreten einer bleibenden Rosafärbung. Multipliziert man die Zahl der verbrauchten ccm $^n/_{200}$ Natronlauge mit 0,42, so erhält man den Promillegehalt der Harnsäure im Harne. Die $^n/_{200}$ Natronlauge muß aus einer $^n/_{10}$ Lauge frisch hergestellt werden.

Ein früher von Kowarsky[6]) angegebenes Verfahren beruhte auch auf der Abscheidung der Harnsäure nach Hopkins und auf der Bestimmung der durch Salzsäure freigemachten Harnsäure mit einer $^n/_{50}$ Piperidinlösung nach Tunicliffe und Rosenheim.

g) Sicuriani[7]) löst das aus 150 ccm erwärmten Harns nach Zusatz von 5 g Chlorammonium und $1^1/_2$stündigem Stehen abgeschiedene Urat, nachdem dieses auf einem Filter gesammelt und

---

[1]) Boll. chim. farm. 1911. **50.** 237; Chem. Ztg. Rep. 1911. **35.** 402.

[2]) Annal. chim. anal. appl. 1912, **17.** 123.

[3]) Pharm. Ztg. 1911. **56.** 922.

[4]) Boll. chim. Pharm. 1912. **51.** 30.

[5]) M. Klopstock u. A. Kowarsky, Praktikum der klinischen Untersuchungsmethoden. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1920.

[6]) Deutsch. med. Wochenschr. 1906. **32.** 997.

[7]) Archiv Farmacol. sperim. 1909. **8.** 55; Pharm. Centrlh. 1910. **51.** 174.

mit 96%igem Alkohol ausgewaschen ist, in 50 ccm siedender $^1/_{10}$ Normallauge, wäscht mit heißem Wasser nach und erhitzt die Lösung, bis die entweichenden Dämpfe rotes Lackmuspapier nicht mehr bläuen. Nach dem Abkühlen wird mit $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator zurücktitriert. Verbrauchte Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-Lauge . 0,056 ergibt die im Liter Harn vorhandene Harnsäure.

Beurteilung.

Der Chlorammoniumzusatz ist ein viel zu geringer, das Ammoniumurat ist nur in ganz gesättigter Ammoniumchloridlösung unlöslich.

F. Herles verfährt in ähnlicher Weise, ebenso M. Bernard[1]); er läßt aber zweckmäßiger 10 ccm Harn, der gegebenenfalls vorher von Eiweiß befreit ist, mit 4 g Ammoniumchlorid versetzen und mindestens 3 Stunden stehen; der Niederschlag wird wie bei Sicuriani weiterbehandelt; zur Lösung werden 30 ccm $^n/_{10}$ Lauge verwendet.

h) F. Mallet[2]) versetzt 100 ccm Urin mit 10 ccm einer Sodalösung (160 : 1 Liter) zur Entfernung der Phosphate, filtriert und fällt die Harnsäure, indem er 5 ccm einer Kupfersulfatlösung (40 g : 1 Liter) und 20 ccm einer Lösung (100 g krystallisiertes Natriumhyposulfit und 100 g Seignettesalz im Liter) hinzufügt. Der Niederschlag wird gut ausgewaschen, in 500 ccm Wasser verteilt, mit 5 ccm Schwefelsäure versetzt und schließlich mit Chamäleonlösung titriert.

i) Haykraft, Herrmann fällen die Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung in Gegenwart von Magnesiasalz, wie bei 2 angegeben, aus. In der salpetersauren Lösung des Niederschlages bestimmt man das Silber nach der Volhardschen Methode; man titriert dann mit $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ Normalrhodanammonium, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

1 ccm $^1/_{50}$ n-Rhodanammonium = 0,00336 g Harnsäure.

k) B. Merk[3]) gibt eine Methode an, die darauf beruht, daß Harnsäure durch Jodsäure infolge Zersetzung durch Jodausscheidung erkannt und bestimmt werden kann; 1 Mol. Jodsäure verbraucht 5 Mol. Harnsäure; das ausgeschiedene Jod wird mit Chloroform gelöst und mit Thiosulfat bestimmt.

l) Calvello[4]) hat die Verfahren von Arthand und Butte und Gautrelet geprüft. Nach diesen Methoden wird die Harnsäure als harnsaures Kupferoxydul niedergeschlagen. Indicator = Ferrocyankalium.

m) F. Repiton[5]) empfiehlt eine jodometrische Bestimmung der Harnsäure.

5. Bestimmung nach E. Wörner.[6])

Prinzip.

Das abgeschiedene Ammoniumurat wird in Natronlauge gelöst, das Ammoniak vertrieben und in der alkalischen Harnsäurelösung der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Ausführung.

150 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Ammoniumchlorid aufgelöst. Nach $^1/_2$—1stündigem Stehen (genügt nicht, am besten läßt man über Nacht stehen) wird der Niederschlag von dem Ammoniumurat abfiltriert, mit 10%iger Ammoniumsulfatlösung chlorfrei gewaschen und mit heißer 1—2%iger Natronlauge auf dem Filter gelöst. Man wäscht das Filter mit heißem Wasser aus und erwärmt das Filtrat so lange auf dem Wasserbade, bis alles Ammoniak entfernt ist; dann spült man die alkalische Harnsäurelösung in einen Kjeldahlkolben, zerstört mit 15 ccm der Schwefelsäure und etwas Kupfersulfat oder Quecksilber und bestimmt das gebildete Ammoniak in bekannter Weise (S. 170).

1 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure = 0,0042 g Harnsäure.

---

[1]) Apoth.-Ztg. 1914. **29.** 715.
[2]) Rep. Pharm. 1899. **55.** 100.
[3]) Pharm. Ztg. 1905. **50.** 791.
[4]) Soc. chimic. d. Roma; Chem. Ztg. 1905. **29.** 447.
[5]) Rev. génér. d. chim. pur et appl. 1908. **11.** 285; Chem. Centralbl. 1908. **79.** II. 1129.
[6]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **29.** 70.

Beurteilung.

Größere Mengen Eiweiß sind zu entfernen. M. Lewandowsky bemerkt, daß das Verfahren dadurch versagen kann, daß das Ammoniumurat nicht ausfällt; die Ursache ist eine übergroße Acidität des Harnes. Man reguliert die Acidität deshalb, wie schon an anderer Stelle erwähnt, in der Weise, daß nur schwach saure Reaktion vorhanden ist.

Selbstverständlich kann mit dem auf dem Filter gesammelten Niederschlage auch nach 3 oder nach 4a verfahren werden, d. h. es kann in dem Ammoniumurat die Harnsäure durch Wägen oder durch Titrieren mit Permanganat bestimmt werden.

6. Ein von A. Jolles[1]) angegebenes Verfahren beruht in seinem Prinzipe darauf, daß die isolierte Harnsäure durch Behandlung mit Schwefelsäure und Permanganat in solche Verbindungen quantitativ zerlegt wird, die ihren Stickstoff durch unterbromigsaures Natrium quantitativ in Gasform abgeben. Aus dem Stickstoffvolumen berechnet man die Harnsäure.

Ähnlich verfährt J. F. Tocher[2]); er oxydiert die Harnsäure mit Chromsäureanhydrid (CrO_3) zu Harnstoff und bestimmt diesen mit unterbromigsaurem Natrium.

E. Rieglers Verfahren beruht darauf, daß die Harnsäure aus dem Harne in Form von Ammoniumurat gefällt und dieses mit Salpetersäure (spez. Gew. = 1,1) behandelt, sich in Alloxan und Harnstoff zersetzt. Durch die aus der Reduktion der Salpetersäure entstandene salpetrige Säure wird der gebildete Harnstoff in Stickstoff und Kohlensäure zerlegt. Aus dem erhaltenen Gasvolumen ($CO_2 + N_2$), das in einem graduierten Gasmeßrohr aufgefangen wird, läßt sich die Harnsäure berechnen.

7. Bestimmung der Harnsäure für klinische Zwecke mit dem Urikometer nach J. Ruhemann[3]).

Prinzip.

Es wird der Bindewert der Harnsäure im Urin mit Jod festgestellt.

Erforderliche Lösung.

Als Lösung wird empfohlen: 0,5 g Jod, 1,25 g Jodkalium, 7,5 g Alkohol abs., 5 g Glyzerin, Aqu. destillat. ad 100,0. Man verwahre die Lösung nicht länger als fünf Wochen.

Ausführung der Bestimmung.

Eine Gebrauchsanweisung — man benütze die neuere, nicht die alte — liegt dem Instrumente bei; dieses enthält eine 3fache Einteilung; bis zur einen Marke füllt man Schwefelkohlenstoff, bis zur andern die Jodlösung. Über der zweiten Marke befindet sich die Skala für die Werte der Harnsäure in $^0/_{00}$.

Man setzt von dem zu prüfenden sauren Harne — ist er nicht sauer, so ist er mit Essigsäure anzusäuern — so lange hinzu, bis der Schwefelkohlenstoff beim Schütteln völlig entfärbt worden ist; die Bestimmung muß man rasch ausführen. Man liest nach dem Verschwinden des weißen Schaumes die Harnsäurewerte an der Skala ab. Harnsäurereicher Harn wird verdünnt; enthält der Harn weniger Harnsäure, als der Apparat anzeigt, dann verwendet man die um die Hälfte verdünnte Jodlösung.

Beurteilung.

Größere Mengen von Eiweiß, Blut, Eiter sind zu entfernen; der Genuß jodhaltiger und anderer Medikamente veranlaßt, daß zu niedrige Werte gefunden werden; Acetessigsäure, Aceton stören; man wird aber bei der Prüfung auf diese Stoffe aufmerksam.

Eschbaum, Kraft erhielten mit der Methode (als Vorprobe) brauchbare Resultate; nach anderen Autoren (S. Weller) wurden ungünstige Ergebnisse und ganz unbrauchbare Zahlen erhalten.

Ein auf dem gleichen Prinzipe beruhendes Verfahren — Harnsäure wird durch Jod zu Alloxan und Harnstoff oxydiert — empfiehlt zur raschen Bestimmung der Harnsäure für die laufenden klinischen Untersuchungen E. Vaillant.[4])

Man läßt zu 1 ccm Schwefelkohlenstoff und 2 ccm einer Lösung von 3,78 g Jod und 15 g Jodkalium auf 1000 ccm Wasser Harn aus einer Bürette solange zufließen, bis Entfärbung eintritt. Durch Division der verbrauchten Anzahl Kubikzentimeter Harn in 5 enthält man die im

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **29.** 222; Chem. Ztg. 1902. **26.** 1015; Wien. med. Wochenschr. 1903. **41.** Nr. 10; Bericht. deutsch. Pharm. Gesellsch. 1904. **14.** 455; Österr. Chem.-Ztg. 1913. Nr. 21; Biochem. Zeitschr. 1913. **57.** 414.

[2]) Pharm. Journ. 1902. [4]. **15.** 161.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1902. **39.** 27. 55; Deutsch. med. Wochenschr. 1906. **32.** 1121. Von Meyer, Petri und Holland in Ilmenau mit Gebrauchsanweisung zu beziehen.

[4]) Annal. chim. analyt. appl. 1922. [2] **4.** 178; Chem. Centralbl. 1922. **93.** IV. 1160.

Liter Harn vorhandene Harnsäure in Gramm. Alkalischer Harn ist mit wenigen Tropfen Essigsäure anzusäuern, größere Mengen Eiweiß sind durch Aufkochen des Harnes vorher zu entfernen.

Colorimetrische Bestimmungsverfahren der Harnsäure.

Solche geben an O. Folin und A. B. Macallum jun.[1]), O. Folin und W. Denis[2]), W. Autenrieth und A. Funk[3]), St. R. Benedict und E. H. Hitchcock[4]), C. J. Curtmann und M. Freed[5]), O. Folin und Hsieu Wu[6]).

Sie beruhen meist auf der Färbung, die die aus Harn nach irgendeinem Verfahren abgeschiedene Harnsäure mit dem Harnsäurereagens von Folin-Denis gibt und auf dem Vergleichen mit einer Harnsäurelösung von bestimmtem Gehalte. Autenrieth und Funk haben außer dieser Bestimmungsweise noch die Jodsäuremethode zu einer kolorimetrischen gestaltet. Die Bestimmungen werden mit dem bekannten Colorimeter vorgenommen; Vergleichskeile, Kurven und Anweisung sind von der Firma Hellige & Cie. in Freiburg i. B. zu erhalten.

Eine chronometrische Bestimmung erwähnt E. Riegler[7]).

Wahl der Methode.

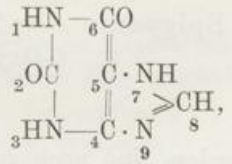
Die Methoden 2, 3, 4a (auch der größte Teil der übrigen aufgeführten Verfahren) geben gute Resultate. Wie aus der angegebenen Ausführungsweise zu ersehen ist, erfordert die Methode 2 längeren Zeitaufwand; genaues Arbeiten ist bei allen Verfahren unerläßlich. Die Methode I hat als älteste mehr historisches Interesse. Bedingung ist überall, daß eiweißfreier Harn zur Anwendung kommt.

B. Purinbasen (Xanthinbasen, Nucleinbasen, Alloxurbasen).

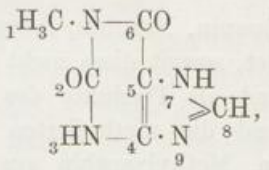
Seitdem experimentell durch die Synthesen nachgewiesen ist, daß die Harnsäure und die Xanthinkörper Abkömmlinge der gleichen Grundform, des aus neun Gliedern ringförmig zusammengesetzten Purins [von purum uricum abgeleitet, E. Fischer[8])], sind und die Xanthinkörper, deren Entstehung und Bildung zum Teil aus den für die gesamten Vorgänge im lebenden Organismus wichtigen Nucleinen, Nucleinsäuren durch fermentative Spaltung (Nucleaseferment) erfolgt, als die Vorstufe der Harnsäure gelten, hat man dem Vorkommen dieser Basen im Harne eine größere physiologische Bedeutung beigemessen. Die Purinbasen sind in den Nucleinen an die Nucleinsäure gebunden und werden aus diesen durch hydrolytische Spaltung leicht abgeschieden.

Im Harne kommen vor:

Xanthin oder 2,6-Dioxypurin

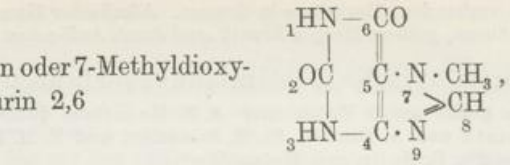


1-Methylxanthin oder 1-Methyldioxypurin 2,6

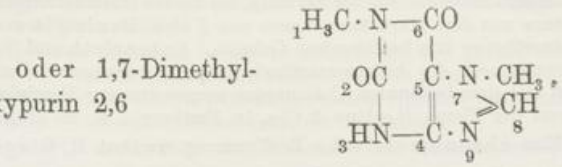


[1]) Journ. of Biolog. Chem. 1912. **13.** 363.
[2]) Ebenda. 1913. **14.** 95.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 767; 1914. **61.** 457.
[4]) Journ. of Biolog. Chem. 1915. **20.** 619.
[5]) Ebenda. 1916. **28.** 89.
[6]) Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 459.
[7]) Compt. rend. soc. de biolog. 1922. **87.** 291; Chem. Centralbl. 1923. **94.** 298.
[8]) Berl. Ber. 1884. **17.** 329; 1898. **31.** 2550; 1897. **30.** 556; 1897. **30.** 549. 2249.

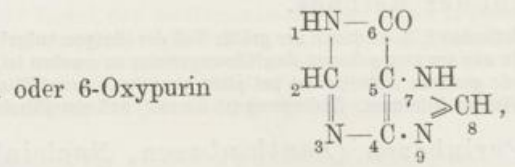
Heteroxanthin oder 7-Methyldioxypurin 2,6



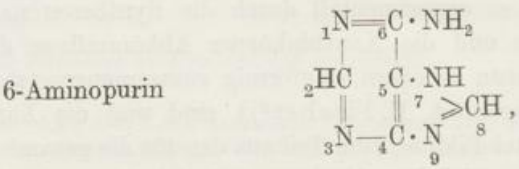
Paraxanthin oder 1,7-Dimethyldioxypurin 2,6



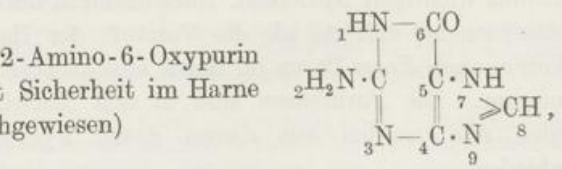
Hypoxanthin oder 6-Oxypurin



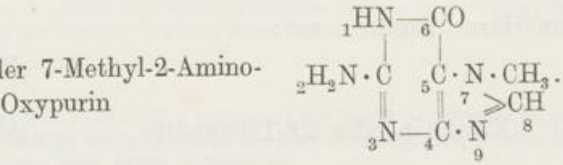
Adenin oder 6-Aminopurin



Guanin oder 2-Amino-6-Oxypurin (noch nicht mit Sicherheit im Harne nachgewiesen)



Epiguanin oder 7-Methyl-2-Amino-6-Oxypurin



Außerdem sind noch zu erwähnen: Episarkin und Carnin.

Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin werden aus den Nucleinen gebildet, soweit diese nicht in Harnsäure übergehen (endogene Harnpurine), sie sind als Produkte des Kernstoffwechsels im allgemeinen aufzufassen, während die methylierten Purinbasen Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Methylxanthin aus den in unseren Genußmitteln vorkommenden Stoffen, Coffein, Theobromin, Theophyllin stammen, also aus den Purinen der Nahrung (exogene Harnpurine); sie stellen die Hauptmasse der sog. Alloxurbasen dar. Man hat also auch hier, wie bei der Harnsäure, eine endogene und exogene Bildung anzunehmen. Merkwürdig ist, daß im Organismus eine Entmethylierung stattfindet, indem aus dem Coffein ein Dimethylxanthin entsteht.

Die genannten Basen kommen im Harne nur in sehr geringer Menge vor; M. Krüger und G. Salomon[1]) konnten aus 10,000 Liter Menschenharn gewinnen:

Xanthin 10,11 g,
1-Methylxanthin 31,285 g,
Heteroxanthin 22,345 g,
Paraxanthin 15,31 g,
Hypoxanthin 8,50 g,
Adenin 3,54 g,
Epiguanin 3,40 g.

Flatow und Reitzenstein fanden in der Tagesmenge Harn 15,6 bis 45,1 mg. Bei angestrengter Muskelarbeit können die Purinbasen in solcher Menge an das Blut abgegeben werden, daß eine Steigerung des Purinbasengehaltes des Urins auftritt; die tierischen Zellen finden keine Zeit, die Basen in Harnsäure überzuführen (Abderhalden).

Das Verhältnis der Harnsäure: Purinstickstoff = 8,0—12,0 : 1.

Bei einem und demselben Individuum ist das Verhältnis ziemlich gleichbleibend.

Vermehrt finden sich die Purinbasen im Harne Nephritischer und Leukämischer (reichlicher Zerfall von Leukocyten); der Gehalt kann hier um das Zehnfache gesteigert werden; bei akuter Leberatrophie tritt ebenfalls Vermehrung ein; bei starker Vermehrung der Basen sehen wir gewöhnlich eine Verminderung der Harnsäure und umgekehrt bei starker Harnsäureausscheidung eine Verminderung der Purinbasen, gewiß ein Beweis, daß die Harnsäure aus diesen Basen sich bildet. Xanthin tritt auch als Bestandteil von Blasensteinen und zuweilen in Sedimenten auf.

Darstellung und Trennung der Purinbasen. Nach M. Krüger und G. Salomon.[2])

Der Harn (man verwendet in einzelnen Portionen mindestens 300 Liter) wird entweder durch ammoniakalische Silberlösung oder siedend heiß mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat ausgefällt. Im ersten Falle wird der gewaschene Niederschlag in einem im siedenden Wasserbade befindlichen Rundkolben durch verdünnte Salzsäure vorsichtig zersetzt, bis die voluminösen Silberverbindungen vollständig verschwunden sind und bis an deren Stelle sich leicht zu Boden setzendes Chlorsilber entstanden ist. Dann erhitzt man den Kolben über freiem Feuer, gibt die gleiche Menge der vorher verbrauchten Salzsäure hinzu, filtriert heiß und wäscht den Niederschlag mit stark verdünnter Salzsäure aus. Die Hauptmenge der Harnsäure bleibt beim Chlorsilber. Im anderen Falle wird der mit heißem Wasser gewaschene Niederschlag der Kupfer-Natriumbisufitfällung gleichfalls im Rundkolben mit Wasser erwärmt, durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, dann

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898/99. **26.** 367.
[2]) Ebenda. 1898/99. **26.** 351; 1905. **45.** 1.

mit Salzsäure bis zur starken sauren Reaktion versetzt, durch Schwefelwasserstoffgas zerlegt und die Lösung heiß filtriert. Auch hier bleibt die Hauptmenge der Harnsäure auf dem Filter. Das salzsaure Filtrat (sei es vom Chlorsilber oder vom Schwefelkupfer) wird durch möglichst wenig Tierkohle entfärbt; es unterbleibt aber die Behandlung mit Kohle besser, da diese beträchtliche Mengen der Basen zurückhält, zu deren Wiedergewinnung mehrmaliges Auskochen mit verdünnter Salzsäure nötig ist.

Das Filtrat wird auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft, zum Schlusse bei niederer Temperatur und unter häufigem Umschwenken der Schale oder besser während Darüberleitens eines kräftigen Luftstromes. Die im sirupösen Rückstande noch reichlich vorhandene Salzsäure wird durch zweimaliges Eindampfen mit Wasser und schließlich durch Eindampfen mit 96%igem Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Diese wird mit Wasser bei 40° digeriert, nach mehrstündigem Stehen abfiltriert, mit Wasser salzsäurefrei gewaschen und der Filterrückstand mit Alkohol und Äther behandelt. Das Filtrat kann noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt werden; jedoch bleibt beim Digerieren mit Wasser nur ein geringer Rückstand, der mit dem ersten vereinigt wird. Der ungelöste Teil besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin (Xanthinfraktion), in die wässerige Lösung gehen über Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin.

a) Xanthinfraktion: Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Gemenge der drei Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3%iger, salzsäurefreier Natronlauge heiß gelöst; innerhalb 24 Stunden scheidet sich das Natriumsalz des Heteroxanthins in reinem Zustande und fast vollständig aus. Je 60 ccm des auf 60° erwärmten Filtrates werden in ein vorher aufgekochtes, kaltes Gemisch aus 20 ccm konz. Salpetersäure und 20 ccm Wasser langsam und unter Umrühren eingetragen. Hiebei wird der Rest der Harnsäure, der mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war, zerstört; innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dieses unter dem Mikroskope noch nicht als rein, so neutralisiert man je 3 g des lufttrockenen Rohproduktes unter wenig Wasser mit Natronlauge, erwärmt, löst das freie Xanthin durch mehr Lauge, verdünnt auf 60 ccm und behandelt die auf 60° erwärmte Lösung wie oben. Reines salpetersaures Xanthin setzt sich als schweres Krystallpulver in aus Blättchen bestehenden Drusen ab. Zur Darstellung des freien Xanthins wird die ammoniakalische Lösung des Nitrates eingedampft, wobei sich die Base in amorphen Krusten abscheidet. Das 1-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate von Xanthinnitrat durch Übersättigen mit Ammoniak und durch Eindampfen als atlasglänzende Masse, aus mikroskopischen Blättchen bestehend, erhalten. Der Rest kann durch ammoniakalische Silberlösung oder als Kupferoxydulverbindung gefällt werden.

b) Hypoxanthinfraktion: Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin. Die salzsaure, vom Xanthin und von seinen Homologen abfiltrierte Lösung scheidet auf Zusatz von Ammoniak in geringem Überschusse sofort das Epiguanin in kleinen glänzenden Prismen aus. Das Filtrat wird durch Erhitzen vom Ammoniak befreit, die nicht zu konzentrierte Lösung in der Kälte vorsichtig mit 1,1%iger Pikrinsäurelösung in geringem Überschusse versetzt und das Adeninpikrat sofort mit einer Saugvorrichtung abfiltriert. Nachdem das mit Schwefelsäure versetzte Filtrat durch Ausschütteln mit Benzol oder Toluol von im Überschusse vorhandener Pikrinsäure befreit ist, wird die Gesamtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoffgas zersetzt und die wässerige Lösung der Basen eingedampft. Je 3 g des trockenen Rückstandes werden in 100 ccm heißer verdünnter Salpetersäure (90 ccm Wasser und 10 ccm konzentrierter Salpetersäure) gelöst; beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrate von diesen Körpern werden die noch in diesem vorhandenen Basen, und zwar geringe Mengen Hypoxanthin, der Rest von Heteroxanthin und l-Methylxanthin, sowie das Paraxanthin als Silber- oder Kupferoxydulverbindungen gefällt und daraus die Basen in der bereits erörterten Weise isoliert. Die salzsaure Lösung wird eingedampft und der Rückstand, wie angegeben, mit möglichst wenig kaltem Wasser extrahiert; ungelöst bleiben Heteroxanthin und l-Methylxanthin, die durch 3,3%ige Natronlauge getrennt werden; das Filtrat enthält Hypoxanthin und Paraxanthin. Aus dieser Flüssigkeit werden die Basen, um sie salzsäurefrei zu erhalten, wieder in Form ihrer Silber- und Kupferoxydulverbindungen niedergeschlagen und isoliert; der Rückstand ihrer wässerigen Lösung wird aus wenig verdünnter Salpetersäure (Konzentration wie angegeben) umkrystallisiert. Salpetersaures Hypoxanthin scheidet sich aus, das Paraxanthin kann aus der Mutterlauge als Natriumsalz oder als freie Base gewonnen werden.

Wenn Guanin sich noch als Harnbestandteil finden sollte, so wäre es aller Wahrscheinlichkeit nach in der Xanthin- und Hypoxanthinfraktion zu suchen, woraus es leicht zu isolieren wäre. Die Xanthinfraktion wird, mit Ammoniak behandelt, das Guanin ungelöst zurücklassen; in der Hypoxanthinfraktion wird es gleichzeitig mit Epiguanin durch Ammoniak ausgeschieden werden und kann von letzterem durch Behandeln mit heißem Wasser oder heißem verdünntem Ammoniak getrennt werden.

Nach weiteren Versuchen der Verf.[1]) wird zur Abscheidung des Paraxanthins der Rückstand der säurefreien Basenlösung in 15 Teilen 10%iger Natronlauge gelöst und im Eisschranke stehen gelassen; es scheidet sich Paraxanthinnatrium aus, aus dem durch Neutralisieren der Lösung mit Essigsäure freies Paraxanthin gewonnen werden kann.

---

[1]) H. Tierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. A. Hirschwald, Berlin 1903.

Allgemeine Eigenschaften der Purinbasen.

Sie werden amorph, meist aus unreinen Lösungen, doch auch in recht charakteristischen Krystallformen erhalten. Sie sind mit Ausnahme der Harnsäure amphotere Elektrolyte, sind schwache Säuren und Basen und bilden sowohl H- als OH-Ionen. In Wasser sind sie alle sehr schwer, einige fast gar nicht löslich, dagegen lösen sie sich alle in Alkalihydraten, manche in Ammoniak. Mit Mineralsäuren, in denen sie sich leichter oder schwerer lösen, bilden sie krystallisierende Salze, von denen die meisten durch Wasser allein zersetzt werden. Sehr charakteristisch ist, daß alle Purinbasen in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Auch durch Quecksilberchlorid, besonders aber durch ammoniakalische Silberlösung, durch die meisten Alkaloidreagentien werden sie abgeschieden. Mit Pikrinsäure geben sie, ausgenommen Xanthin, Methylxanthin, Heteroxanthin, krystallisierende Salze. Durch Bleiessig und Ammoniak werden alle Basen, Epiguanin ausgenommen, gefällt, das gleiche ist der Fall mit essigsaurem Kupfer, besonders aber mit Kupferoxydul; Kupfersulfat und Bisulfit oder Thiosulfat geben nämlich Fällungen, die in Wasser unlöslich, in Salpetersäure leicht löslich sind.

Beim Glühen entwickeln die Basen den Geruch nach Blausäure oder Isonitril.

Besondere Eigenschaften der einzelnen Basen und deren qualitativer Nachweis.

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Xanthin	
Das Xanthin, von Strecker und Scherer als normaler Bestandteil des Harnes erkannt, ist entweder ein amorphes weißes Pulver, beim Reiben wachsglänzend, oder es krystallisiert aus einer schwach alkalischen, stark verdünnten Lösung nach Essigsäurezusatz in farblosen, schönen Drusen aus, die mikroskopisch betrachtet aus glänzenden rhombischen Blättchen bestehen, mit 1 Mol. Wasser, das nach J. Horbaczewski erst bei etwa 130° entweicht. Beim ersten Auskrystallisieren, namentlich aus unreinen Lösungen, kommen der Harnsäure ähnliche Krystalle zum Vorschein. In kaltem Wasser ist es sehr schwer (1:14151 nach Alm én), in heißem 1:1300—1400 löslich, in Alkohol, Äther ist es unlöslich, leicht löslich dagegen in Alkalilauge, Ammoniak, schwer in Säuren. Chlorzink und Chlorcalcium fällen es aus ammoniakalischer Lösung, Quecksilberchloridlösung fällt Xanthin aus wässeriger Lösung (Strohmeyers Reaktion).	I. Wird wenig Substanz mit einigen Tropfen frischen Chlorwassers — der Zusatz von Salpetersäure ist unnötig — eingedampft, und der Rückstand unter einer Glasglocke der Einwirkung von Ammoniakdampf ausgesetzt, so färbt sich der Rückstand schön rosenrot (Weidelsche Probe). E. Fischer[1]) kocht eine geringe Menge mit Chlorwasser oder mit Salzsäure und einer Spur chlorsauren Kaliums und befeuchtet die vorsichtig eingedampfte Flüssigkeit mit Ammoniak. Beurteilung. Harnsäure gibt diese Probe auch. II. Xanthinprobe. Man löst eine kleine Menge in heißer Salpetersäure und verdampft im Wasserbade zur Trockne, wobei ein citronengelber Fleck entsteht, 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

[1]) Berl. Bericht. 1897. **30.** 2236.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Charakteristisch ist das Silbersalz, das aus einer Lösung von Xanthin in Ammoniak durch Silbernitrat gefällt wird ($C_5H_4N_4O_3.Ag_2O$); in heißer Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag, um sich beim Erkalten und nach dem Verdünnen der Lösung in stark lichtbrechenden kleinen Nadeln wieder auszuscheiden. Gegen heiße Salpetersäure ist es beständig, mit rauchender Salzsäure im geschlossenen Rohre über 200° erhitzt, zerfällt es in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure, Glykokoll.	erkennen (Unterschied von Harnsäure) (Strecker). III. Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge Xanthin in Substanz, so bildet sich um dieses ein dunkelgrüner Hof, der sich braun färbt und dann verschwindet (Hoppe-Seyler). IV. Eine alkalische Lösung färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure rot (R. Burian).
1-Methylxanthin.	
Krystallisiert aus Wasser in farblosen kleinen Krystallen (Rosetten), aus salzsaurer oder ammoniakalischer Lösung in lockeren, glänzenden Massen, aus essigsaurer Lösung in dünnen sechsseitigen Blättchen. Ist in Wasser leichter löslich wie Xanthin, löslich in Ammoniak und Natronlauge, vor allem auch zum Unterschiede von Xanthin leicht löslich in verdünnten Säuren. Durch Ammoniak und Silbernitrat wird es gefällt und verhält sich hiebei wie Xanthin. Es wurde von Krüger im Harne gefunden.	Gibt die Xanthinreaktionen.
Heteroxanthin.	
Aus heißem Wasser krystallisiert es in glänzenden Nadeln, meist zu Rosetten vereinigt, die bei 380° schmelzen. Es ist schwer löslich in kaltem, leicht in heißem Wasser, auch in Ammoniak und in heißer Salzsäure, unlöslich in Äther und Chloroform. Aus seinen Lösungen in Ammoniak oder Alkalien ist es schon durch Kohlensäure fällbar. Salpetersaure, wie ammoniakalische Lösungen werden durch Silbernitrat gefällt; die Fällung ist in verdünnter Salpetersäure beim Erwärmen löslich, beim Abdampfen scheidet sich die Silberverbindung in Tafeln oder Prismen wieder aus. Mit Pikrinsäure gibt es zum Unterschiede von Paraxanthin keinen Niederschlag. Salomon fand es zuerst im Harne.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch: Löst man salzsaures Heteroxanthin in verdünnter erwärmter Natronlauge, so scheiden sich beim Erkalten glänzende Krystalle, schiefwinklige Tafeln, Prismen, meist Zwillinge von Heteroxanthinnatrium aus. (Unter dem Mikroskope beobachten!)
Paraxanthin.	
Glänzende, sechsseitige Tafeln in Büscheln und Rosetten (seidenglänzend); schmilzt bei 295°. In kaltem Wasser ist es viel leichter löslich als Xanthin und seine anderen Homologen, unlöslich in Alkohol und Äther, löslich in Ammoniak, Salzsäure und Salpetersäure. Verhält sich gegen ammoniakalische Silberlösung wie das Heteroxanthin; salpetersaures Paraxanthinsilber setzt sich in seidenglänzenden Büscheln ab. Thudichum und Salomon fanden es im Harne.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch ist ebenfalls das Verhalten gegen Natronlauge; in konz. Lösung fällt Natronlauge Paraxanthinnatrium in länglichen, meist schmalen Tafeln und Prismen mit Längsrissen durchzogen, teils isoliert, teils in Bündeln, in Wasser etwas leichter löslich, als das Natriumsalz des Heteroxanthins.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Hypoxanthin (Sarkin).	
Farblose Krystalle, häufig undeutlich, in etwa 1400 Teilen kalten und 70 Teilen kochenden Wassers löslich, auch in Alkalien und Säuren; verbindet sich mit Basen zu Salzen. Wird aus seiner Lösung in Alkalien durch Kohlensäure gefällt.	I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Gibt die auch für Adenin charakteristische Reaktion. III. Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure positiv; kein Alkaliüberschuß!
Adenin.	
Lange nadelförmige Krystalle, aus verdünnten Lösungen wasserfrei in wetzsteinförmigen kleinen Krystallen sich ausscheidend, die beim Liegen an der Luft undurchsichtig, trüb werden, besonders beim Erwärmen der Krystalle in wenig Wasser bei 53°. In etwa 1080 Teilen kaltem, leicht in heißem Wasser löslich, leicht löslich auch wieder in Alkalien, unlöslich in Äther und Chloroform.	I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Charakteristisch ist das Verhalten der Krystalle beim Erwärmen (Trübwerden) und das Golddoppelsalz. Eine Lösung von salzsaurem Adenin gibt mit Goldchlorid einen charakteristischen, aus würfelförmigen, prismatischen, auch blattförmigen Krystallen bestehenden Niederschlag (Mikroskop). III. Mit Zink und Salzsäure reduziert ($^1/_2$ Stunde im Wasserbade), nimmt eine Lösung von Adenin (ebenso Hypoxanthin) eine vorübergehende Rotfärbung an; die filtrierte Lösung wird auf Zusatz von Natronlauge im Überschusse an der Luft rubinrot, dann braunrot (Azulminsäure) (Kossel und Fischer). IV. Eine Lösung in Natronlauge färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure rot, gibt also die Diazoreaktion.
Guanin.	
Aus konzentr. Lösungen amorph sich ausscheidend erhält man das Guanin aus einer sehr verdünnten warmen Lösung in Lauge nach Zusatz von $^1/_3$ Volumen Alkohol und Essigsäure im Überschusse in großen Krystallen (ähnlich dem Kreatininchlorzink). Unlöslich in Wasser, wenig löslich in Ammoniak, leicht in Alkalien, auch in verdünnten Säuren. Durch Metaphosphorsäure wird es fast quantitativ gefällt. Das salpetersaure Guaninsilber ist in heißer Salpetersäure löslich, krystallisiert aber beim Erkalten in feinen Nadeln aus. Es wurde von Pouchet im Harne vorgefunden.	I. Gibt die Xanthinprobe mit braunroter, beim Erhitzen blauvioletter Farbe. Probe mit Diazobenzolsulfosäure positiv. II. Charakteristisch: 1. Das Pikrat, das in goldgelben, in kaltem Wasser fast unlöslichen Krystallen krystallisiert (Xanthin und Hypoxanthin geben leicht lösliche Pikrate) und oft pinselförmige, auch farnkrautähnliche Gebilde darstellt. Eine heiße Lösung mit Silbernitrat vor dem Abscheiden des Pikrates versetzt, gibt einen amorphen, citronengelben Niederschlag. 2. Konz. Ferricyankaliumlösung gibt mit verdünnter Guaninlösung gelbbraune prismatische Krystalle, in warmem Wasser löslich. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag (Capranika). 3. Das salzsaure Salz krystallisiert in langen, büschelförmigen oder strahlenförmig angeordneten Krystallen (Mikroskop).

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Epiguanin.	
Krystallisiert aus Wasser in feinen Nadeln, aus ammoniakhaltigem Wasser in seidenglänzenden Prismen, aus der salzsauren Lösung nach dem Übersättigen mit Ammoniak in langen, feinen Nadeln. Sehr schwer, fast unlöslich in Wasser, auch in heißem, ebenso in Ammoniak, leichter in Natriumcarbonatlösung, sehr leicht in verdünnter Natronlauge und in Säuren (auch Schwefelsäure). Aus der Lösung in heißer 33%iger Natronlauge erhält man die Natriumverbindung in stark glänzenden breiten Nadeln. Ammoniakalische Silberlösung fällt Guanin, nicht aber Bleiacetat oder Bleiacetat und Ammoniak. Es wurde von Krüger aus Harn dargestellt.	I. Gibt die Xanthinprobe und die Weidelsche Probe. II. Charakteristisch ist die Natriumverbindung und das beim Erkalten seiner heißen Lösung in feinen Nadeln sich abscheidende Pikrat.
Episarkin.	
Scheint identisch zu sein mit Epiguanin.	
Carnin	
Das Vorkommen des Carnins im Harne ist noch nicht erwiesen	

Quantitative Bestimmung.

1. Nach der Methode von E. Salkowski[1]) mit Verbesserungen von H. Huppert.[2])

Prinzip.

Die Purinbasen werden als Silbersalz gefällt, nachdem die Fällung der Purinkörper, der Harnsäure + Purinbasen, durch ammoniakalische Silberlösung zerlegt ist und die Purinbasen durch verdünnte Schwefelsäure von der Harnsäure getrennt sind.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung, wie S. 217 oder 3%ige Silbernitratlösung.
2. Magnesiamischung nach Ludwig (S. 217).
3. Verdünnte Schwefelsäure (10 ccm : 550 ccm Wasser).
4. $^1/_{50}$ Normalrhodanammoniumlösung, eingestellt mit einer $^1/_{50}$ n-Silberlösung (3,4 g Silbernitrat im Liter) S. 80

Ausführung.

500 ccm eiweißfreier Harn von mittlerer Dichte werden in einem graduierten Meßzylinder zur Entfernung der Phosphate mit 50 ccm der Magnesiamischung versetzt und mit starkem Ammoniak zu 600 ccm aufgefüllt. Man filtriert durch ein Faltenfilter und versetzt vom Filtrate 540 ccm (= 450 ccm ursprünglichen Harnes) in einem Becherglase mit 55 ccm der

[1]) Archiv Physiol. 1898. **69.** 280.
[2]) Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. W. Wiechowski, Die Purinstoffe. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1913.

ammoniakalischen oder mit etwa 35 ccm der 3%igen wässerigen Silbernitratlösung. Nach einstündigem Stehen wird der Niederschlag, der durchscheinend und gallertig, nicht weiß aussehen muß — im letzteren Falle enthielte er noch Chlorsilber, das durch Ammoniakzusatz in Lösung zu bringen wäre —, auf einem dem Trichter anliegenden Filter gesammelt und silberfrei gewaschen.

Man spritzt den Niederschlag mit der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurück, säuert mit einigen Tropfen Salzsäure an und leitet in die ungefähr 250—350 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlage zur vollständigen Zerlegung desselben Schwefelwasserstoff ein; man kann auch, wie S. 217 angegeben, vorher einige Kubikzentimeter von Kupfersulfatlösung zusetzen, da das gebildete Schwefelkupfer die Eigenschaft hat, das Silbersulfid mit niederzureißen und Filtrate zu geben, aus denen sich beim Eindampfen kein Silbersulfid mehr ausscheidet. Nach dem Zerlegen des Silberniederschlages wird das Becherglas mit der Flüssigkeit auf dem Wasserbade erhitzt, die Flüssigkeit abfiltriert und der Niederschlag mit heißem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale zur Trockene und erhitzt zur Lösung der Purinbasen den Trockenrückstand mit 25—30 ccm der verdünnten Schwefelsäure bis zum Sieden, worauf man die Flüssigkeit 16—20 Stunden zur Abscheidung der Harnsäure stehen läßt. Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf einem kleinen Filter abfiltriert, mit der gleichen Schwefelsäure zwei- bis dreimal ausgewaschen und das nicht mehr als 50 ccm betragende Filtrat (und die Waschflüssigkeit) nach dem Übersättigen mit Ammoniak nochmals mit Silberlösung gefällt. Der abfiltrierte Niederschlag wird ausgewaschen, bis er silber-, chlor- und schwefelsäurefrei ist und dann im Porzellantiegel verbrannt. Das gebildete Silber wird in chlorfreier Salpetersäure gelöst und wie S. 80 angegeben nach Volhard mit der $^1/_{50}$ Normalrhodanlösung titriert.

1 ccm $^1/_{50}$ n-Rhodanammoniumlösung = 0,00152 g Xanthin.

1 ccm $^1/_{50}$ n-Rhodanammoniumlösung = 0,002157 g Silber (Ag).

1 Teil Silber = 0,277 Teilen Purinbasen-Stickstoff oder 0,7381 Teilen Purinbasen.

Selbstverständlich könnte der abfiltrierte Silberpurinbasenniederschlag auch nach Kjeldahl verbrannt werden (vollständiges Entfernen des Ammoniaks!).

1 g N = 2,714 g Xanthin.

Beurteilung.

Ganz genaue Zahlen liefert auch diese als die beste bekannte Methode nicht, da eine geringe Menge Harnsäure gelöst bleibt und die Verbindung der Purinbasen mit Silberoxyd in Ammoniak nicht vollkommen unlöslich ist; eine nach jeder Richtung hin ganz einwandfreie Methode wird wohl auch kaum gefunden werden können.

2. Zweckmäßig kann man nach Malfatti[1]) die Bestimmung der Purinbasen an die Bestimmung der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig (S. 216) anschließen, indem man die im sauren Filtrate von der gesammelten Harn-

[1]) Bericht des III. internat. Chemiker-Kongresses. 1898 Wien. II. 243.

säure vorhandenen Purinbasen entweder als Silberverbindung oder als Kupferverbindung ausfällt. Man kann mit den Fällungen direkt oder nach dem Zersetzen derselben mit Schwefelwasserstoff im Filtrate die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vornehmen (s. folgende Methode).

3. Nach M. Krüger und J. Schmid.[1])

Prinzip.

Durch Kupfersulfat mit Natriumbisulfit werden Harnsäure und Purinbasen als Kupferoxydulverbindungen (Cuproverbindungen) gefällt; diese werden durch Natriumsulfid zerlegt; Harnsäure und Purinbasen gehen in Lösung; aus der abfiltrierten wässerigen Lösung wird die Harnsäure durch Salzsäure gefällt; aus dem Filtrate von dieser werden die Purinbasen wieder als Silber- oder Kupferoxydulverbindung abgeschieden. Man ermittelt endlich den Stickstoff der Harnsäure, wie den der Purinbasen.

Erforderliche Lösungen.

1. Käufliche 10%ige Natriumbisulfitlösung (Kahlbaum).
2. 10%ige Kupfersulfatlösung.
3. Natriumsulfidlösung (S. 217).
4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heiße 0,5%ige Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.
5. 10%ige Salzsäure.
6. 10%ige Essigsäure.

Für die Bestimmung der Purinbasen nach der Silberfällung noch

7. Ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamischung (S. 217).
8. 6%ige Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung.

Der vierte oder fünfte Teil der auf 1600 oder 2000 ccm verdünnten Tagesmenge des von Eiweiß befreiten Harnes, 400 ccm, wird in einem Literkolben (Schottenkolben) mit 24 g Natriumacetat und 40 ccm der Natriumbisulfitlösung versetzt, zum Kochen erhitzt und nach Zusatz von 40—80 ccm Kupfersulfatlösung (je nach der voraussichtlichen Menge der vorhandenen Purinkörper) mindestens noch drei Minuten lang gekocht. Den entstandenen Niederschlag filtriert man sofort oder nach dem Abkühlen der Flüssigkeit durch ein Faltenfilter, wäscht mit heißem Wasser aus, bis das Filtrat farblos abläuft und spritzt den Niederschlag mit etwa 200 ccm heißem Wasser in den beim Fällen benutzten Kolben zurück oder gibt Filter mit Rückstand mit den 200 ccm Wasser in den Kolben; man erhitzt wieder zum Sieden, nachdem man vorher das Filter durch Schütteln zerteilt hat und zersetzt die Kupferverbindung mit 30 ccm Natriumsulfidlösung. (Ein Tropfen der Flüssigkeit muß auf Bleipapier Braunfärbung hervorrufen, es muß Natriumsulfid im Überschusse vorhanden sein.) Nach vollständig erfolgter Zersetzung säuert man mit Essigsäure an und erhält, bis der abgeschiedene Schwefel sich zusammengeballt hat, im Sieden, worauf man sofort mit Saugvorrichtung und Porzellanfilterplatte filtriert und den Filterrückstand gut mit heißem Wasser auswäscht. Das Filtrat wird nach Zusatz von 10 ccm 10%iger Salzsäure in einer Porzellanschale auf etwa 10 ccm eingedampft, die nach zweistündigem Stehen in der Kälte abgeschiedene Harnsäure durch ein kleines Filter abfiltriert, mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen (Filtrat und Waschwasser betragen 75 ccm) und der Filterrückstand mit Filter nach

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **45**. 1.

Kjeldahl behandelt (S. 170). Man multipliziert den gefundenen N mit 3 und zählt zu der so gefundenen Harnsäure noch 0,0035 g (im Filtrate von 75 ccm gelöst gebliebene Harnsäure) hinzu. In dem Filtrate der Harnsäure werden die Purinbasen entweder durch Kupferfällung oder durch Silberfällung bestimmt.

Durch Kupferfällung.

Das mit Natronlauge alkalisch, dann mit Essigsäure wieder schwach sauer gemachte Filtrat wird auf 70° erwärmt, mit $^1/_2$—1 ccm 10%iger Essigsäure und 10 ccm der Aufschwemmung von Braunstein (um die Spuren vorhandener Harnsäure zu oxydieren) versetzt und eine Minute lang geschüttelt, worauf man 10 ccm der Natriumbisulfitlösung, die den im Überschusse vorhandenen Braunstein löst, und 5—10 ccm der 10%igen Kupfersulfatlösung hinzufügt. Man läßt die Flüssigkeit etwa drei Minuten lang kochen, filtriert den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter aus schwedischem Papier, wäscht mit heißem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff der gesamten Purine in bekannter Weise nach Kjeldahl.

Durch Silberfällung.

Man verfährt anfangs, wie bei der Kupferfällung angegeben, nur wird die essigsaure, den Braunstein enthaltende Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht, abgekühlt und mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung und Ammoniak bis zur Lösung des Chlorsilbers versetzt; man gibt noch 10 ccm der Dinatriumphosphatlösung und 5 ccm der Magnesiamischung hinzu, wodurch das Absetzen, Filtrieren und Auswaschen des voluminösen Silberniederschlages wesentlich erleichtert wird. Nach zweistündigem Stehen filtriert man den Niederschlag durch ein Faltenfilter, wäscht mit destilliertem Wasser zur möglichst vollständigen Entfernung von Ammoniak gut aus und spritzt den Niederschlag mit heißem Wasser in einen Rundkolben. Die letzten Spuren Ammoniak werden durch Kochen mit etwas gebrannter Magnesia entfernt, worauf die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen wird.

Beurteilung.

Es gilt hier das bei der Salkowskischen Methode Gesagte. Die Ausführung dieser Methode ist eine wesentlich einfachere, besonders bei Anwendung der Kupferfällung, die nach den von den Verf. angestellten weiteren Versuchen der Silberfällung vorzuziehen ist. Brugsch und Schittenhelm halten dieses Verfahren für das beste, einwandfreieste und schnellste.

4. Als weitere empfohlene Bestimmungsmethoden sind noch zu erwähnen:

a) Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Eine abgemessene Menge eiweißfreier Harn wird nach F. Hofmeister[1]) abwechselnd mit so viel Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag erst mit verdünnter Schwefelsäure (5 : 100) durch mehrmaliges Dekantieren, dann auf dem Filter chlorfrei gewaschen, mit Bariumhydroxyd im Überschusse in der Wärme zersetzt und das Filtrat durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschusse vom Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, die nun frei von Harnsäure ist, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der alle Xanthinbasen enthaltende Niederschlag gesammelt, aus-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1881. **5.** 67.

gewaschen, getrocknet und im Porzellantiegel verascht und geglüht. Das gewonnene Silber wird gewogen; daraus werden die Xanthinbasen und zwar als Xanthin berechnet. Faktor: 0,7037.

b) J. B. Haycraft[1]), A. Herrmann[2]), G. Denigès[3]) haben nach Salkowski-Ludwig in einem Harnvolumen die Harnsäure, in einem anderen Harnsäure + Purinbasen zusammen bestimmt und die Differenz auf Xanthin berechnet.

Ausführung in der von Herrmann abgeänderten Form nach Haycraft.

50 ccm Harn versetzt man mit je 5 ccm der Ludwigschen Magnesiamischung und Silberlösung, filtriert nach dem Absetzen des Niederschlages erst die Flüssigkeit durch das Filter, verteilt dann, um den Niederschlag locker zu machen, 4 g doppeltkohlensaures Natron in groben Stücken auf der Filterfläche und bringt den Niederschlag quantitativ auf das Filter. Dann wird der Filterrückstand, ebenso das Becherglas, gut mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen und der chlor- und silberfrei gewaschene Niederschlag auf dem Filter durch Übergießen mit 20 bis 30%iger ganz reiner, von Chlor und salpetriger Säure freier Salpetersäure gelöst. Man wäscht das Filter mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrate vom gelösten Filterrückstande die Menge des Silbers in der S. 80 angegebenen Weise nach der Volhardschen Methode. Nur titriert man hier mit $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ Normalrhodanammonium, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

Von dem gefundenen Gesamtsilber (für Harnsäure + Purinbasen) hat man die der gefundenen Harnsäure entsprechende Menge Silber in Abzug zu bringen; auf 1 g Harnsäure kommen 0,643 g Silber. Aus dem Reste wird die Menge der Purinbasen berechnet. Faktor: 0,7037.

c) Nach G. Denigès.

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{50}$ n-Silberlösung.
2. Silbermagnesiamischung: 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium löst man in ungefähr 750 ccm 20%igem Ammoniak, füllt mit Ammoniak zum Liter auf und filtriert. 750 ccm der $^1/_{50}$ n-Silberlösung werden mit der Magnesiamischung auf 900 ccm aufgefüllt; 75 ccm dieser Silbermagnesiamischung enthalten 62,5 ccm der Silberlösung.
3. 20%ige Jodkaliumlösung mit 2% Ammoniak.
4. $^1/_{20}$ n-Cyankaliumlösung; 10 g reines Cyankalium löst man in etwa 1 Liter Wasser und setzt zur größeren Haltbarkeit 10 ccm 20%iges Ammoniak hinzu. Nach dem Filtrieren mißt man zur Titerstellung 20 ccm des Filtrates in einer Bürette ab, verdünnt mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm 20%iges Ammoniak, dann 10 Tropfen der Jodkaliumlösung hinzu und titriert bis zur bleibenden schwachen Fällung mit der Silberlösung; für die 20 ccm sollen genau 50 ccm Silberlösung verbraucht werden. Die Cyankaliumlösung verdünnt man noch entsprechend; gewöhnlich beträgt das Volumen etwa 1500 ccm. Der Titer muß öfters festgestellt werden.

Ausführung.

100 ccm genau abgemessenen Harnes werden mit 75 ccm der Silbermagnesiamischung versetzt; nach dem Umschütteln wird filtriert, vom Filtrate werden genau 140 ccm abgemessen. Diese versetzt man mit 20 ccm der Cyankaliumlösung, 10 Tropfen der Jodkaliumlösung und titriert dann mit der $^1/_{50}$ n-Silberlösung bis zu der eben bleibenden Trübung. Den verbrauchten Kubikzentimetern der Silberlösung hat man noch $^1/_5$ dieser hinzuzuzählen, um die für die angewendeten 100 ccm Harn nötige Menge an Silberlösung zu erhalten. In anderen 100 ccm Harn ist die Harnsäure noch für sich zu ermitteln.

1 ccm der $^1/_{50}$ n-Silbernitratlösung = 0,00336 g Harnsäure.

Die auf die gefundene Harnsäure treffenden, leicht zu berechnenden Kubikzentimeter Silberlösung zieht man von den bei der obigen allgemeinen Bestimmung verbrauchten ab — für 0,1 g der Harnsäure 29,76 ccm von der verbrauchten —; der Rest kommt den vorhandenen Xanthinbasen zu.

1 ccm = 0,00152 g Xanthin.

Jodhaltige Harne können erst nach Entfernung des Jod Verwendung finden; zu 100 ccm Harn gibt man 20 ccm $^1/_{10}$ n-Silberlösung, 1—2 ccm Salpetersäure, dann 5 ccm gesättigte Kochsalzlösung, füllt zu 200 ccm auf und verwendet das Filtrat.

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1885. **25.** 165.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 496.
[3]) Compt. rend. 1893. **117.** 1078.

d) Camerer[1]), Arnstein[2]) fällen den Harn mit Magnesiamischung, das Filtrat mit Silberlösung und bestimmen im Silberniederschlage den Stickstoff. Von diesem wird der Stickstoff der gesondert bestimmten Harnsäure abgezogen.

Ausführung.

240 ccm Harn werden mit 30 ccm der Magnesiamischung versetzt und mit 20%igem Ammoniak zu 300 ccm aufgefüllt. Vom Filtrate werden 125 ccm (= 100 ccm Harn) mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung (S. 217) versetzt; man filtriert und gießt ein nicht ganz klares Filtrat zurück. Man wäscht mit schwach ammoniakhaltigem Wasser Becherglas und Niederschlag aus und entfernt das Ammoniak aus dem durch Trockensaugen etwas rissig gewordenen Niederschlage durch Aufgießen von Wasser (etwa 250—500 ccm). Die letzten Reste Ammoniak beseitigt man dadurch, daß man den Niederschlag mit Wasser und etwas Magnesia kocht und dann nach Kjeldahl oxydiert, nachdem der größte Teil des Wassers durch Kochen entfernt war.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure = 0,0042 g Harnsäure.
100 Teile Harnsäure = 33,3 Stickstoff.
100 „ Xanthin = 36,84 Stickstoff.

e) E. L. Kennaway[3]) fand die Bestimmung nach Camerer-Arnstein verbesserungsbedürftig, da das Silbermagnesiumurat beim Kochen mit Magnesiumoxyd 6—9% Stickstoff in Form von Ammoniak verliert; die Silbersalze der Purinbasen erleiden keinen Verlust. Man läßt zuerst die Harnsäure nach Folin und Shaffer (Methode A) oder nach Hopkins (Methode B) und im Filtrate vom Harnsäureniederschlage die Purinbasen bestimmen. Nach Methode A werden 100 ccm Harn mit Ammoniumsulfat und 10 ccm 15%igem Ammoniak versetzt; das Ammoniumurat wird abfiltriert und nach Folin-Shaffer bestimmt. Ein bestimmter Teil des Filtrates wird mit 10 ccm 20%igem Ammoniak und 10 ccm Magnesiamixtur versetzt; die ausgeschiedenen Phosphate werden abfiltriert. Zu 100 ccm des Filtrates gibt man 10 ccm ammoniakalische Silberlösung, läßt 12 Stunden stehen und führt weiter die Bestimmung nach Camerer-Arnstein aus. Nach Methode B werden 100 ccm Harn mit 10 ccm Ammoniumsulfat und 5 ccm 25%igem Ammoniak versetzt und nach 12 Stunden in eine 250 ccm fassende Maßflasche filtriert. Die Harnsäurebestimmung erfolgt nach Hopkins. Die salzsaure Harnsäuremutterlauge und die Waschwässer werden zu dem in der 250 ccm fassenden Maßflasche befindlichen Filtrate gegeben, wodurch etwa mit der Harnsäure ausgefällte Purinbasen wiedergewonnen werden. Aus der Mischung in der Flasche werden die Phosphate mit 10 ccm 20%igem Ammoniak und 10 ccm Magnesiamixtur ausgefällt. In 240 ccm des Filtrates werden die Purinbasen mit 20 ccm ammoniakalischer Silberlösung gefällt und nach Camerer-Arnstein bestimmt. Die Methoden sollen nur bei Anwendung größerer Urinmengen genaue Resultate geben.

f) L. E. Bonnet[4]) bestimmt in 100 ccm Harn die Harnsäure in der mitgeteilten Weise durch Titration mit Permanganatlösung. In anderen 100 ccm wird die Menge der Xanthinbasen ermittelt. Zu 100 ccm filtrierten Harnes setzt man eine Mischung von 10 ccm Silberlösung und 4 ccm Ammoniak, sowie 10 ccm Magnesiamixtur; nach 4—5 Minuten wird filtriert, der Niederschlag wird mit 20 ccm ammoniakalischem Wasser ausgewaschen, in eine Porzellanschale oder in ein Becherglas abgespritzt und nach Zusatz von 20 ccm konz. Schwefelsäure wieder mit Permanganatlösung titriert.

Beurteilung.

Die Methode soll für klinische Zwecke genügen.

g) L. Garnier[5]) verwendet zur Harnsäurebestimmung das Verfahren nach Folin-Shaffer, zur Purinkörperbestimmung das Verfahren von Denigès; das Garniersche Verfahren hat wieder D. Sauzeat[6]) abgeändert.

5. Für klinische Zwecke empfiehlt A. Jolles[7]) zur Bestimmung der Purinbasen, in dem eiweißfreien Harn einerseits den Harnsäurestickstoff, andererseits den Harnsäure- und Purinbasenstickstoff nach vorhergegangener Oxydation volumetrisch zu bestimmen. Die Differenz beider Ablesungen bezeichnet den Purinbasenstickstoff.

E. Telles[8]) Verfahren beruht auf dem gleichen Prinzipe.

---

[1]) Zeitschr. Biolog. 1890. **26.** 104; 1891. **28.** 72.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1897. **23.** 426.
[3]) Journ. of Physiol. 1909. **39.** 296; Chem. Centralbl. 1909. **80.** II. 1948.
[4]) Thèse Lyon. 1903/04.
[5]) Compt. rend. soc. biolog. 1903. **55.** 643.
[6]) Journ. Pharm. et Chim. 1912. [7] **5.** 164. 445. 485.
[7]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1900. **21.** Nr. 36.
[8]) Bull. d. Scienc. Pharmakol. 1918. **25.** 208.

Thiéry[1]) fand, daß man bei Anwendung des von Carrez empfohlenen Zinkkaliumferrocyanids in äquivalenter Menge eine getrennte Bestimmung der Harnsäure neben den Xanthinbasen durchführen kann.

6. L. Niemilowicz[2]) gibt 2 Verfahren der Purinbasenbestimmung an.

a) Die Oxydations-Filtratmethode.

Prinzip.

Die Wegoxydation der Harnsäure mit Permanganatlösung und Titrierung der übrig bleibenden Purinkörper nach Denigès. Mit dieser Bestimmung der Xanthinbasen ist auch eine solche der Reduktionsfähigkeit des Harnes verbunden, indem durch fraktionierte Oxydation mit Hilfe von Indicatoren Körper mit genügend großen Unterschieden in der Reaktionsgeschwindigkeit quantitativ voneinander getrennt werden können. Man kann also die Reduktionsfähigkeit der Harnsäurestufe und die in Beziehung auf die Reduktionsfähigkeit die Harnsäure ersetzenden Mengen anderer Körper bestimmen.

Erforderliche Reagenzien.

I. Für die Oxydation des Harnes, zur Bestimmung der Oxydationszahl.

1. Wässerige Orthophosphorsäurelösung, spez. Gew. 1,094 = 16,66 Teile Orthophosphorsäure in 100 Teilen Lösung.
2. 0,5%ige wässerige Indigocarminlösung (1 g Indigocarmin puriss. sicc. Grübler: 200 ccm Wasser und filtriert; die Lösung hält sich nicht lange).
3. $^1/_{10}$ n-Kaliumpermanganatlösung, also 3,16 g $KMnO_4$: 1 Liter.
4. Lackmus- und empfindliches Kongopapier.
5. Schwefligsaures Natrium gepulvert oder frisch bereitete 10%ige Lösung.
6. 20%iges Ammoniak und
7. Käufliche 4%ige Wasserstoffsuperoxydlösung.

II. Reagenzien für die Purinkörper-Bestimmung nach Denigès (S. 237).

Ausführung.

In ein Becherglas zu 500 ccm Inhalt gibt man 100 ccm Harn und prüft seine Reaktion auf blaues Lackmuspapier; bei saurer Reaktion setzt man aus der Bürette zuerst $^1/_2$ ccm, dann tropfenweise so lange der 16,66%igen Phosphorsäure hinzu, bis eine Reaktion auf Kongopapier zum Vorschein kommt und dann darüber hinaus noch 1,5 ccm derselben Säure.

Ist die Reaktion alkalisch, so fügt man dem Harne verdünnte Salzsäure bis zur sauren Reaktion auf Lackmuspapier zu und verfährt wie angegeben.

Dann gibt man 1 ccm Indigocarminlösung hinzu und versetzt unter fortwährendem Umschwenken tropfenweise — möglichst annähernd ein Tropfen in der Sekunde — so lange mit $^1/_{10}$ n-Chamäleonlösung, bis die grünliche Farbe vollkommen verschwunden ist und ein rötlicher oder, bei sehr dünnen Harnen, goldgelber Stich zum Vorschein kommt. Nach einigem Stehen wird die Flüssigkeit nach der ersten Oxydation wieder grün; man beachtet es nicht weiter, sondern setzt sofort zum zweiten Male 1 ccm Indigocarminlösung hinzu und titriert mit Chamäleon wieder bis zum rötlichen Stich, aber viel langsamer als das erstemal; dasselbe wiederholt man zum dritten Male. Jetzt wartet man etwa zwei Minuten ab, bis die Flüssigkeit wieder grünlich geworden ist, und wenn das geschieht, setzt man noch einige Tropfen Chamäleon hinzu, um einen rötlichen Stich zu erzielen, der während zwei Minuten nicht vergeht; ein geringer Überschuß des Permanganats schadet nicht, da er keine Xanthinkörper zerstört. Man notiert sowohl die gesamte Oxydationszahl (= die für die drei Reaktionsteilstrecken zusammen verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-Chamäleonlösung — Bruttooxydationszahl), als auch die dritte Teilstrecke, die etwa den elften Teil der ersteren betragen soll. Dann setzt man zu der sauren Flüssigkeit (die Reaktion auf Kongopapier muß stark bleiben) 1 ccm 10%iger frischer Natriumsulfitlösung oder einige Stäubchen des gepulverten Salzes hinzu, um einen Überschuß von Permanganat auf die Oxydul- oder Oxydstufe zu bringen und uroroseinartige Farbstoffe zu reduzieren, und läßt einige Minuten (5—10) stehen, bis sich die Flüssigkeit möglichst entfärbt hat. Jetzt gibt man zur Ausfällung und Abscheidung der Erdphosphate und des Mangans $1^1/_2$—2 ccm Ammoniak hinzu und bringt das ganze Reaktionsprodukt in einen 200 ccm fassenden Meßkolben; man läßt zum Absetzen der Phosphate stehen, fügt genau 75 ccm Silbermagnesiamischung nach Denigès hinzu und füllt unter Zusatz von 2 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung mit Wasser bis zur Marke 200 ccm auf. Man mischt und stellt 15—25 Minuten ins Dunkle. (Schwach reduzierende Harne läßt man 25 Minuten stehen.) Man filtriert erst die Flüssigkeit ab, bringt den Niederschlag auf das (doppelte) Faltenfilter und filtriert das Filtrat, im Falle es nicht ganz klar sein sollte, nochmals. Von dem

[1]) Journ. Pharm. et Chim. 1921 [7] **23.** 494.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 264.

ganz klaren Filtrate werden genau 160 ccm abgemessen und 22 ccm der Cyankaliumlösung, dann 10 Tropfen Jodkaliumlösung hinzugesetzt; nun wird vorsichtig tropfenweise mit $^1/_{50}$ n-Silberlösung bis zur ersten bleibenden Trübung, die sich beim Umschwenken auch nach zwei Minuten nicht auflösen darf, titriert.

1 ccm $^1/_{50}$ n-Silberlösung = 0,0019 g Xanthinbasen, als Xanthin berechnet.

Bei den Harnen, die eine geringere Bruttooxydationszahl (s. oben) als 8 haben, ist es notwendig, den Harn bei schwach saurer Reaktion (auf Lackmus) zu konzentrieren, bei höher oxydierbaren Harnen (über 14 Bruttooxydationszahl) verdünnt man zu einer Oxydationszahl von etwa 12 oder man muß die Nettooxydationszahl berechnen, die berechnete Menge der n-Chamäleonlösung dem ursprünglichen, entsprechend angesäuerten Harne ohne Indigocarmin tropfenweise zusetzen und dann weiter wie oben verfahren.

Es muß betont werden, daß absolut klare Filtrate nötig sind; jodhaltige, bakterientrübe Harne eignen sich nicht; das Abmessen der Silbermagnesiamischung, der Cyankalium- und Silberlösung hat peinlichst genau zu erfolgen, die Pipetten, Büretten und Meßkolben müssen genau geeicht sein und zusammenstimmen, da ein Tropfen Silberlösung zuviel schon in Betracht kommt und Fehler bedingt. Die Einstellung der Cyankalium- und Silberlösung wird außer nach dem Verfahren von Denigès nochmals in folgender Weise kontrolliert: Man gibt in den 200 ccm fassenden Meßkolben 100 ccm Wasser, 4 ccm 16,66%ige Orthophosphorsäure, 4 ccm Normalätzsoda, 1 ccm 10%iges Natriumsulfit und darauf 2 ccm 20%iges Ammoniak, dann 75 ccm Silbermagnesiamischung nach Denigès und füllt bis zur Marke auf. Man schüttelt um, filtriert durch ein doppeltes Faltenfilter in ein trockenes Gefäß etwa 180 ccm und mißt ganz genau 160 ccm ab. Man setzt 22 ccm der Cyankaliumlösung, dann zehn Tropfen 10%ige Jodkaliumlösung hinzu und titriert mit $^1/_{50}$ n-Silberlösung, indem man die ersten 4 ccm unter Umschwenken schneller zusetzt und dann tropfenweise unter Umschwenken bis zur bleibenden Trübung titriert, die durch zwei Minuten bestehen bleiben muß.

b) Die Oxydations-Niederschlagsmethode zur Bestimmung der Xanthinkörper im Harne.

Prinzip.

Oxydation des Harnes mit Chamäleon in saurer Lösung; Eindampfen in saurer Lösung; Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung; Bestimmung des Silbers im Niederschlage.

Erforderliche Reagenzien.

1. Orthophosphorsaure Lösung, wie bei a.
2. $^1/_{10}$ n-Chamäleonlösung.
3. Schwefligsaures Natrium.
4. 20%iges Ammoniak.
5. Ammoniakalische Silberlösung nach E. Ludwig (S. 217).
6. $^1/_{50}$ n-Rhodanammoniumlösung.
7. 2,5%ige Eisensulfatlösung.
8. Reine konz. Salpetersäure.
9. Käufliches 4%iges Wasserstoffhyperoxydwasser.
10. Asbestfilter nach Haycraft-Herrmann (auch Goochscher Tiegel).

Ausführung.

Bei diesem Verfahren ist eine etwas andere Vorbereitung des Harnes notwendig. Es muß hier die sog. korrigierte Nettooxydationszahl des Harnes bestimmt werden.

Es wird, wie bereits bei *a* angegeben, die Bruttooxydationszahl bestimmt; die Nettooxydationszahl erhält man, wenn man von der Bruttooxydationszahl (die Gesamtmenge in Kubikzentimetern der $^1/_{10}$ n-Chamäleonlösung, verbraucht für die dreimalige Oxydation für Harn und Indigocarmin) die Menge in Kubikzentimetern der $^1/_{10}$ n-Chamäleonlösung, verbraucht für die verwendeten Kubikzentimeter Indigocarmin allein, in Abzug bringt.

Für das Gelingen der Methode ist es notwendig, die Nettooxydationszahl womöglich immer bei der Bruttooxydationszahl 8 zu bestimmen, da bei stark konzentriertem und infolgedessen hoch oxydablem Harne die eigentliche Nettooxydationszahl sonst zu niedrig ausfällt. Die notwendige Verdünnungsformel gibt die Gleichung

$$\frac{\text{Nettooxydationszahl}}{7} = v.$$

In dem nach dieser Formel verdünnten Harne bestimmt man die Bruttooxydationszahl (*BtO* verd.), die nach Abzug der für das Indigocarmin verbrauchten Zahl (*JCO*) die Nettooxydationszahl (*NtO* verd.) ergibt. Diese letztere, durch die Verdünnung *v* multipliziert, gibt die korrigierte Nettooxydationszahl (*NtO* korrig.).

Zu 500 ccm Harn setzt man in einem 1 Liter fassenden Becherglase die fünffache Menge der notwendigen Menge an Orthophosphorsäure (wie S. 239 ermittelt) und hierauf tropfenweise die fünffache Menge der der korrig. Nettooxydationszahl entsprechenden Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-

Chamäleonlösung. Dabei muß der Harn unausgesetzt heftig gemischt werden, was man am besten durch Durchleiten eines kräftigen Luftstromes mit einem Wasserstrahlgebläse oder dergleichen erreicht. Die Tropfen Chamäleonlösung können zuerst schneller, aber zählbar nacheinander folgen, die letzten 10 ccm setzt man langsamer hinzu. Das Reaktionsprodukt versetzt man mit 1 ccm 10%igen Natriumsulfits und läßt die saure Lösung entsprechend, und zwar im Verhältnisse zum spezifischen Gewicht des ursprünglichen Harnes, eindampfen. Man dampft auf dasjenige Volumen oder Gewicht ein, das durch die vier Dezimalen des spezifischen Gewichtes des ursprünglichen Harnes angezeigt wird + 20 ccm; man macht sich zu diesem Zwecke schon von vornherein am Eindampfgefäß eine Marke. Das Eindampfen geschieht zuerst über freiem Feuer und zwar solange, bis die ausgeschiedenen basischen Erdphosphate starke Trübung und Stoßen hervorrufen, dann auf dem Wasserbade bis zur Marke; ein derartiges Eindampfen hat den Vorteil, daß man annähernd immer bei gleicher Konzentration arbeitet. Den Abdampfrückstand läßt man abkühlen, versetzt ihn mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion, gießt die Flüssigkeit in ein Zylinderglas über, spült mit wenig Wasser nach und ergänzt auf die nächste runde Zahl. Nach einigem Stehen filtriert man $^9/_{10}$ ab, setzt zu dem Filtrate auf je 25 ccm desselben 2 ccm konzentriertes Ammoniak, dann auf je 50 ccm Flüssigkeit 1 ccm käufliches Wasserstoffsuperoxydwasser und wartet einige Minuten, bis sich die schwärzliche Flüssigkeit aufhellt und in dünner Schicht gelb wird. Darauf gibt man 5—10 ccm ammoniakalische Silberlösung nach Ludwig hinzu. Etwa ausfallende weiße Silberniederschläge werden durch tropfenweisen Ammoniakzusatz unter Umschwenken gelöst. Nachdem sich der Xanthinkörpersilberniederschlag flockig abgeschieden hat, setzt man 5 ccm Magnesiamischung hinzu und läßt vollkommen absetzen. Dann filtriert man durch ein Asbestfilter die überstehende Flüssigkeit ab und gießt gleichzeitig auf den Bodensatz 50 ccm schwach ammoniakalisches Wasser (0,4%ig) auf, um durch Dekantieren den Niederschlag zu waschen. Während sich der letztere absetzt, wäscht man das Filter mit Ammoniakwasser durch dreimaliges Aufgießen aus. Man dekantiert die Flüssigkeit vom Niederschlage, auf den man wieder frisches Wasser aufgießt, wäscht das Filter dreimal aus und wiederholt diese Operation noch einmal (zusammen dreimal), bis das über dem Niederschlage stehende Wasser nur ganz schwach gefärbt erscheint. Jetzt bringt man auf das Filter zuerst die überstehende Flüssigkeit, wäscht das Filter dreimal aus, bestreut es mit 4 g Natriumbicarbonat in gröblichen Stücken, gibt dann erst den Niederschlag darauf, wäscht ihn an der Pumpe, bis er rissig wird, aus und dann (Vorsicht beim Abstellen der Pumpe, daß keine Luft zurücksteigt!) ohne Pumpe, bis er vollkommen silber- und chlorfrei ist. Der ausgewaschene Niederschlag wird an der Pumpe vom Wasser möglichst befreit, dann durch zweimaliges Aufgießen, Stehenlassen und Absaugen mit je 3 ccm reiner kalter Salpetersäure (1,20) gelöst, der Rückstand zweimal mit je 3 ccm derselben Säure siedend heiß behandelt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Das etwa 150 ccm betragende Filtrat wird zum Abstumpfen der Salpetersäure mit 3 ccm chlorfreiem konzentriertem Ammoniak versetzt, dann 5—10 ccm 2,5%ige Eisensulfatlösung hinzugegeben und mit $^1/_{50}$ n-Rhodanammonium titriert.

1 ccm $^1/_{50}$ n-Rhodanammonium = 1,68 mg Xanthinkörper als Xanthin berechnet.

Beurteilung.

Nach G. Gittelmacher-Wilenko[1]) gibt dieses Verfahren brauchbare Zahlen. Bei Rheum enthaltendem Harne ist die Farbe etwas störend.

7. Klinische Bestimmungsmethode mit dem „Purinometer" nach Walker Hall.[2])

Die Beschreibung der Ausführung dieser Methode liegt dem Purinometer bei. Dieser besteht aus einem graduierten Zylinder, der durch einen durchbohrten Hahn in zwei Teile geteilt ist. Bei geschlossenem Hahn werden 90 ccm des eiweißfreien Harnes und 20 ccm der Lösung I (Ludwigs Magnesiamischung 100 ccm, 20%ige Ammoniakflüssigkeit 100 ccm, Talkum 10 g) in den Zylinder gebracht. Die gefällten und abgesetzten Phosphate werden nach Öffnen des Hahnes im unteren Teil des Apparates gesammelt. Der Hahn wird wieder geschlossen, von der Lösung II (1 g Silbernitrat, 100 ccm starke Ammoniakflüssigkeit, 100 ccm Wasser, 5 g Talkum) bis zur Marke 100 zugefügt und der Purinometer nach dem Umschütteln 24 Stunden bei Lichtabschluß beiseite gestellt. Die Menge des Niederschlages in Kubikzentimetern multipliziert man mit 1,5 und einer für jeden Apparat besonders bestimmten Größe (etwa 0,001) = % des Stickstoffs.

Beurteilung.

Die Bestimmung ist eine nur annähernde und kann für eine genaue Prüfung nicht empfohlen werden.

Wahl der Methode.

Die unter 1 und 3 angeführten Verfahren gelten als die besten; es geben auch die übrigen brauchbare Zahlen.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36.** 20.
[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1903. **16.** 411.

Vor Bestimmungen mit Apparaten (Uricometern u. a.) warnen Brugsch und Schittenhelm, weil damit keine gleichmäßigen und exakten Zahlen gewonnen werden können.

19—21. Die Proteinsäuren. Antoxyproteinsäure. Oxyproteinsäure. Alloxyproteinsäure.

Vor Jahren haben Bondzyński und Gottlieb[1]), sowie Bondzyński und Panek[2]) aus normalem Menschenharne zwei stickstoff- und schwefelhaltige Säuren erhalten, die sie Oxyproteinsäure und Alloxyproteinsäure nannten.

Schon früher hatten C. Voit[3]), M. v. Pettenkofer und C. Voit[4]) im Harne eine stickstoff- und schwefelhaltige Substanz beobachtet, die ebenso wie der Harnstoff mit Mercurinitrat reagierte.

Bondzyński, Dombrowski und Panek[5]) fanden bei späteren Untersuchungen, daß noch ein weiterer Körper vorhanden sein müßte, da sich in den gewonnenen Salzen keine Übereinstimmung ergab; sie isolierten auch noch eine weitere Säure, der sie den Namen Antoxyproteinsäure gaben. Diese letzte Säure soll nun jene Verbindung darstellen, die die bekannte Diazoreaktion, die carminrote Färbung mit der Diazobenzolsulfosäure bei der Ausführung der Probe nach Ehrlich, sowie mit dem Paradiazoacetophenon nach Friedenwald gibt. Ob die Antoxyproteinsäure derjenige Körper ist, der die in verschiedenen Krankheiten beobachtete Färbung des Harnes mit den Diazoreagenzien gibt, bleibt vorläufig dahingestellt. Nach den Untersuchungen von M. Weiss[6]) ist der die Ehrlichsche Diazoreaktion verursachende Körper zwar reichlich in der sogenannten Antoxyproteinsäurefraktion zu finden, die Ursache der Reaktion ist eine in ihren Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren übereinstimmende Substanz unbekannter Natur, die ihren Eigenschaften entsprechend als Urochromogen bezeichnet werden kann. Auf Grund ihrer Untersuchungen weisen zwar F. Browinski und St. Dombrowski[7]) darauf hin, daß keine von den Oxyproteinsäuren Muttersubstanz des Urochroms (Urochromogens) sein kann, wie M. Weiss vermutet, doch siehe bei Urochrom. Die Anschauungen von Weiss könnten nach meiner Meinung größere Klarheit bringen.

Die Bildung der hochmolekularen Säuren wird in engen Beziehungen zum Eiweißstoffwechsel stehen müssen; die 3 Säuren sind wohl als Produkte einer unvollständigen Zersetzung der Eiweißstoffe aufzufassen; sie enthalten ungefähr dieselbe Stickstoffmenge, wie Eiweiß selbst und weiter eine recht große Menge Schwefel, die Proteinsäuren scheinen die Natur des sogenannten neutralen Schwefels im Harne zu erklären. Nach W. Ginsberg[8]) sind die

---

[1]) Centralbl. med. Wissensch. 1897. 577.
[2]) Berl. Bericht. 1902. **35.** 2959.
[3]) Zeitschr. f. Biolog. 1865. **1.** 127. 146.
[4]) Ebenda. 1866. **2.** 470.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 83.
[6]) Biochem. Zeitschr. 1910. **27.** 175; 1911. **30.** 333.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **77.** 92.
[8]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1907. **16.** 411.

Oxyproteinsäuren als Eiweißabbauprodukte (Polypeptide) anzusehen; bei der Hydrolyse geben sie Leucin, wohl auch noch andere Aminosäuren. Ganz sichere Beweise für die Einheitlichkeit der genannten Säuren scheinen, wie auch Abderhalden angibt, nicht vorzuliegen. Nach H. Liebermann[1]) ist die Alloxyproteinsäure, die Ätherschwefelsäure enthält, kein einheitlicher Körper. In die Gruppe dieser Verbindungen wird auch eine Substanz gehören, die von O. Thiele[2]) im Harne gefunden und Uroferrinsäure genannt wurde; ihre Existenz wurde zuerst in Frage gestellt, man hielt sie für ein Zersetzungsprodukt der genannten Säuren.

Die Menge der Proteinsäuren im normalen Harne von Menschen bei gemischter Kost wird auf 3—6,8% des gesamten Stickstoffes geschätzt. Bei Milchdiät sinkt ihre Menge bis auf die Hälfte. Bei Typhus, Leberkrankheiten, nach Phosphorvergiftungen soll eine Vermehrung eintreten.

Zwischen der Menge dieser Stoffe und bestimmten Erkrankungen scheinen Beziehungen zu bestehen, deswegen hat man diesen Stoffen ein größeres klinisches Interesse entgegengebracht.

Die Darstellung der einzelnen Säuren ist umständlich. Aus dem Harne werden die Phosphate mit Kalk ($Ca[OH]_2$), die Schwefelsäure mit Ätzbaryt und der Überschuß an Kalk und Baryt mit Kohlensäure entfernt. Das Filtrat wird im Vakuum bei 55° zu einem dünnen Sirup eingeengt, durch Erkaltenlassen und dann wieder Einengen der größte Teil von Harnstoff und Kochsalz entfernt und der Rückstand nun mit Alkohol-Äther (2 : 1) mehrmals ausgezogen. Im Auszuge sind die 3 Proteinsäuren. Der in Wasser gelöste Rückstand des Auszuges wird mit Bleiessig versetzt; im Niederschlage befindet sich als Bleisalz die Alloxyproteinsäure; dieses wird durch Schwefelwasserstoff zerlegt und dadurch die freie Säure gewonnen.

Aus dem Filtrate vom Bleiessigniederschlage wird das Blei durch Natriumcarbonat entfernt, das Filtrat mit Essigsäure neutralisiert, auf ein kleines Volumen eingeengt, schwach mit Essigsäure angesäuert und mit 20%iger Quecksilberacetatlösung versetzt solange, als ein Niederschlag entsteht. Im Niederschlage ist die Antoxyproteinsäure. Das essigsaure Filtrat wird mit Natriumcarbonat neutralisiert; auf weiteren Zusatz von Quecksilberacetat bildet sich ein die Oxyproteinsäure enthaltender Niederschlag; die verschiedenen Niederschläge werden ausgewaschen und daraus die reinen Säuren hergestellt.

Über die Ausscheidung von Proteinsäuren im Harne von gesunden Menschen, sowie in einigen Krankheitsfällen hat W. Gawiński[3]) quantitative Untersuchungen vorgenommen.

Die Bestimmung der Proteinsäuren zusammen läßt Gawiński in folgender Weise ausführen: Der mit Essigsäure schwach angesäuerte und im Vakuum zu einem dünnen Sirup eingedampfte Harn wird mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, bis Kongopapier einen Umschlag der Farbe anzeigt. Man fügt 2—3 Volumen 96%igen Alkohols hinzu, filtriert die Fällung (Alkalisulfate) ab und wäscht sie mit 75%igem Alkohol aus. Das die Proteinsäuren enthaltende Filtrat verdünnt man mit dem 2—3fachen Volumen Wasser, versetzt mit einem kleinen Überschusse von Barythydrat und entfernt die ausgeschiedenen Salze (phosphorsauren und schwefelsauren Baryt) durch

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **52.** 129.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **37.** 251.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **58.** 454.

Filtrieren. Aus dem Filtrate scheidet man durch Einleiten von Kohlensäure noch vorhandenen Baryt ab und engt das Filtrat im Vakuum bis zum dicken Sirup ein, den man mit Ätheralkohol (2 Vol. Alkohol: 1 Vol. Äther) behandelt und 24 Stunden (zur Entfernung des Harnstoffes) stehen läßt; die Lösung wird durch ein Filterchen filtriert und die im Kolben, auch auf dem Filter verbliebene schmierige Masse in wenig warmem Wasser gelöst. Man dampft die Lösung mit Sand im Hofmeisterschen Schälchen ein, zieht den zerriebenen Schaleninhalt 3—5 Stunden in einem Soxhletschen Apparat mit absolutem Alkohol aus, löst den mit Alkohol behandelten Rückstand im Apparat mit warmem Wasser und bringt das wässerige Filtrat auf ein bestimmtes Volumen; in dieser wässerigen Lösung sind die Bariumsalze der 3 Proteinsäuren; Harnstoff, Hippursäure, Kreatinin sind entfernt; man bestimmt in der wässerigen Lösung nach Kjeldahl den Stickstoff der Proteinsäuren.

Gawiński fand beim normalen Menschen bei einer Ausscheidung von 10,5—18,5 g Stickstoff für den Liter 0,56—1,26 g Stickstoff als Proteinsäuren-Stickstoff = 4,5—6,8% des Gesamtstickstoffs.

Die Übersicht S. 245, von M. Weiss entworfen, veranschaulicht die Trennung der drei Säuren und weist auf den die Ehrlichsche Diazoreaktion verursachenden Körper hin.

O. v. Fürth[1]), A. Mandinaveitia[2]) bringen Mitteilungen über Verfahren zur Bestimmung und über die Oxyproteinsäure im Urin und im Blut.

Eigenschaften.

Die Oxyproteinsäure mit 18,082% Stickstoff und 1,12% Schwefel ist in Wasser löslich, auch ihre Salze lösen sich in Wasser; aus wässeriger Lösung wird sie bei neutraler Reaktion durch essigsaures und salpetersaures Quecksilber, nicht durch Bleiessig gefällt. Der Schwefel wird beim Kochen mit Kalilauge zum Teil als Schwefelwasserstoff abgespalten. Sie ist jedenfalls eine höhere Oxydationsstufe der Antoxyproteinsäure. Die Lösungen der Salze sind optisch inaktiv; sie gibt nicht die Ehrlichsche Diazoreaktion, auch nicht die Biuretprobe.

Die Alloxyproteinsäure mit 13,55% Stickstoff und 2,19% Schwefel wird durch Bleiessig gefällt. Sie gibt die gewöhnlichen Eiweißreaktionen (Biuret usw.) nicht, auch nicht die Ehrlichsche Diazoreaktion, enthält durch Alkali als Schwefelwasserstoff abspaltbaren Schwefel.

Die Antoxyproteinsäure mit 24,40% Stickstoff und 0,61% Schwefel ist löslich in Wasser, die Lösung ist rechtsdrehend. Die Säure gibt keine Eiweißreaktionen, aber bei der Vornahme der Diazoreaktion nach Ehrlich mit Diazobenzolsulfosäure eine karminrote Färbung, ebenso mit Paradiazetophenon nach Friedenwald.

Die von Cloetta isolierte, Uroprotsäure genannte Säure wird nach den Untersuchungen von Bondzyński, Dombrowski und Panek aus mehreren Säuren bestehen.

Zu erwähnen sind hier noch ein von P. Hári[3]) aus Menschenharn dargestellter Körper, eine stickstoffhaltige Säure, der polypeptidartige Körper von E. Abderhalden und F. Pregl[4]), aus Menschenharn gewonnen, der wohl einen Abkömmling der Eiweißstoffe darstellt und dem totalen Abbau im Stoffwechsel entgangen ist und eine Chromoxyproteinsäure von O. Bocchi und A. Ghelfi, dann von Oliari isoliert, die als Trägerin der Diazoreaktion angesehen wird, die aber nach Weiss das Urochromogen enthält (s. dieses).

22. Glykuronsäure. Glucuronsäure.

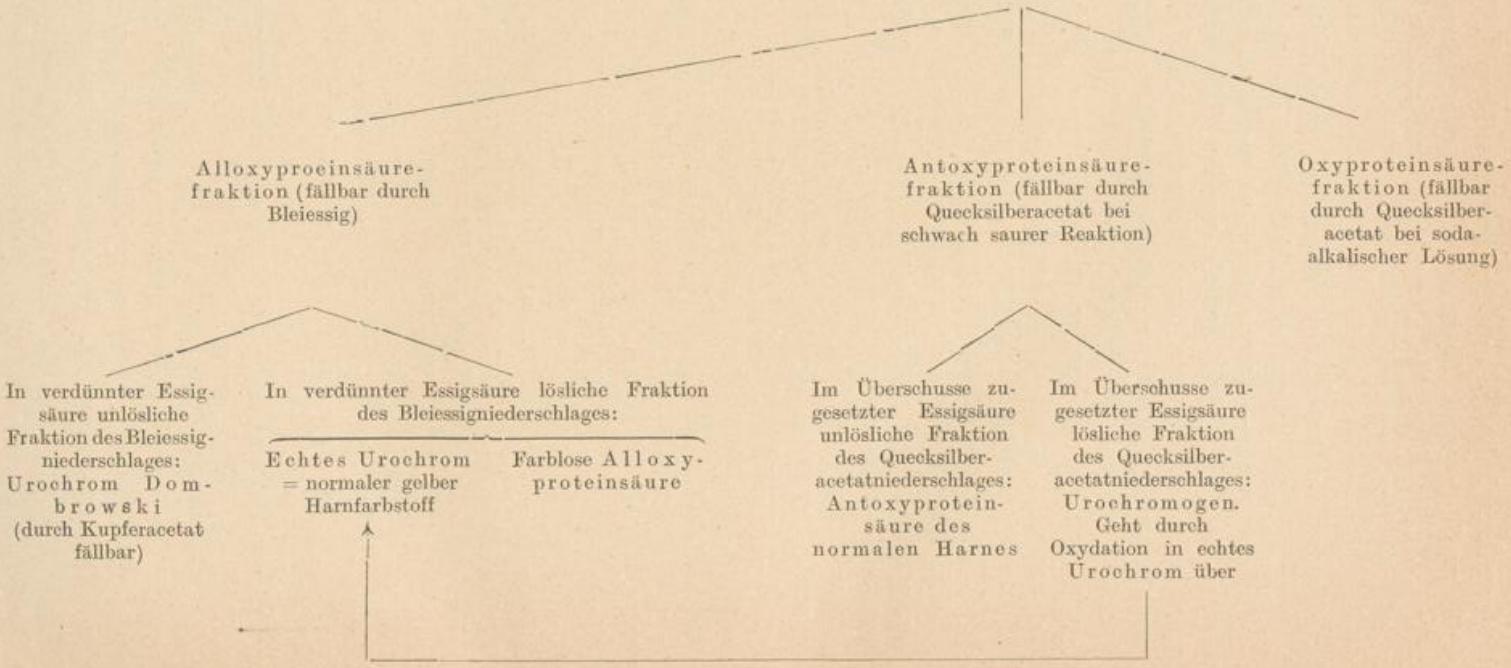
$C_6H_{10}O_7$ oder $CHO(CH \cdot OH)_4COOH$.

Die Glykuronsäure, eine Tetraoxyaldehydsäure, kommt als solche, als freie, im Harne nicht oder nur vielleicht in Spuren vor; infolge der Einverleibung

[1]) Biochem. Zeitschr. 1915. **69.** 448.
[2]) Ann. soc. espaniol. Fils. Quim. 1919. II. **17.** 136.
[3]) Orvosi Archiv. 1904. **6.** 585; Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 1.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 19.

Proteinsäurenfraktion

(Fraktion der Substanzen, die wasserlösliche, durch Alkohol fällbare Barytsalze bilden)



verschiedener Arzneimittel, als welche besonders Chloral, Chloroform, Phenol, Kresol, Thymol, Guajacol, Hydrochinon, Resorcin, Brenzkatechin, Orcin, Terpentinöl, Menthol, Naphthol, Camphor, Acetanilid, überhaupt die Aniline, Kairin, Morphin usw. zu nennen sind, ferner infolge der Entstehung gewisser aromatischer Körper durch Fäulnis im Darmkanal (Phenole, Indol) können im Harne Produkte auftreten, die als esterartige (glykosidartige) Verbindungen verschiedener fetter und aromatischer Alkohole und Phenole mit der Glykuronsäure aufzufassen sind — gepaarte Glykuronsäuren. Der Glykuronsäure kommt hier die gleiche Aufgabe wie der Schwefelsäure zu, für den Organismus giftige Substanzen durch Kuppelung unschädlich zu machen, sie dienen also zur Entgiftung; vorzüglich wird Glykuronsäure zur Entgiftung von Phenolen, zu denen sie größere Verwandtschaft, wie die Schwefelsäure hat, herangezogen. Diese erwähnten Verbindungen werden durch hydrolisierende Agenzien, so bei der Behandlung mit verdünnten Säuren unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glykuronsäure und in die zugehörigen Alkohole gespalten. Die Menge der aus den gepaarten Glykuronsäuren im normalen Harne täglich abgespaltenen Glykuronsäure beträgt nach den Arbeiten von P. Mayer und C. Neuberg[1]), die zuerst kleine Mengen von gepaarten Glykuronsäuren im Harne vorfanden, ungefähr 0,04 g, nach C. Tollens[2]) 0,35 g, doppelt soviel wie Ätherschwefelsäure.

So werden von den am häufigsten vorkommenden und bekannten gepaarten Glykuronsäuren die Camphoglykuronsäure (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 Harne, ebenso wie nach Thymoleingabe Thymolschwefelsäure neben Thymolglykuronsäure entsteht. Terpentinöl gibt Terpenglykuronsäure. Die gepaarten Glykuronsäuren, die im normalen Harne zunächst vorhanden sein können, sind die Indoxyl-, Skatoxyl-, Phenol-, p-Kresol-glykuronsäure. Eine vermehrte Bildung der Glykuronsäure findet sich bei den Vorgängen im Organismus, die auch eine Vermehrung dieser Phenole (z. B. bei Darmfäulnis) bedingen; vermehrt kann die Ausscheidung weiter sein bei schweren Respirationsstörungen, starker Dyspnoe, bei Diabetes mellitus.

Zur Darstellung gepaarter Glykuronsäuren kann man in folgender Weise verfahren:

Man dampft die innerhalb eines Tages entleerte Harnmenge oder größere Mengen Harn zum Sirup ein und schüttelt diesen nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure mit Alkoholäther (1 : 2) einige Male tüchtig aus. Der Verdunstungsrückstand der Alkoholätherlösung wird mit Wasser aufgenommen, die Lösung mit neutralem Bleiacetat behandelt und filtriert. Aus dem Filtrate fällt man die Glykuronsäureverbindungen mit Bleiessig;

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **29.** 256.
[2]) Ebenda. 1910. **68.** 138.

ein Überschuß muß vermieden werden, da er die basischen Salze der Glykuronsäure wieder teilweise lösen kann; der Bleiniederschlag wird nach dem Abfiltrieren in Wasser verteilt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlage nach dem Entfernen des Schwefelwasserstoffes (am besten durch Durchleiten von Luft) 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 hiebei aus.

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

C. Neuberg und S. Lachmann[1]) verfahren ähnlich bei der Darstellung von Mentholglucuronsäure. Der Harn wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit etwa einem Viertel seines Volumens Äther und einem Achtel Alkohol von 98% versetzt und 4 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Der abgetrennte und filtrierte Ätherauszug wird mit konzentriertem Ammoniak bis zur ausgesprochen alkalischen Reaktion versetzt und abdestilliert. Von selbst oder auf Zusatz von etwas konzentriertem Ammoniak krystallisiert fast der gesamte Ätherrückstand. Man saugt am nächsten Tage das schwer lösliche mentholglucuronsaure Ammoniak ab und wäscht es mit Wasser. Es verliert an der Luft leicht Ammoniak. Das Salz löst man in möglichst wenig heißem Wasser, fällt mit Bleiessig, zerlegt den ausgewaschenen Niederschlag in gelinder Wärme vollständig mit Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat vom Bleisulfid ein. Man erhält Mentholglucuronsäure, die auch durch Umkrystallisieren des rohen Ammoniumsalzes aus salzsäurehaltigem Wasser entsteht. Die Spaltung erfolgt beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure. Das entstehende Menthol wird ausgeäthert. Bleizucker, Bleiessig sollen im Überschusse nicht zur Anwendung kommen.

Nach J. Bang[2]) läßt sich die Methode noch einfacher gestalten.

Man versetzt den gesammelten Harn mit Ammoniumsulfat bis zur Halbsättigung, erhitzt zum Kochen und filtriert warm. Beim Abkühlen scheidet sich das Ammoniumsalz der Mentholglucuronsäure schneeweiß aus, und zwar so gut wie quantitativ. Die freie Säure läßt sich dann entweder durch Umkrystallisieren aus säurehaltigem Wasser oder Auflösen in säurehaltigem Alkohol bequem darstellen.

Die Glykuronsäure ist in erster Linie als ein Entgiftungsprodukt anzusehen (F. Blumenthal) und stellt ein Derivat der Glucose dar; dies wurde durch die Überführung der Glykuronsäure in d-Zuckersäure durch Thierfelder und durch die Synthese von der d-Zuckersäure aus von E. Fischer und Piloty[3]) bewiesen. A. Jolles[4]) stellte durch Oxydation von Glucose Glykuronsäure dar. Vielleicht ist die Glykuronsäure als ein Produkt unvollständiger Zuckeroxydation aufzufassen, bei der die Glykuronsäure infolge der Unfähigkeit des Organismus nicht weiter zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird; dies würde mit der Tatsache in Übereinstimmung stehen, daß die Ausscheidung von gepaarten Glykuronsäuren häufig bei der alimentären Glykosurie, sowie beim Diabetes mellitus beobachtet wird; es wurden sogar bei größerer Zufuhr von Kohlenhydraten solche Glykuronsäuren im Harne vorgefunden, bevor nur eine Zuckerausscheidung sich bemerkbar machte. Ausgeschlossen ist auch nicht, daß die Säure nicht nur aus den Kohlen-

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. **24.** 416.
[2]) Ebenda. 1911. **32.** 445.
[3]) Berl. Bericht. 1891. **24.** 521.
[4]) Sitzungsber. Akad. Wissensch. Wien 1911. Separatabdr.; Berl. klin. Wochenschr. 1912. **49.** Nr. 39.

hydraten, auch aus Glykogen, sondern auch aus Eiweißstoffen entstehen kann; letztere Ansicht ist in letzter Zeit bezweifelt worden. Endlich ist noch zu erwähnen, daß nach Schmiedebergs Versuchen und Untersuchungen die Glykuronsäure auch aus der Chondroitinschwefelsäure des Knorpels entstehen kann, da bei der künstlichen Zersetzung der genannten Verbindung, die ja auch im Harne vorhanden ist, wirklich Glykuronsäure entsteht.

Bial und Huber fanden, daß die Säure im Darm gebildet wird, P. Mayer und Lépine konnten sie im Blut und in der Leber vorfinden.

Eigenschaften und Erkennung (Nachweis) glykuronsäurehaltiger Harne.

Solche Harne drehen, obwohl die reine Säure rechts dreht, fast immer links, da die gepaarte Säure vorliegt; eine Linksdrehung über 0,05% läßt schon auf Glykuronsäure schließen, zumal wenn nach dem 1—2stündigen Kochen des Harnes mit 1—5%iger Schwefelsäure oder Salzsäure im Wasserbade am Rückflußkühler diese Linksdrehung in Rechtsdrehung verwandelt wird, wenn Reduktion eintritt und wenn auch noch der Nachweis von Phenol, Indoxyl neben Ätherschwefelsäure zu erbringen ist. Nach Lysolvergiftung z. B. kann die Drehung mehrere Grade oder (auf Zucker berechnet) mehrere Prozente betragen. Bei der Vornahme der polarimetrischen Prüfung ist zu berücksichtigen, daß der Harn sauer sein muß, da in alkalischer Lösung nach Haas die Drehung verschwindet; endlich kann es auch noch vorkommen, daß durch eine stattgefundene Zersetzung, durch Bildung der freien Säure, glykuronsäurehaltiger Harn möglicherweise doch hie und da Rechtsdrehung zeigen kann. Am zweckmäßigsten wird man das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlage nach der Behandlung mit Bleiessig (s. Darstellung) für diese Versuche verwenden. Glykuronsäurehaltige Harne reduzieren im allgemeinen Fehlingsche Lösung (Ausnahmen machen die Phenol- und Camphoglykuronsäure) und zwar einige direkt, andere erst nach längerem Kochen (Indoxylglykuronsäure); freie Säure reduziert, da sie eine Aldehydgruppe enthält, schon in der Kälte. Nach vorausgegangener Spaltung durch Erhitzen mit Säuren reduzieren alle Glykuronsäuren und geben dann auch mit Phenylhydrazin Abscheidungen, die mit dem Glykosazon verwechselt werden können. Glykuronsäurehaltiger Harn gärt nicht, weder vor noch nach der Hydrolyse. Diese Eigenschaften der Glykuronsäuren sind von großer Wichtigkeit bei dem Zuckernachweise.

Nachweis.

1. Man nimmt die Orcinprobe (s. Pentosen) vor und zwar, nachdem man den Harn mit Schwefelsäure erwärmt und die Verbindung gespalten hat, da in ungespaltenem Harne diese Probe negativ ausfällt. Man kann auch etwa 3 ccm Harn nach Zugabe von etwas Orcin mit 5 ccm konzentrierter Salzsäure zum Sieden erhitzen und etwa $^1/_2$ Minute kochen, bis die Lösung trübe violett geworden ist. Den gebildeten Farbstoff schüttelt man mit Amylalkohol aus;

es zeigt sich zwischen C und D der charakteristische Streifen. Weiter nimmt man die Polarisation in der oben angegebenen Weise vor.

Beurteilung.

Für den klinischen Bedarf wird diese Probe in den meisten Fällen ausreichen, wenn sie auch unter Umständen versagen kann; es liegt erstens die Möglichkeit vor, daß der bei der Spaltung der stets linksdrehenden gepaarten Glykuronsäure mit verdünnter Schwefelsäure abgetrennte Paarling auch optische Aktivität besitzt (z. B. Camphor, Menthol usw.) und daß der Harn ferner infolge der Säurebehandlung dunklere Färbung annehmen kann, die man durch Behandlung mit Tierkohle wegen Aufnahme der Glykuronsäure durch die Kohle nicht auf diese Weise entfernen kann. Auch die Orcinsalzsäurereaktion kann unter Umständen im Stiche lassen. Ich benutze mit gutem Erfolge für diese Proben, wie schon oben erwähnt, das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlage (s. Darstellung).

2. Zum genauen Nachweis müßte man nach P. Mayer und C. Neuberg[1]) verfahren und die p-Bromphenylhydrazinverbindung darstellen. Man spaltet im Filtrate vom Schwefelbleiniederschlage nach der Behandlung mit Bleiessig (s. Darstellung) die vorhandene gepaarte Glykuronsäure durch etwa 2stündiges Kochen mit Schwefelsäure (die Flüssigkeit muß 1—2% Schwefelsäure enthalten), neutralisiert genau mit Natriumcarbonat und versetzt die filtrierte Flüssigkeit mit einer vorher erhitzten Lösung von 5 g reinem salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 6 g Natriumacetat; man erwärmt das Becherglas, das mit einer Glasschale bedeckt ist, im Wasserbade etwa 10 Minuten lang und filtriert. Beim Erkalten erfolgt reichliche Bildung von Krystallen, die abgesaugt werden; die Mutterlauge wird von neuem erhitzt, die sich abscheidenden Krystalle werden gesammelt. Die Hydrazinverbindung wäscht man mit heißem Wasser und mit absolutem Alkohol und krystallisiert sie mehrmals aus 60%igem Alkohol um; durch Lösen in Pyridin und Ausfällen mit Ligroin können die Krystalle vollständig gereinigt werden. Diese Hydrazinverbindung prüft man polarimetrisch, indem man 0,2 g in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol löst und in der 100 mm-Röhre polarisiert. Die Hydrazinverbindung dreht sehr stark links ($-7°25'$).

Die reinen Krystalle schmelzen bei 236°.

3. B. Tollens[2]) beschreibt folgendes, auch zur Unterscheidung von den Pentosen dienendes Verfahren:

Zu 5 ccm Harn fügt man in einem 15—20 mm weiten Reagenzrohre eine etwa hirsekorngroße Menge Naphthoresorcin oder 0,5—1,0 ccm einer 1%igen alkoholischen Lösung desselben und 5 ccm rauchende Salzsäure (1,19). Man erwärmt langsam über der Flamme zum Kochen und setzt das Kochen unter Bewegen des Rohres über ganz kleiner Flamme noch eine Minute gelinde fort. (Nach einer weiteren Mitteilung[3]) stellt man das Reagenzglas mit Inhalt

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **29.** 256; Berl. Bericht. 1899. **32.** 2395.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **56.** 652; Pharm. Centrlh. 1910. **51.** 341.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 39.

15 Minuten lang in ein kochendes Wasserbad.) Nach 4 Minuten langem Stehen kühlt man das Reagenzglas unter der Wasserleitung ab und schüttelt mit der gleichen Raummenge Äther kräftig aus. Die klar abgesetzte Ätherschicht (wenn nötig, Zusatz einiger Tropfen Alkohols) ist, wenn Glykuronsäure vorhanden ist, je nach der Menge dunkelblau bis violett, bei geringem Gehalte in ein schwach rötliches Violett übergehend. Vor dem Spektralapparate zeigt sie ein deutliches dunkles Band in der Gegend der Natriumlinie, rechts von der D-Linie. Man kann auch, wie erwähnt, 0,5 ccm einer 1%igen alkoholischen Naphthoresorcinlösung anwenden, doch ist die Ausführungsform mit festem Naphthoresorcin nach C. Neuberg sicherer.

Beurteilung.

Nach B. Tollens kann man mit der Reaktion die in einer Reihe normaler Harne vorhandene Glykuronsäure erkennen. Bei Verwendung der schon erwähnten Arzneimittel erhält man eine deutliche und starke Reaktion. Die Ätherschicht ist dunkelviolett bis tiefblau und man muß 2—3fach mit Äther verdünnen, um im Spektralapparat das breite schwarze Absorptionsband zu erkennen. Bei mit Lysol Vergifteten wurde eine sehr starke Reaktion erhalten. Man kann aus der Stärke der Reaktion einen Schluß ziehen, ob eine mehr oder weniger starke Vermehrung der Glykuronsäure vorliegt. Nach J. A. Mandel und C. Neuberg sollen verschiedene im Harne vorkommende Stoffe (Allantoin, Brenztraubensäure, Carbonylsäuren überhaupt usw.) ähnliche oder gleiche Reaktion geben. Tollens fand, daß zwar ätherlösliche Farbstoffe entstehen, die aber die Ätherschicht nicht charakteristisch blauviolett, sondern mehr oder weniger intensiv kirschfeuerrot oder verwaschen rötlich färben. Die Gegenwart von Traubenzucker setzt die Empfindlichkeit herab. Man soll dann nach P. Mayer und Neuberg vorgehen, den Harn zuerst mit Bleizucker, das Filtrat davon mit Bleiessig fällen. Die beiden Niederschläge wäscht man aus, trocknet sie leicht auf porösen Tontellern und stellt damit, auch mit dem letzten Filtrate die Reaktion mit Naphthoresorcin usw. an. Wenn nur wenig Glykuronsäure im Harne vorhanden war, erhält man jedenfalls mit dem zweiten Niederschlage (Bleiessigfällung), der die meiste Glykuronsäure enthält, den deutlich blauen Ätherauszug mit gut sichtbarem Absorptionsstreifen. Mit diesem Niederschlage bekommt man die Reaktion sehr schön rein. Wenn viel Glykuronsäure vorhanden ist, geben auch der erste Niederschlag und das zweite Filtrat noch positive Reaktionen. Neuberg empfiehlt, die Ätherschicht zu filtrieren, um sich vor Täuschungen zu schützen; die durch Zucker veranlaßten, im Äther suspendierten Farbstoffe geben dem Äther eine Färbung, der filtrierte Äther ist aber dann farblos.

A. Jolles[1]) empfiehlt zur Erhöhung der Empfindlichkeit der Tollensschen Reaktion 200—400 ccm Harn zuerst mit Bleiacetat und das Filtrat hievon mit Bleiessig zu fällen, die beiden ausgewaschenen vereinigten Niederschläge mit Wasser verrührt in einem Kolben nach dem Erwärmen auf 70° mit Schwefelwasserstoff zu behandeln und das Filtrat auf 20 ccm einzuengen. Nach dem Erkalten nimmt man mit 5 ccm der Lösung die Probe wie angegeben vor.

C. Neuberg und O. Schewket[2]) lassen 5—10 ccm frischen Harn in einem kleinen Scheidetrichter mit etwa 2 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzen und mit 10 ccm Alkohol und 20 ccm Äther mehrmals ausschütteln. Der abgelassene Äther wird mit 2—3 ccm Wasser oder Chlornatriumlösung gewaschen und abfiltriert; mit dem Rückstande können die Proben 1 und 3 angestellt werden.

4. Eine Spur Glucuronsäure, mit 1—2 Tropfen einer 15%igen alkoholischen α-Naphtholösung versetzt, gibt auf Zusatz von 3—4 ccm konz. Schwefelsäure eine tief smaragdgrüne Lösung. (G. Goldschmidt[3]).

   Zum Nachweis im Harne versetzt man $^1/_2$—1 ccm Harn mit 2 Tropfen der α-Naphthollösung und schichtet diese Mischung sehr vorsichtig auf 3—4 ccm konz. Schwefelsäure; an der Berührungsstelle der Schichten erscheint ein violetter Ring, der beim ruhigen Stehen nach der Harnseite an Breite zunimmt, während infolge Diffusion des Harnes in die Schwefelsäure diese von der Grenzfläche aus nach unten sich grün färbt; man sieht auch manchmal dunkelgrüne Schlieren sich nach unten verbreiten. $^1/_2$ ccm Harn gibt die Reaktion sehr deutlich und zwar nicht nur den grünen Ring und die

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **81.** 203; Pharm. Centralh. 1912. **53.** 1090; Zeitschr. angew. Chem. 1912. **25.** 2015.

[2]) Biochem. Zeitschr. 1912. **44.** 502; 1913. **55.** 4.

[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **65.** 392.

Schlieren, sondern es färbt sich sogar, wenn man die Probe, ohne sie gemischt zu haben, etwa $^1/_4$ Stunde ganz ruhig stehen läßt und dann durchmischt, die ganze Flüssigkeit smaragdgrün. Man soll noch 0,008 mg im Harne nachweisen können.

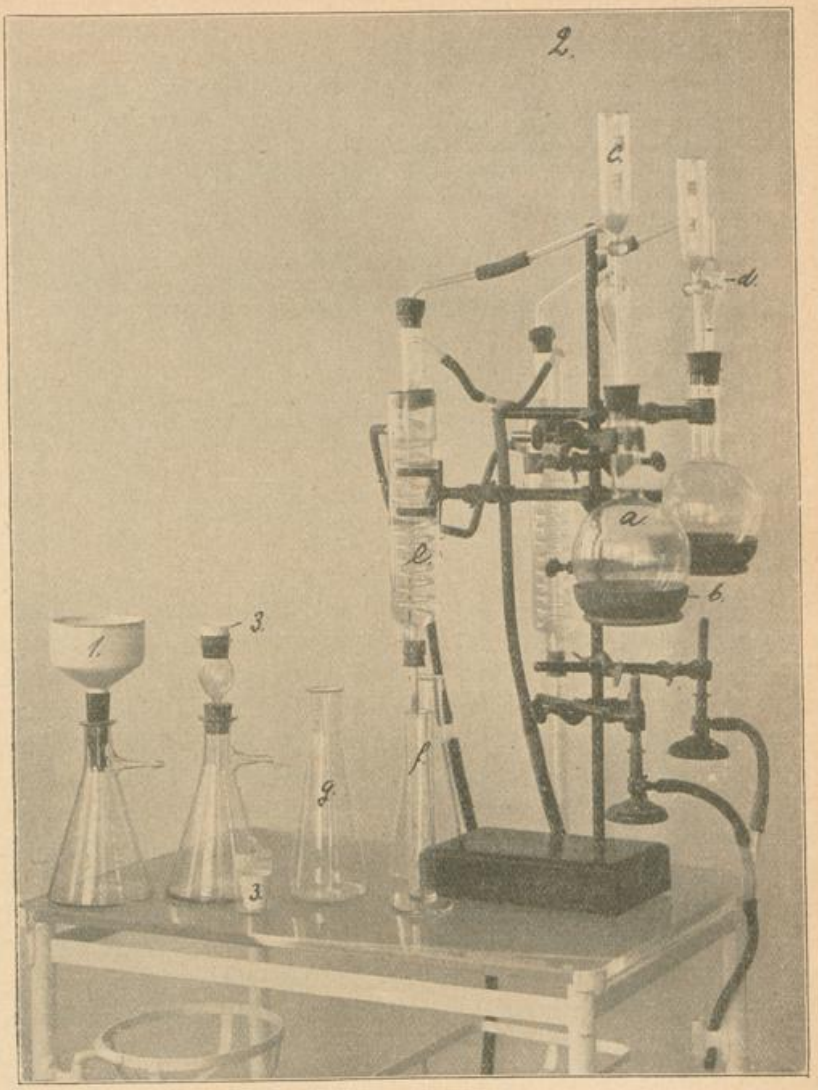


Fig. 40.

Beurteilung.

Nitrate, Nitrite geben die gleiche Reaktion; solche können leicht im Harne, auch in der Schwefelsäure enthalten sein. Es ist daher Vorsicht geboten. Prüfung erst mit Diphenylamin vornehmen! (E. Luther, C. Neuberg, L. v. Udránszky.)

Quantitative Bestimmung nach C. Tollens.[1])

Prinzip des Verfahrens ist,
die Glucuronsäure durch Destillation mit Salzsäure in Furfurol und Kohlensäure zu spalten, $C_6H_8O_6 = C_5H_4O_2 + CO_2 + H_2O$, Glucuronsäurelacton = Furfurol + CO_2 + H_2O; diese Spaltung

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **61.** 95.

haben de Chalmot, Mann und B. Tollens zuerst ausgeführt. Das abdestillierte Furfurol wird dann mit Phloroglucin aus der Salzsäure enthaltenden Lösung ausgefällt. Der Niederschlag, das Furfurolphloroglucid, wird nach dem Abfiltrieren und Trocknen gewogen. Das Gewicht des Furfurolphloroglucids ist, wie Lefèvre und Tollens[1]) wieder fanden, genau $^1/_2$ der vorhanden gewesenen Glykuronsäure.

Erforderliche Apparate und Reagenzien.

1. Eine ziemlich große Nutsche mit Saugflasche und gehärtetem Filtrierpapier.
2. Ein Destillierapparat, ähnlich dem von B. Tollens angegebenen. Fig. 40.
   a) 1 Literkolben aus Jenaer Glas.
   b) Metallbad mit Roseschem Metall.
   c) Hahntrichter, der zweckmäßig 75 ccm faßt und mit Marken bei 30 und 60 ccm versehen ist.
   d) Schaumfänger.
   e) Schlangenkühler.
   f) Graduierter, 100 ccm fassender Zylinder.
   g) Gefäß zum Auffangen des Destillates mit Marke bei 400 und 500 ccm.
3. Porzellangoochtiegel mit Wägegläschen und passender Saugflasche.
4. Bleiessig.
5. Ammoniak.
6. Salzsäure vom spez. Gew. 1,060.
7. Phloroglucinum purissim. (Merck).
8. Als Reagens auf Furfurol eine frische Lösung von gleichen Teilen Wasser und Anilin, der so lange konzentrierte Essigsäure zugetropft ist, bis die (plötzlich eintretende) Klärung erfolgt ist.
9. Lang- und feinfaseriger Asbest.

Die Herrichtung des Filters im Gochtiegel ist S. 38 beschrieben.

Ausführung.

250 ccm Urin werden mit 150 ccm Bleiessig und 5 ccm Ammoniak versetzt. — Entfernung von störendem Harnstoff usw. — Mehrstündiges Absitzenlassen. Mit Hilfe der mit doppeltem gehärtetem Filter versehenen Nutsche wird zunächst die klare, überstehende Flüssigkeit entfernt; dann wird der Niederschlag aufs Filter gebracht und mit der Saugpumpe allmählich stärker abgesogen. Von Wichtigkeit ist es, nunmehr den Niederschlag gründlich mit destilliertem Wasser auszuwaschen, mit etwa 750 ccm. Man saugt das jedesmal aufgegossene Quantum Wasser, mit dem man vorher noch das Becherglas, das den Niederschlag enthielt, ausspülte, so weit ab, bis der Niederschlag anfängt, Risse zu bekommen, nicht weiter, sonst bilden sich tiefe lange Risse, durch die das Wasser wirkungslos abfließt. Nur das letzte Waschwasser saugt man gründlich ab. Den Niederschlag läßt man an einem warmen Orte, in der Nähe der Heizung, so lange trocknen, bis er rissig geworden und vom Rande abgesprungen ist. Er läßt sich nun leicht mitsamt dem obersten der beiden Filtrierpapiere abheben, zusammenrollen und in den 1-Literkolben des Destillationsapparates bringen. Das zweite Papier benutzt man zum sauberen Abwischen der Nutsche, um es dann ebenfalls in den Kolben zu werfen. In diesen bringt man 100 ccm der Salzsäure und destilliert energisch. Jedesmal, wenn 30 ccm in die Vorlage übergegangen sind, läßt man von neuem 30 ccm Salzsäure durch den Hahntrichter zulaufen. Man destilliert möglichst schnell und so lange, bis die Furfurolprobe nicht mehr positiv ausfällt.

---

[1]) Berl. Bericht. 1907. 40. 4513.

Diese stellt man so an, daß man einen Tropfen des aus dem Kühler fließenden Destillates auf einen Streifen Filtrierpapier fallen läßt. Daneben bringt man einen Tropfen des Reagens 8, so daß die Ränder der Tropfen ineinander überfließen. Beim Vorhandensein von Furfurol bildet sich hier ein roter Teilring. Man muß im allgemeinen 400—500 ccm überdestillieren lassen, was in 50—60 Minuten möglich ist. Unter kräftigem Umschütteln gibt man zum Destillate eine frischbereitete Lösung von Phloroglucin in erwärmter Salzsäure (1,060). Man nimmt doppelt soviel Phloroglucin, als man Furfurolphloroglucid erwartet; mit 0,25 g wird man wohl immer auskommen. Das Destillat füllt man genau auf 400 oder 500 ccm auf; es tritt schließlich dichte schwärzliche Trübung auf. Nach 16stündigem Stehen filtriert man im Goochschen Tiegel und wäscht aus; dieser wird vorher ausgeglüht, dann bald in das im Trockenschranke bei 98° getrocknete Wägegläschen gestellt und nach dem völligen Abkühlen gewogen. Das Filtrieren und Auswaschen geschieht mit Hilfe einer schwachwirkenden Saugpumpe und dauert etwa 10—15 Minuten; man muß zum Auswaschen stets dieselbe Menge destillierten Wassers — genau 150 ccm — nehmen. Man läßt beim Absaugen des Waschwassers aus dem Tiegel nur so viel abfließen, daß der Niederschlag eine gut feuchte Oberfläche behält; dann fügt man neues Waschwasser hinzu und verfährt ebenso. Man vermeidet auf diese Weise die Bildung von Rissen. Es muß vorsichtig ausgewaschen und alle Salzsäure entfernt werden. Nach dem Auswaschen kommt der Goochtiegel sofort in das bereits im auf konstante Temperatur von 98—100° gebrachten Wärmeschranke stehende Wägeglas und bleibt dort genau 4 Stunden; dann wird das Wägeglas mit dem Deckel geschlossen, sofort in den Exsiccator gestellt und mitsamt Tiegel nach dem Abkühlen gewogen. Das Furfurolphloroglucid ist stark hygroskopisch.

Durch Multiplikation des gefundenen Gewichtes an Furfurolphloroglucid mit 3 erhält man das Gewicht des entsprechenden Glucuronsäurelactons.

Die Gewichtszahl bedarf einer Korrektur, da eine gewisse genau berechnete Menge Phloroglucid gelöst bleibt. In 550 ccm Destillat + Waschwasser lösen sich gerade 0,0051—0,0052 g, in 650 ccm 0,0060—0,0061 g Phloroglucid. Diese Menge wäre obigem Resultate je nach der Menge des Destillates hinzuzufügen.

Beurteilung.

Diese Methode soll die allein brauchbare sein.

Das von C. Neuberg und W. Neimann[1]) empfohlene Verfahren der Überführung der Glykuronsäure in δ-Zuckersäure ist nach der Mitteilung des Verf. nicht für alle Fälle anwendbar.

Klinische Bestimmung der Glykuronsäure nach C. Tollens[2]).

Prinzip.

Beruht auf der Naphthoresorcin-Salzsäurereaktion nach B. Tollens; bei Anwendung gleicher Mengen Reagens, Urin oder verdünntem Urin erhält man eine Färbung der Ätherschicht, die proportional der Menge der im Urin vorhandenen Glykuronsäure ist.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **44.** 127; C. Neuberg, Der Harn. J. Springer, Berlin 1911.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **61.** 109.

Wenn 5 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit 0,5—1 mg Glykuronsäure enthalten, dann ist in einem Reagenzglase von 13 mm lichter Weite die untere Grenze der Sichtbarkeit der Reaktion sowohl der Farbe der Ätherschicht, als auch des Absorptionsstreifens erreicht.

Ausführung.

Die erste orientierende Probe stellt man mit 5 ccm Urin, 0,5 ccm der 1%igen alkoholischen Naphthoresorcinlösung, 5 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewichte 1,190 in einem Reagenzglase von 13 mm lichter Weite an. Man kocht genau 1 Minute und läßt 4 Minuten absitzen. Gründliches Abkühlen unter fließendem Wasser, Ausschütteln mit 10 ccm Äther, 1 Minute stehen lassen, dann Hinzufügen von 0,5 ccm Alkohol! Fällt die Reaktion mit 5 ccm Urin stark positiv aus, nimmt man zur nächsten Reaktion 3 ccm Urin, 2 ccm Wasser, sonst dasselbe; dann 2 ccm Urin, 3 ccm Wasser; schließlich 1 ccm Urin, 4 ccm Wasser und sofort, bis die Reaktion eben noch positiv ist. Die zuletzt verwandte Urinmenge enthält dann etwa 0,5—1 mg Glykuronsäure.

Beurteilung.

Die kolorimetrische Bestimmung ist zur schnellen Orientierung über den ungefähren Glykuronsäuregehalt eines Urins nach den gefundenen Vergleichszahlen nicht ungeeignet; genaue Resultate sind natürlich mit dieser Probe nicht zu erwarten.

Eigenschaften der Glykuronsäure.

Die reine, einbasische Glykuronsäure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Sirup und gibt gut krystallisierende Alkalisalze, sie dreht rechts (8—14%ige Lösung des Lactons $[\alpha]^D = +19{,}25^0$ bei 18°, mit der Verdünnung und bei erhöhter Temperatur nimmt die Drehung zu) und geht beim Kochen mit Wasser in das Lactonglykuron über, das in farblosen, bei 175—178° schmelzenden Tafeln krystallisiert; mit Hefe gärt sie nicht. Glykuronsäure bildet mit Barythydrat ein schwerlösliches Salz, durch Bleiessig, nicht durch Bleizucker, wird sie als basisches Salz gefällt. Gegen Fehlingsche Lösung ist das Reduktionsvermögen des Anhydrids ebenso groß, wie das der Dextrose. Alkalische Kupfer- und Wismutoxydlösungen werden, da die Glykuronsäure eine Aldehydgruppe enthält, reduziert. Beim Erhitzen mit Salzsäure zerfällt sie und bildet reichlich Furfurol. Mit Phenylhydrazin gibt die Glykuronsäure (auch schon einzelne gepaarte, z. B. die Terpen-, Mentholglykuronsäure) Verbindungen, die zum Teil in Zusammensetzung und Schmelzpunkt mit denen des Glykosazons und Pentosazons übereinstimmen (Mayer und Neuberg) und für die Erkennung der Glykuronsäure keine Verwertung finden können. Das Osazon hat einen Schmelzpunkt von 160°. Charakteristisch ist die p-Bromphenylhydrazinverbindung (S. 249), die sich von p-Bromphenylosazon der Kohlenhydrate durch ihre Unlöslichkeit in Alkohol und ihr oben erwähntes polarimetrisches Verhalten unterscheidet.

23. Die Kohlenhydrate. (Kohlehydrate.)

Unter Kohlenhydraten verstehen wir im Pflanzenreiche, in geringer Menge im Tierreiche, vorkommende stickstofffreie Körper, die neben dem Kohlenstoff Wasserstoff und Sauerstoff in dem Verhältnisse enthalten, in dem diese Wasser bilden.

Die Kohlenhydrate kann man unter Berücksichtigung der im Harne vorkommenden und bis jetzt bekannten in folgende Gruppen trennen:

I. Pentosen. $C_5H_{10}O_5$.
II. Hexosen. $C_6H_{12}O_6$.
A. Monosaccharide, Monohexosen, Aldohexosen, Aldosen, Oxyaldehyde (Glykose oder Dextrose), Ketohexosen, Oxyketone (Lävulose oder Fruktose).
B. Disaccharide, Hexobiosen, Biosen (Rohrzucker, Milchzucker, Maltose, Isomaltose).
C. Polysaccharide $(C_6H_{10}O_5)n$ (tierisches Gummi, Harndextrin, Glykogen).

Auch unter normalen Verhältnissen enthält jeder Harn kleine Mengen von Kohlenhydraten; nach den Ergebnissen der eingehend und sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen sind im normalen Harne Spuren von Traubenzucker nachweisbar. Nach Th. Lohnstein, H. Laveson, Schoendorff sind etwa 0,02% als der mittlere Traubenzuckergehalt des normalen Harnes anzusprechen. Die Menge der Gesamtkohlenhydrate im normalen Harne wurde von v. Udranszky zu 0,075—0,35%, von Luther zu 0,23% im Mittel bestimmt und als Traubenzucker in Rechnung gesetzt, wovon aber nur 0,09% vergären. Nicht zu vergessen sind die im normalen Harne vorkommenden Glykoproteide, Verbindungen der Eiweißkörper mit Substanzen der Kohlenhydratgruppe, das Mucin, die Mucoide, die beim Behandeln mit Säuren sich spalten. Ebenso kann Pentose im normalen Harne vorkommen. Unter gewissen Verhältnissen — pathologischen — können andere Zuckerarten im Harne gefunden werden, wie Milchzucker, Glykogen. Nach K. Baisch und A. Lemaire[1]) findet sich außer Spuren von Glykose und von Harndextrin (tierischem Gummi) ein drittes Kohlenhydrat, das durch seine Nichtvergärbarkeit mit Hefe, seine Krystallform, durch den Schmelzpunkt seines Osazons usw. jedenfalls identisch mit Isomaltose ist, die auch v. Alfthan gefunden haben will. Eine Heptose will Rosenberg[2]) im Harne einer Kranken beobachtet haben.

Zum Nachweise der Kohlenhydrate kann man sich der allgemeinen Kohlenhydratreaktionen bedienen. Die den einzelnen Kohlenhydraten zukommenden Reaktionen und Eigenschaften sind bei diesen angegeben.

1. Beim Schütteln von Harn mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht ein Niederschlag in Gestalt eines schwach gelblichen Pulvers, das sehr schön die Furfurolreaktion gibt. Zur Herstellung des Benzoesäureesters versetzt man den Harn mit etwas Natronlauge und läßt zur Abscheidung der Phosphate der Erdalkalien über Nacht stehen; das Harnfiltrat verdünnt man auf das 3—4fache mit Wasser und setzt nun auf 100 ccm ursprünglichen Harnes mindestens 5 ccm, besser 10 ccm reines Benzoylchlorid und 40—50 ccm (nach Versuchen von B. Reinbold 120 ccm) einer 10%igen Natronlauge hinzu, worauf man kräftig schüttelt (1 Stunde lang), bis der Geruch

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1896. **22.** 450.
[2]) Ebenda. 1906. **49.** 202.

nach Benzoylchlorid nicht mehr wahrnehmbar ist. Man sammelt den abgeschiedenen Benzoesäureester auf einem Filter, wäscht den Niederschlag mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und trocknet ihn über Schwefelsäure. (J. Baum[1]), E. Baumann[2]), K. Baisch[3]), F. A. Lemaire[4]), E. Wedenski[5]), E. Salkowski[6]), B. Reinbold[7]) u. a.

Die erhaltene Substanz ist natürlich nicht rein; durch Auskochen mit Wasser, durch Verreiben mit 2%iger Salzsäure, Umkrystallisieren in Alkohol kann man das Gemisch etwas reinigen. Auch aus normalem Harne erhält man Benzoylester. Der Schmelzpunkt zwischen 60—125° zeigt, wie unrein die Ester sind. Nach den Versuchen verschiedener Forscher läßt sich die Isolierung der Kohlenhydrate vollständiger erreichen, wenn man das Benzoylieren nicht auf einmal, sondern portionsweise vornimmt; man setzt daher zweckmäßig das Gemisch — Benzoylchlorid, Natronlauge — vielleicht in 4—5 Partien (immer 2,5 oder 2 ccm Benzoylchlorid, 30 oder 24 ccm Natronlauge) hinzu. Noch günstiger soll kohlensaures Natrium statt Lauge wirken. Wenn man eine schmierige Masse, kein gelbliches krümeliges Pulver erhält, dann war die verwendete Lauge nicht ausreichend oder das Benzoylchlorid hat nicht lange genug eingewirkt.

Die Reindarstellung der Zuckerarten ist eine schwierige. Nach Baumann hätte die Benzoylierung als qualitative Reaktion insofern eine Bedeutung, als noch 1—2 mg Glykose in 100 ccm Wasser gelöst bei der Behandlung mit Natronlauge und mit 2 ccm Benzoylchlorid einen bemerkbaren flockigen Niederschlag gäbe.

2. Furfurolreaktion.

Werden Kohlenhydrate (Zucker usw.) mit Schwefelsäure vermischt, so bildet sich Furfurol, das durch α-Naphthol (Thymol oder Xylidin) nachgewiesen werden kann. Man wendet am besten die von H. Molisch[8])-L. v. Udránszky[9]) empfohlene Methode an.

Der eiweißfreie, auch mucinfreie Harn wird auf das Zehnfache mit Wasser verdünnt. Man versetzt 0,5 ccm des Harnes mit einem Tropfen einer 10%igen Lösung von reinem α-Naphthol in reinem Alkohol (auch acetonfreiem Methylalkohol oder Amylalkohol), schüttelt um, läßt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm reiner, von Salpetersäure und salpetriger Säure freier konzentrierter Schwefelsäure fließen und schüttelt unter Abkühlen um. Es tritt eine violette bis himbeerrote Färbung ein; beim Verdünnen mit ganz reinem destilliertem Wasser entsteht ein blauvioletter oder tiefblauer Niederschlag, in Alkohol und Äther mit gelblicher Farbe löslich. Thymol gibt unter gleichen Verhältnissen eine ähnliche Färbung; beim Verdünnen mit Wasser wird die Flüssigkeit carminrot.

Man kann auch die Schwefelsäure unterschichten und nicht umschütteln. An der Berührungsstelle entsteht ein violetter Ring. Neitzel verwendet Campher statt α-Naphthol.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1885. **9.** 465.
[2]) Berl. Bericht. 1886. **19.** 3220.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **18.** 193.
[4]) Ebenda. 1896. **21.** 442.
[5]) Ebenda. 1889. **13.** 122.
[6]) Ebenda. 1893. **17.** 243.
[7]) Archiv Physiol. 1902. **91.** 54.
[8]) Wien. Monatsheft. 1886. **7.** 198.
[9]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 358. 386.

Beurteilung.

Auch andere Harnbestandteile können die Reaktion geben.

E. Luther[1]), B. Reinbold[2]) besprechen eingehend diese Reaktion. Nach v. Udránsky soll ein Harn wenigstens 0,5% d-Glykose enthalten, wenn ein Tropfen des auf das Zehnfache verdünnten Harnes noch die α-Naphtholprobe gibt. Tritt hiebei keine positive Reaktion ein, so wäre in dem Harne Traubenzucker in pathologischer Menge nicht vorhanden.

3. Normaler Harn reduziert Fehlingsche und Knappsche Lösung; das Reduktionsvermögen des Harnes kann, auf Traubenzucker bezogen, soviel betragen, als einer Traubenzuckerlösung von 0,08—0,4% entspricht. An der Reduktion beteiligen sich Harnsäure, Kreatinin, gepaarte Glykuronsäuren, Stoffe, die natürlich mit den Kohlenhydraten nichts zu tun haben.

   Nach Laveson rühren von der Gesamtreduktion 17,8% vom Zucker, 26,3% vom Kreatinin, 7,8% von der Harnsäure und der Rest, nahezu 50%, von meistens unbekannten Substanzen her.

   Zur annähernden Bestimmung der Gesamtkohlenhydrate im Harne kann man sich nach v. Udránszky der angegebenen Furfurolreaktion im Vergleiche mit einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalte bedienen; die Bestimmung ist eine colorimetrische.

Gewinnung und Isolierung.

Die, wie oben angegeben, gewonnenen Benzoesäureester werden mit Natriumäthylat verseift. Will man größere Mengen Ester gewinnen, so verwendet man 10 Liter Harn, außerdem kommt man auch mit einem Liter Harn zum Ziele. N. Wedenski, K. Baisch und F. A. Lemaire haben die ursprünglich von Baumann angegebene Darstellungsweise vervollkommnet. Natriumäthylat wurde aus dem Grunde zur Verseifung gewählt, da die ursprünglich angewandte Natronlauge Zucker leicht zerstören kann. Auf 10 g Ester (aus 10 Liter Harn gewonnen) werden 7,5 g metallisches Natrium, die in 300 ccm abgekühlten absoluten Alkohols eingetragen werden, verwendet; bei Anwendung von 1 g Ester werden selbstverständlich nur 0,7 g Natrium und 30 ccm Alkohol zur Verseifung genommen. In diese Lösung wird unter beständigem Umschütteln und Abkühlen (auf $-5°$) des Gefäßes in einer Kältemischung (nach Lemaire genügt Kühlen unter der Wasserleitung) der fein zerriebene Ester in Substanz eingebracht; die Verseifung ist nach 20—40 Minuten beendet; das Ende der Verseifung wird daran erkannt, daß eine herausgenommene Probe mit dem 3—4fachen Volumen Wasser (mit mehr Wasser tritt Trübung ein) sich nicht mehr trübt. Nun wird sofort so viel verdünnte Schwefelsäure zugesetzt, als zur Überführung des verwendeten Natriums in primäres Sulfat nötig ist.

Die Flüssigkeit wird zur Entfernung der Benzoesäure dreimal mit der gleichen Menge Äther (tritt Emulsion ein, so hilft man sich mit Alkoholzusatz), die Ätherlösung wieder mit Wasser geschüttelt, um in wasserhaltigen Äther

[1]) Freiburg. Dissertat. Berlin 1890. 38.
[2]) Pflügers Archiv 1904. **103.** 581.

übergegangene Kohlenhydrate wieder zu entfernen, und die wässerige Lösung zur Flüssigkeit im Scheidetrichter gegeben.

Die weingeistige wässerige Lösung wird mit Natronlauge nahezu neutralisiert, — noch schwach saure Reaktion — mit dem 2—3fachen Volumen Alkohol versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die vom Natriumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit wird bei ganz schwach saurer Reaktion auf dem Wasserbade zur Entfernung des Alkohols konzentriert, die konzentrierte Flüssigkeit nochmals mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt, filtriert und das Filtrat vorsichtig eingedampft. Die ziemlich braungefärbte Lösung behandelt man mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff, entfernt diesen durch Durchleiten von Kohlensäure und filtriert ab. Die auf 100 ccm gebrachte filtrierte Lösung polarisiert man; sie dreht rechts. Zu dieser Lösung fügt man eine filtrierte Mischung von 7,0 g Phenylhydrazin, 20,0 g 25%iger Natriumacetatlösung, 50,0 g Essigsäure und erhitzt das Ganze auf dem Wasserbade. In der Siedehitze scheidet sich ein in großen Pfeilbündeln oder Kornähren ähnlichen Figuren krystallisierendes Osazon aus, dessen Schmelzpunkt nach Reinigung der Substanz durch wiederholte Lösung in Alkohol und Fällung mit Wasser bei 203—204° gefunden wird. Durch diese Reaktion wird das Vorkommen von geringen Traubenzuckermengen auch im normalen Harne bewiesen. In dem Benzoylniederschlage und in der Lösung der freien Kohlenhydrate fanden die genannten Forscher noch weitere Kohlenhydrate, Isomaltose und eine dextrinartige Substanz (Harndextrin, tierisches Gummi).

Allgemeine Eigenschaften der Kohlenhydrate.

Die Kohlenhydrate zeigen infolge ihrer Aldehyd- und Carbonylgruppen reduzierende Eigenschaft, geben mit Benzoylchlorid Ester, mit verdünnten Mineralsäuren erwärmt gewisse Verbindungen (Furfurol bei den Pentosen, Lävulinsäure bei den Hexosen). Charakteristisch sind die mit α-Naphthol, Thymol usw. und Schwefelsäure entstehenden Farbenreaktionen aus dem gebildeten Furfurol.

Die Aldosen (Aldehydderivate) vereinigen sich in starker Salzsäure mit mehratomigen aromatischen Alkoholen (Resorcin, Pyrogallol) zu Verbindungen, die mit Oxydationsmitteln (Metalloxyden in alkalischer Lösung, Fehlingscher Lösung, Quecksilberlösung) schöne rote Färbungen geben. Aus einer Lösung einer Aldose in Alkohol und einer Mineralsäure bildet sich beim schwachen Erwärmen eine ätherartige Verbindung, ein Glykosid.

Mit Phenylhydrazin geben alle Zuckerarten charakteristische Verbindungen (Osazone).

Die einfachen Zucker können Glykosamin, Amidoglykosin $C_6H_{11}O_5 \cdot NH_2$, bilden, das auch aus der Chondroitinschwefelsäure, einem in Wasser löslichen stickstofffreien Kohlenhydratabkömmling, gewonnen wird, indem durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren aus dem Chondroitin Chondrosin entsteht, das durch Kochen mit Barythydrat Glykuronsäure und Glykosamin

bildet. Aus den Zuckerarten entsteht dieses Glykosamin, wenn man die betreffenden Osazone direkt mit reduzierenden Substanzen behandelt. Durch salpetrige Säure läßt sich der Zucker aus den Osazonen wieder regenerieren. Verschieden ist ihr optisches Verhalten, indem ein Teil die Ebene des polarisierten Lichtstrahles nach rechts (Dextrose, Milchzucker, Maltose), ein anderer Teil nach links (Lävulose) ablenkt.

Endlich besitzen Dextrose und Lävulose noch die Eigenschaft, mit Hefe zu gären.

A. Pentosen, Pentaglykosen $C_5H_{10}O_5$.

Eine von E. Salkowski und M. Jastrowitz[1]) im Jahre 1892 im Menschenharne bei einem Morphinisten beobachtete neue Zuckerart hat sich bei weiterer Untersuchung als eine Pentose erwiesen. Nach E. Külz, J. Vogel sind Pentosen im Harne von Diabetikern schwerer Form gerade kein seltenes Vorkommen, wenn auch nur geringe Mengen zu konstatieren sind und die Ausscheidung dieser Pentosen mit dem Diabetes nachweislich nicht in genetischem Zusammenhange steht, sondern eine rein zufällige sein wird. F. Blumenthal fand sie fast niemals im diabetischen Harne, auch nicht bei schwerem Diabetiker.

Ob eine Pentosurie mit Diabetes verbunden als besondere Form der Pentosurie anzusehen ist, ist noch nicht sicher bewiesen. Man muß daran denken, daß Verwechslungen mit Glykuronsäure vorkommen konnten.

Normale Harne geben oft Pentosenreaktionen; der Genuß von Kirschen, gedörrten Pflaumen, Heidelbeeren und Früchten, die fünfwertigen Zucker oder deren Muttersubstanzen (Pektinstoffe, Pflanzengummi, die sog. Pentosane) enthalten, veranlaßt den Übergang einer geringen Menge Pentosen in den Harn. Man spricht hier von einer alimentären Pentosurie. Pentosane, Pentosen werden im Körper nur unvollständig verbrannt, sie gehen viel leichter als andere Substanzen in den Harn über. Die im Harne dann zu beobachtende Pentose ist aber die rechtsdrehende l-Arabinose. Auch nach gewissen Medikamenten (Camphor, Chloralhydrat, Tannin, nach Spülen des Mundes mit Myrrhentinktur), gewissen modernen Getränken (Apfelsaft) kann Pentosurie auftreten (Rosenberg). Johnstone hat gefunden, daß fast bei jedem Menschen nach dem Genusse von Fruchtsäften sich Pentosen im Urin nachweisen lassen, und zwar noch 5—6 Tage nach dem Aufhören dieser Ursache. Dasselbe berichtet v. Jaksch. Bei der eigentlichen, echten, chronischen Pentosurie, die wohl selten vorkommt, ist aber nach C. Neubergs[2]) Untersuchungen die völlig inaktive racemische Arabinose zu finden; af Klercker meint, daß wahrscheinlich l-Ribose vorkäme. Die Menge kann nach den gemachten Angaben 0,08—1 % betragen. Über die Ursache des Vorkommens der letzteren Pentose haben sich die An-

[1]) Zentralbl. med. Wissenschaft. 1892. 337. 593; Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **27.** 507.
[2]) Berl. Bericht. 1900. **33.** 2243.

sichten gegen früher besonders durch die Forschungen C. Neubergs[1]) etwas geändert und geklärt, wenn auch der Ursprung der Harnpentose hier mit Sicherheit noch nicht sicher gestellt ist.

Es ist wohl bekannt, daß Pentosen bei der Zersetzung der Nucleoglykoproteide des Pankreas entstehen, aber durch die Arbeiten Neubergs ist nachgewiesen, daß es sich in diesem Falle um die rechtsdrehende l-Xylose und nicht um die bei der eigentlichen Pentosurie vorkommende, optisch inaktive Form handelt. Diese l-Xylose wird im Harne nicht gefunden. Nach Bials und Blumenthals Untersuchungen dürfte die Pentose weder aus den Hexosen, noch aus den Glykuronsäuren stammen, vielmehr dürfte die bei der chronischen Pentosurie vorhandene Pentose nach C. Neuberg aus Galaktose, die aus den Kohlenhydraten neben Glykose und Fruktose im Magendarmkanal entsteht, gebildet werden. Nach Einnehmen von Galaktose fand R. Luzatto die Pentosen vermehrt. F. Blumenthal und C. Neuberg nehmen eine synthetische Entstehung der inaktiven Arabinose im Organismus an.

Mit dem echten Diabetes hat die Pentosurie nichts zu tun (Blumenthal).

Die Pentosurie wurde zuerst von v. Jaksch als besondere Krankheit erkannt; doch kann man das Vorkommen von Pentosen kaum als Krankheit ansehen; die Pentosurie ist jedenfalls eine harmlose Stoffwechselerkrankung. Oft ist eine familiäre Disposition festgestellt worden. Man hüte sich, eine harmlose Pentosurie mit Glykosurie zu verwechseln!

Nachweis.

1. Allgemeines.

Pentosehaltige Harne zeigen die Trommersche, Fehlingsche Probe nach einiger Zeit (erst nach dem Kochen oder nach dem Erkalten, dann aber plötzlich, sprungweise, sie zeigen die Erscheinung der Nachreduktion), Wismutlösung wird reduziert, die Gärung verläuft negativ — bei gleichzeitiger Gegenwart von Glukose können kleine Pentosenmengen mit vergären —, die Phenylhydrazinprobe zeigt sich erst beim Abkühlen positiv, die Ebene des polarisierten Lichtes wird nicht beeinflußt. Die bei der alimentären Pentosurie vorhandene Arabinose dreht rechts. Doch sind diese allgemeinen Reaktionen nicht stichhaltig, wenn auch Dextrose vorhanden ist.

Nach E. Kraft[2]) sollen Pentose und Dextrose in einem und demselben Harne nicht gleichzeitig oder nur äußerst selten vorkommen.

Von einigen Seiten wird Wert darauf gelegt, daß die Phenylhydrazinprobe in Pentosenharnen im Verhältnis zu den Reduktionsproben stark eintritt und daß somit dieses Mißverhältnis zwischen Reduktion und Phenylhydrazinprobe als kennzeichnend für Pentosenharne anzusehen ist.

---

[1]) Berl. Bericht. 1902. **35.** 1467.
[2]) Apoth.-Ztg. 1906. **21.** 611.

2. Die B. Tollens[1])-E. Salkowskische[2]) Reaktion.

Man löst etwas Phloroglucin (eine kleine Messerspitze voll) unter Erwärmen in 5—6 ccm rauchender Salzsäure vom spez. Gewicht 1,12, so daß ein kleiner Überschuß ungelöst bleibt, teilt in zwei annähernd gleiche Teile und setzt nach dem Erkalten der Säure der einen Hälfte $^1/_2$ ccm des zu prüfenden Harnes, der anderen ebensoviel eines ungefähr gleichkonzentrierten normalen Harnes zu, nachdem man die Harne zweckmäßig mit etwas Tierkohle — nach J. Bang mit Alkohol und Blutkohle Merck — entfärbt hat. Taucht man beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser, so zeigt der pentosehaltige Harn in wenigen Augenblicken einen intensiv roten oberen Saum, von dem sich die Färbung allmählich nach unten ausbreitet, während der normale Harn seine Farbe nicht merklich oder nur unbedeutend verändert.

Der pentosehaltige Harn zeigt dann, sofort nach dem Eintreten der Reaktion spektroskopisch untersucht, einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*, rechts von der Na-Linie; ist diese Untersuchung wegen der trüben Beschaffenheit nicht möglich, dann schüttelt man den Farbstoff mit reinem Amylalkohol aus dem kalt gewordenen Gemische aus und spektroskopiert (Salkowski). B. Tollens[3]) läßt den Harn mit gleichem Volumen konz. Salzsäure (D. 1,19) und etwa 0,03 g Phloroglucin nach dem Aufkochen beiseite stellen, abkühlen und den Niederschlag auf einem Filter sammeln. Nach dem Waschen mit Wasser wird der Niederschlag mit 95%igem Alkohol behandelt und die Lösung gegebenenfalls nach weiterer Verdünnung mit Alkohol im Spektroskop betrachtet.

Beurteilung.

Glykuronsäurehaltige oder diabetische Harne zeigen zwar auch den Streifen, aber eine mehr braunschwarze Färbung; bei Galaktose fehlt der Absorptionsstreifen. Die Probe ist nicht einwandfrei, da sie bei den meisten normalen Harnen auch positiv ausfallen kann.

Das Deutsche Arzneibuch V. läßt 10 ccm Harn mit dem gleichen Volumen Salzsäure (1,19) und mit etwa 0,03 g Phloroglucin erwärmen.

3. Die Orcinreaktion nach E. W. Allen-B. Tollens[4]) mit den Modifikationen von Salkowski[5])-Blumenthal.[6])

3 ccm Harn werden mit 5 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gew.) und einer Messerspitze (0,5 g) voll Orcin zum Sieden erhitzt. (Vorsicht, die Flüssigkeit stößt!) Nach vorübergehender Rot- oder Violettfärbung färbt sich die Lösung schön dunkelgrün und es entsteht ein für die Anwesenheit von Pentosen absolut beweisender grünblauer Niederschlag. Schüttelt man den noch lauwarmen Inhalt

[1]) Berl. Bericht. 1896. **29.** 1204.
[2]) Centralbl. med. Wissensch. 1892. 337; Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **27.** 507.
[3]) Neubauer-Huppert, Analys. d. Harnes. 11. Aufl. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910.
[4]) Annal. Chem. Pharm. 1890. **260.** 305.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **27.** 514.
[6]) Zeitschr. klin. Mediz. 1899. **37.** 420.

des Röhrchens mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff mit schön smaragdgrüner Farbe auf und zeigt im Spektrum zwischen *C* und *D* einen Absorptionsstreifen; am Anfange des Rot ist häufig ein zweiter Streifen zu sehen.

Beurteilung.

Diese Reaktion ist etwas eindeutiger; glykuronsäurehaltige Harne zeigen den Streifen, geben aber violette Färbung, die in Amylalkohol übergeht. Wichtig ist das Verhalten im Spektroskop. Man muß genau die angegebene Salzsäuremenge nehmen, sonst tritt die Grünfärbung nicht ein; auch erhitze man nicht zu lange, nur kurz, um gepaarte Glykuronsäuren durch zu langes Kochen nicht zu sprengen.

4. Die M. Bialsche[1]) Probe.

Erforderliches Reagens.

1 g Orcin Merck wird in 500 ccm 30%iger Salzsäure gelöst; hiezu werden 20—30 Tropfen 10%iger Eisenchloridlösung zugesetzt.

Das Reagens ist in gelben Glasstöpselflaschen aufbewahrt lange haltbar.

Ausführung.

Man erwärmt 3—5 ccm Harn mit 6—10 ccm des Reagens bis zum beginnenden Sieden; es entsteht eine grünblaue bis smaragdgrüne Färbung, die bald dunkelgrün wird; weitere Behandlung mit Amylalkohol, wie angegeben.

Am besten verfährt man aber nach E. Kraft[2]), indem man vom Reagens (nach Kraft 1 g Orcin Merck in 500 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,151, 25 Tropfen offizinelle Eisenchloridlösung) 5 ccm einmal kräftig aufkocht, das Glas von der Flamme entfernt und sofort 5 Tropfen vom Harne zusetzt.

Es entsteht dann fast sogleich ein prachtvoller tiefgrüner Ring in der oberen Zone des Harnes, der sich rasch nach unten verdickt.

Das Deutsche Arzneibuch V schreibt vor, 5 ccm Bialsche Lösung und 2 ccm Harn im Reagenzglase, das mit Wattebausch versehen wird, im Wasserbade bis fast zum Sieden zu erhitzen; man nimmt das Glas dann heraus und läßt erkalten.

Beurteilung.

In dieser nur kurze Zeit beanspruchenden Ausführung ist die Orcinreaktion sehr empfindlich; eine Spaltung der gepaarten Glykuronsäuren soll vermieden werden. Durch Amylalkohol kann der grüne Farbstoff ausgeschüttelt werden, das Spektrum zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen C und D. Die Lösung muß genau hergestellt sein; man hüte sich vor einem zu großen Eisenzusatze.

5. A. Neumann verwendet Eisessig und Schwefelsäure. Siehe Seite 288.

6. Ausführung der Probe nach A. Jolles[3]) nach der Abänderung.

Bei Harnen mit bis zu 5% Dextrosegehalt werden 100 ccm mit 4 g salzsaurem Phenylhydrazin und 8 g Natriumacetat eine Stunde im siedenden Wasserbade erwärmt; nach dem Abkühlen wird der auf einem Asbestfilterchen gesammelte und mit kaltem Wasser gewaschene Niederschlag mit 15 ccm heißen Wassers versetzt und das Kölbchen 5 Minuten lang in ein siedend heißes Wasserbad gestellt; dann wird rasch filtriert. Das Filtrat wird nach Zusatz von 6 ccm Salzsäure (D = 1,19) in einem sog. Rektifizierkölbchen mit einem kleinen Kühler verbunden destilliert.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. **28.** 253; 1903. **29.** 477.

[2]) Apoth.-Ztg. 1906. **21.** 611.

[3]) Biochem. Zeitschr. 1906. **2.** 244; Zentralbl. f. innere Mediz. 1907. **28.** 415; 1912. **33.** 1; Zeitschr. analyt. Chem. 1913. **52.** 105.

3 ccm des Destillates sollen mit 5 ccm des Bialschen Reagens versetzt bei Gegenwart von 0,05% Pentosen deutliche Grünfärbung geben. Bei Harn mit einem Dextrosegehalt über 5% werden auf 100 ccm die doppelten Mengen Phenylhydrazin und Natriumacetat verwendet.

Beurteilung.

Der Vorzug dieses allerdings längere Zeit in Anspruch nehmenden Verfahrens soll nach Jolles darin bestehen, daß es nur für Pentosen charakteristisch ist, da Glykuronsäure in den Quantitäten, wie sie für Harne in Frage kommen, sowie Hexosen einen negativen Ausfall der Probe bedingen sollen. Nach Sachs soll auch das abgeänderte Verfahren nicht hinreichend genau und eindeutig sein.

7. Pentosehaltiger Harn mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure zum Sieden erhitzt, entwickelt Furfurol, das einen mit Anilinacetat getränkten Papierstreifen sehr schnell lebhaft kirschrot färbt.

Beurteilung.

Außer freier Glykuronsäure sollen andere Kohlenhydrate diese Reaktion nicht merklich zeigen.

8. Nach K. v. Alfthan.[1])

Durch Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 255) gehen sowohl Pentosen wie Glykuronsäuren in Benzoylester über. Werden diese durch Natriumäthylat verseift, so scheiden sich die Glykuronsäuren als in Alkohol unlösliche Natriumsalze aus, während die Pentosen in Lösung bleiben. Der positive Ausfall der Phloroglucin- oder Orcinprobe im Filtrate ist dann nur auf Pentosen zu beziehen.

Beurteilung.

Es sollen bei dieser Probe die störenden Glykuronsäuren ausgeschlossen werden, was aber nach Untersuchungen nicht der Fall ist.

Wegen der Pentosereaktion in filtrierten Flüssigkeiten macht F. Umber (früher schon Huppert) darauf aufmerksam, daß sich aus allen Filtrierpapieren durch normalen Harn Substanzen extrahieren lassen, die die Tollenssche Orcinreaktion mit dem charakteristischen Absorptionsstreifen und ebenso die Phloroglucinprobe deutlich geben können. Für die Arbeiten mit Pentosen ist man daher, zumal wenn es sich beim Nachweise um geringe Mengen handelt, auf die Benutzung von Glaswolle oder am besten von Asbestfiltern beim Filtrieren angewiesen.

9. Phenylhydrazinprobe.

Durch Darstellung des Osazons soll aller Zweifel, ob Pentosen vorhanden sind, zerstreut werden. Zur Herstellung des Osazons gibt E. Salkowski folgende Arbeitsweise an: 200—500 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 100 ccm Harn mit 2,5 g in Essigsäure im Überschuß gelösten Phenylhydrazin oder mit einer Lösung von 3,5 g salzsaurem Phenylhydrazin und der 1,5fachen Menge essigsaurem Natrium versetzt; die Flüssigkeit wird bis zum beginnenden Sieden erhitzt und das Becherglas noch 1 bis $1^1/_4$ Stunden im siedenden Wasserbade belassen. Nach dem Erkalten werden die beim Vorhandensein von Pentosen (Hexosen) vorhandenen Krystalle abfiltriert, auf Filtrierpapier abgetrocknet und aus heißem Wasser oder besser aus heißem, stark verdünntem Alkohol wiederholt bis zum gleichbleibenden Schmelzpunkte umkrystallisiert.

Dieses Osazon wird nach Neuberg in wenig Pyridin gelöst, mit Wasser verdünnt und nach erfolgtem Auskrystallisieren und Umkrystallisieren auf seinen Schmelzpunkt geprüft. Er beträgt etwa 157—160° bei dem aus dem Harne gewonnenen Osazon; in ganz reinem Zustande zeigt das Osazon den Schmelzpunkt 166—168°. Der Stickstoffgehalt des Osazons beträgt 16,9—17,1%. Eine kleine Probe der Phenylhydrazinverbindung gibt mit etwa 4 ccm Vanillin-Salzsäure (1 g Vanillin in 100 ccm 10%iger Salzsäure) in einem Reagenzglase versetzt und umgeschüttelt in der Kälte schon eine intensive Rotfärbung (Jolles[2]).

Nach F. Blumenthals und P. Mayers Untersuchungen gibt das Osazon bei der Orcinprobe (Amylalkohollösung) zwei Streifen in Rot, während das Glykosazon nur einen aufweist.

Eine Trennung der Pentosen von der Dextrose soll auch auf Grund der ungleichen Löslichkeit der Osazone gelingen; das Pentosazon löst sich schon bei 60°, während bei dieser Temperatur das Glykosazon so gut wie

[1]) Archiv exper. Patholog. Therap. 1902. **47.** 417.
[2]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1905. **26.** Nr. 43.

unlöslich ist. Man zieht daher den mit Phenylhydrazin aus Harn nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen erhaltenen krystallisierten Niederschlag mit Wasser von 60° aus; das in Lösung gegangene Pentosazon wird durch mehrmaliges Umkrystallisieren leicht auf den richtigen Schmelzpunkt gebracht. Die nadelförmigen Krystalle der Osazone der Arabinose schmelzen bei 166—168°.

Wahl der Methode.

Man sei mit dem Nachweis recht vorsichtig und verwechsle vor allem die Pentose nicht mit Glykose; man vergesse nicht, den Harn zu vergären (s. aber S. 260) und zu polarisieren. Weiter führe man die Proben genau in der angegebenen Weise durch und vermeide vor allem überflüssiges und länger andauerndes Erhitzen des Harnes mit der Säure; die Bialsche Methode in den Ausführungen von E. Kraft, von A. Neumann möchte ich empfehlen. Man wird die Anwesenheit der Pentosen noch durch die eine oder andere Probe sicherstellen müssen. Nach den von zahlreichen und maßgebenden Forschern gewonnenen Ergebnissen besitzt z. B. auch die Bialsche Probe nur einen orientierenden Wert.

Man denke endlich daran, daß, wenn man allein den positiven Ausfall der Farbenreaktionen als für die Anwesenheit von Pentosen sprechend ansehen will, auch Glykuronsäuren diese geben können. E. Justin-Müller[1]) erwähnt, daß Skatol- und Indoxylfarbstoffe die Farbreaktionen unter Umständen beeinflussen.

1. Quantitative Bestimmung der Arabinose nach C. Neuberg und J. Wohlgemuth.[2])

Bei Anwendung dieser Methode ist Voraussetzung, daß der Harn nicht weniger als etwa 1% Arabinose enthält. Verdünntere Lösungen, wie genuiner Pentosenharn bei Pentosurie, müssen zuvor im Vakuum konzentriert werden.

Prinzip.

Die Bestimmung beruht auf der Abscheidung der Arabinose als Diphenylhydrazon.

Ausführung.

100 ccm Harn, nötigenfalls größere Mengen, die zu konzentrieren sind, werden mit 2 Tropfen 30%iger Essigsäure angesäuert, auf dem Wasserbade auf etwa 40 ccm eingedampft und mit 40 ccm heißen Alkohols von 96% versetzt. Man läßt erkalten und 2 Stunden stehen, dann filtriert man von den ausgeschiedenen Uraten und anorganischen Salzen ab und wäscht sorgfältig mit 40 ccm Alkohol von 50% nach. Zu dem Filtrate setzt man 1,4 g reines Diphenylhydrazin und erwärmt in einem nicht zu kleinen Becherglase $^1/_2$ Stunde in siedendem Wasserbade, wobei man durch Ersatz des verdampfenden Alkohols einer Entmischung der Flüssigkeit vorbeugt. Nach 24 Stunden filtriert man die ausgeschiedene Krystallmasse in einem Goochschen Tiegel ab, indem man zunächst immer die Mutterlauge zum Nachspülen verwendet, und wäscht schließlich mit 30 ccm 30%igen Alkohols aus, der die Verbindung blendendweiß zurückläßt. Der Tiegel wird sodann bei 80° im Trockenschranke bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; das Hydrazon darf höchstens einen schwach violetten Schimmer annehmen.

Durch Multiplikation mit 0,4747 oder Division mit 2,107 erhält man aus dem Hydrazon die entsprechende Menge Arabinose.

Beurteilung.

Nach den Angaben der Verf. hat sich diese Methode gut bewährt. Der Gehalt an Arabinose darf nicht geringer als etwa 1% sein; verdünntere Lösungen sind im Vakuum zu konzentrieren.

[1]) Journ. Chem. Pharm. 1921. 317; Chem. Ztg., chem. techn. Übers. 1921. **45.** 330.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 41.

2. Bestimmung nach der Methode von A. Jolles.[1])

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Überführung der Pentosen in Furfurol; dieses wird mit Bisulfitlösung behandelt, die nicht absorbierte Lösung wird mit Jodlösung zurücktitriert.

Erforderliche Lösungen:

$^1/_{10}$ n-Jodlösung. Man kann auch eine Lösung verwenden, deren Gehalt in bekannter Weise festgestellt wird.

Eine Bisulfitlösung, von der 10 ccm etwa 20 ccm der Jodlösung verbrauchen. Die Bisulfitlösung stellt man stets mit der Jodlösung ein.

Ausführung.

100 ccm Harn werden in einem Rundkolben von etwa $1^1/_2$ Liter Inhalt mit ungefähr 150 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,06) versetzt; durch diesen Kolbeninhalt werden Wasserdämpfe (S. 126) und die furfurolhaltigen Dämpfe durch einen Kühler in eine Vorlage, geeichten Meßkolben, geleitet. Das Destillat, etwa 500—1000 ccm, wird auf ein bestimmtes Volumen, am besten auf 1 Liter bei 15° aufgefüllt. Hievon werden 100 ccm unter Kühlung im Becherglase mit 20%iger Natronlauge und Methylorange als Indicator neutralisiert, etwa 2 Tropfen Lauge im Überschuß hinzugefügt und dann mit $^1/_2$ n-Salzsäure bis zur eintretenden Rotfärbung titriert. Nach einigen Minuten tritt Umschlag in Gelb ein; man fügt abermals 2 Tropfen $^1/_2$ n-Salzsäure hinzu und läßt einige Minuten stehen; es tritt wieder Umschlag in Gelb ein; dieses wird wiederholt, bis die Färbung bestehen bleibt. Das Destillat wird nun mit 10 ccm Bisulfitlösung versetzt und das nicht verbrauchte Bisulfit nach zweistündiger Einwirkung zurücktitriert.

1 Mol. Pentose = 1 Mol. Furfurol = 1 Mol. Bisulfit; dieses entspricht 2 At. Jod; 1 ccm Normaljodlösung = 0,075 g Pentose; 1 ccm $^n/_{10}$ Jodl. = 0,0075 g Pentose.

Beurteilung.

Aceton, Acetessigsäure, flüchtige Aldehyde müssen erst durch Kochen des Harnes mit Essigsäure entfernt werden. Glykuronsäuren wirken auch ein, sollen aber nach Jolles einen nennenswerten Einfluß nicht haben. Ob nicht andere furfurolbildende Stoffe stören können, ist noch nicht entschieden. Man wird zweckmäßig weitere Erfahrungen sammeln müssen.

3. Eine sichere quantitative Bestimmung der Pentosen auf Grund des Reduktionsvermögens durch Verbrauch an Kupferlösung ist nach unseren Erfahrungen zurzeit nicht möglich.

Eigenschaften.

Aus dem Diphenylhydrazon (Schmelzpunkt 206°) kann durch Spaltung mit Formaldehyd die inaktive racemische Arabinose, die bei der eigentlichen chronischen Pentosurie vorkommt, als solche gewonnen werden. Das r-Arabinose-Diphenylhydrazon bildet lange, weiße Nadeln, schwer löslich in heißem Wasser, in heißem Alkohol, unlöslich in kaltem Wasser und Alkohol, leicht löslich in Pyridin und Eisessig. Die reine racemische Arabinose wird nach der Abscheidung erst als süßer Sirup durch Behandeln im Vakuum krystallinisch und durch weiteres Umkrystallisieren krystallisiert in Form von Prismen erhalten; sie schmilzt bei 163—164°, schmeckt süß und ist leicht löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol. Die inaktive racemische Arabinose, die hier in Betracht kommt, da ja die Xylose, wie schon erwähnt, nicht im Harne zu finden ist, ist optisch völlig inaktiv und gärt nicht, reduziert aber ungefähr wie Traubenzucker. Die weiteren Eigenschaften beruhen in den beim Nachweise angegebenen Reaktionserscheinungen und in der Bildung von charakteristischen Verbindungen.

Die bei der alimentären Pentosurie (S. 259) im Harne auftretende l-Arabinose krystallisiert in Prismen, die bei 160° schmelzen, ist leicht löslich

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1907. **46.** 764.

in Wasser, schwer in Alkohol, nicht löslich in absol. Alkohol und Äther. Diese Arabinose ist rechtsdrehend, $\alpha_{[D]} = +104—105^0$ (Parcus-Tollens), sie gärt nicht. Sie dürfte wohl, wie Blumenthal meint, häufiger vorkommen, als sie gefunden wurde, da geringe Mengen rechtsdrehender Substanz im Harne leicht übersehen werden oder sich nicht zeigen. Das l-Arabinose-Diphenylhydrazon bildet weiße Nadeln und schmilzt bei 218°; in Pyridin-Alkohol gelöst dreht es rechts.

B. *Harnzucker*, eine Aldose (Traubenzucker, d-Glykose, Dextrose). $C_6H_{12}O_6$.

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. Nach den Ergebnissen sehr zahlreicher Versuche von B. Schöndorff[1]) enthält jeder normale Harn geringe Mengen von Zucker und zwar von 0,0105—0,0274%; infolge übermäßigen Genusses von Kohlenhydraten kann diese Zuckermenge bis zu 0,1% steigen. Laveson[2]), K. A. Hasselbach und J. Linhard[3]) fanden ähnliche Werte. Siehe bei reduzierenden Substanzen. Der im Harne vorkommende Zucker ist Traubenzucker[4]), und zwar d-Glykose, wie Le Goff und dann G. Patéine und E. Dufeau mit Sicherheit nachgewiesen haben. Nach C. Tanret kommt Traubenzucker in drei Modifikationen, α, β, γ-Form, vor; im Harne soll die β-Form vorhanden sein. Nach L. B. Winter und W. Smith[5]) ist der Blutzucker des normalen Menschen- und Tierblutes eine nicht haltbare Form der Glykose (γ) mit anfänglicher Linksdrehung; nach Einnehmen größerer Mengen Traubenzucker oder Lävulose findet man nur diese γ-Glykose im Blute.

Der Blutzucker des Diabetikers ist dagegen eine α, β-Glykose; sie wird durch ein Ferment in γ-Glykose verwandelt. Dieses Ferment fehlt beim Diabetiker oder ist inaktiviert. Es wird im Pankreas neben der das Glykogen in α, β-Glykose umwandelnden Diastase gebildet. Neben der Glykose sind im diabetischen Harne vereinzelt auch geringe Mengen Pentosen (S. 259) nachgewiesen worden, in selteneren (sehr seltenen) Fällen wurde auch Lävulose (s. d.) vorgefunden.

Eine reichliche Zufuhr von zuckerhaltiger Nahrung, besonders wenn solche in größerer Menge nüchtern genommen wird, auch der Genuß reichlicher Mengen süßer alkoholischer Getränke (süßer Wein, besonders

---

[1]) Archiv Physiol. 1908. **121.** 572.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1907. **4.** 40.
[3]) Ebenda. 1910. **27.** 274.
[4]) Die Identität des Harn- und Traubenzuckers wurde 1838 von Bouchardat und Péligot festgestellt.
[5]) Journ. of. Physiolog. 1922. **57.** 100; Brit. Medic. Journ. 1923. **1.** 12; Chem. Centralbl. 1923. **94.** I. 553. 710.

Champagner[1]), auch Bier) kann eine rascher oder langsamer vorübergehende Zuckerausscheidung (Glykosurie, Meliturie, physiologische oder alimentäre Glykosurie e. saccharo) hervorrufen. Nach Genuß von Spargel beobachtete R. Nußbaum[2]) nach 2 Stunden Zucker im Harne, der nach 2 weiteren Stunden wieder verschwunden war. Hier handelt es sich eigentlich nicht um eine Verminderung der zuckerzerstörenden Kraft, es scheint vielmehr ein Teil des Zuckers nicht in die Blutbahn, sondern in die Chylusbahn überzutreten (Ginsberg). Der Organismus, dessen Fähigkeit, Traubenzucker zu assimilieren, selbstverständlich keine unbegrenzte ist, vermag in solchen Fällen den Zucker nicht rasch genug dem allgemeinen Stoffwechsel zu entziehen und ihn als Glykogen oder als Fett abzulagern, die Assimilationsgrenze des Organismus für den Zucker ist überschritten. Solche Zuckerausscheidung hat mit Diabetes nichts zu tun, da diese Glykosurie von der Menge des eingeführten Zuckers, von der Durchlässigkeit der Nieren, vielleicht von einer Schwächung oder einer allgemeinen Herabsetzung der Leistungsfähigkeit der Leberzellen (E. Abderhalden), nicht aber von einer Verminderung der zuckerzerstörenden Kraft abhängig ist. Die vorübergehende Glykosurie kann auch eine Folge sein von Milchzuckerausscheidungen bei Milchstauung der Schwangeren und Säugenden (Lactosurie), ferner von gewissen operativen Eingriffen; sie wird weiter beobachtet bei Störungen des Nervensystems, bei Cholera, bei Leberkrankheiten, bei Fiebernden, bei Krankheiten des Gehirns, des Rückenmarks, bei traumatischer Neurose, bei Herz- und Lungenkrankheiten, bei akutem Alkoholismus, bei Gicht, bei Leuten mit Arteriosklerose, wenn sie die Gefäße des Pankreas befällt, ferner treten nach Intoxikationen mit Opiumalkaloiden, Curare, Coffein, Theobromin, Chloral, Chloroform, Amylnitrit, Blei, Kohlenoxyd Zuckerausscheidungen auf, so daß wir in solchen Fällen von einer toxischen Glykosurie, auch von einer spontanen Glykosurie sprechen. Die Gifte wirken teils die Zuckerbildung befördernd auf die Leber, z. B. Adrenalin, teils direkt auf die Nieren (Phlorrhizin); Adrenalin besitzt auch noch eine Nierenwirkung, da Mengen, die bei Menschen keine nennenswerte Hyperglykämie hervorrufen, trotzdem eine beträchtliche Glykosurie bewirken können. Viele Gifte, die einen starken Nierenreiz ausüben, wie Sublimat, Kantharidin u. a. veranlassen eine Zuckerausscheidung ohne Steigerung des Blutzuckers.

Erwiesen ist, worauf Ch. Gaskell Higginson aufmerksam macht, daß septische Erkrankungen (so auch von schweren Karbunkeln) häufiger transitorische „saprämische" Glykosurie erzeugen. — Nicht selten ist das Auftreten von Glykosurie bei Leuten, die schlecht genährt waren, meist längere Zeit ein unstetes Wanderleben geführt und dabei eine hauptsächlich vegetabilische, kohlenhydratreiche Kost zu sich genommen haben. G. Hoppe-Seyler nennt diese Glykosurie die der Vaganten.

---

[1]) F. Blumenthal a. a. O. berichtet über solche interessante Fälle (Champagnerglykosurie).

[2]) Apoth.-Ztg. 1920. **35**. Nr. 35.

Zu erwähnen ist auch das Vorkommen von Zucker bei Leuten, die unter schwerer seelischer Angst standen, auch z. B. bei Studenten nach einem Examen usw.; sobald das seelische Moment behoben war, verschwand der Zucker, v. Noorden spricht von einer Angstglykosurie (F. Blumenthal).

Wohl zu unterscheiden ist nach H. Sahli zwischen den Fällen von alimentärer Glykosurie, wo nur übermäßige Zufuhr von Zucker und derjenigen, wo außerdem auch allzu reicher Genuß von Amylaceen den Zuckergehalt des Urins bedingt.

Die letzteren Fälle beruhen jedenfalls auf einer schwereren Störung und man wird gut tun, diese Fälle als dem Diabetes mellitus nahestehend zu betrachten und die Bezeichnung physiologische oder alimentäre Glykosurie im engeren Sinne auf Fälle zu beschränken, wo Amylaceen in beliebiger Menge vertragen werden, wo aber allzu reiche Zuckerzufuhr Glykosurie erzeugt. Eine dauernde, anfangs meist spärliche, später reichlicher werdende Ausscheidung von Zucker im Harne, die meist mit einer Anzahl Störungen im Gesamtorganismus verbunden ist, bezeichnet man im Gegensatz zu der zeitweiligen Ausscheidung, der transitorischen Glykosurie, als Zuckerharnruhr, Diabetes mellitus.[1]) Diese Zuckerausscheidung ist dann eine bleibende Erscheinung bei gemischter Nahrung, nimmt ab oder verschwindet bei Fleischkost und nimmt zu nach kohlenhydratreicher Nahrung. Diese Krankheit ist in jedem Lebensalter — Erkrankungen bei Kindern und jungen Leuten bis zum 30. Lebensjahr sind meistens folgenschwer — beobachtet worden; es können oft ganz bedeutende Mengen Zucker, mitunter über 1 Kilogramm in 24 Stunden mit dem Harne ausgeschieden werden; eine Ausscheidung von $^1/_2$ Kilo im Tag ist keine Seltenheit; in Prozenten werden selten mehr als 9% beobachtet werden. Im Durchschnitt werden in schweren Fällen täglich 200—300 g entleert; Zucker findet sich dann in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen, während man in den leichteren Fällen sehr oft in dem am Morgen entleerten Harne keinen Zucker findet, sondern erst im Harne, der mittags oder abends nach den größeren Mahlzeiten oder nach dem Genusse von Kohlenhydraten ausgeschieden wurde. Es muß deshalb diese Tatsache bei Untersuchungen wohl berücksichtigt werden. Ein einwandfreies Ergebnis gewinnt man, wenn man den Gehalt an Zucker des in 24 Stunden gelassenen Harnes feststellt, wodurch zugleich die Gesamtausfuhr innerhalb dieser Zeit berechnet werden kann; man hat auch die Untersuchungen nach dem Wechsel der Nahrung fortzusetzen, um dem Arzte wertvolle Zahlen bieten zu können. Zu bemerken dürfte sein, daß die Menge des vorhandenen Zuckers kein Urteil über die Schwere oder über die Leichtigkeit des Falles erlaubt. Diese Unterscheidung ist von Traube und Seegen von der Wirkung einer zuckerfreien Diät abhängig gemacht; leichte Fälle wären solche, bei

[1]) Zur Geschichte des diabetischen Zuckers s. E. O. v. Lippmann, Chem. Ztg. 1920. **44.** 1. E. Ebstein, Zur Entwicklung der klinischen Harndiagnostik, die Zuckerkrankheit. G. Thieme, Leipzig 1915.

denen durch Entziehung von Kohlenhydraten in der Nahrung keine Zuckerausscheidung mehr zu beobachten ist, schwere Fälle, in denen das Gegenteil der Fall ist.

Weiter kommen bei schweren Fällen noch die Bildung und das Vorhandensein von Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure, den sog. Acetonkörpern, in Betracht (siehe S. 108).

Ebenso wie der Gehalt des Zuckers, ist bei der Zuckerharnruhr auch die Menge des Harnwassers sehr verschieden; man findet oft eine ganz bedeutende Steigerung desselben (öfters bis 15 Liter und noch mehr im Tag). Die Kenntnis der Menge des Harnes ist von großer Wichtigkeit. Abhängig ist der Gehalt des Zuckers im Harne von der Art der Nahrung; kohlenhydrathaltige Nahrung hat eine Vermehrung, eiweißreiche eine Verminderung des Zuckers im Gefolge; wenn auch bei strenger Diät, Vermeidung aller zuckerbildenden Nahrungsstoffe eine starke Verminderung des Zuckers herbeigeführt werden kann, so scheint eine völlige Heilung in den schweren Fällen doch ausgeschlossen zu sein. Psychische Erregungen und Nervenkrankheiten steigern die Zuckermengen, Muskelanstrengung, fieberhafte Zustände vermindern sie.

Man findet in der Literatur noch die Bezeichnungen Pankreasdiabetes, Phlorrhizindiabetes, Nierendiabetes.

Pankreasdiabetes. Nach Entfernung des Pankreas tritt Diabetes ein; auch bei Pankreaserkrankungen wurde Diabetes beobachtet. Nach bisherigem Wissen kann das Pankreas an der Regulation des Zuckerstoffwechsels in folgender Weise beteiligt sein [F. Blumenthal[1])].

1. Das Pankreas sondert überhaupt nicht den oder die Aktivatoren für die Zuckerverbrennung ab. 2. Der Aktivator wird nicht in der richtigen Menge abgesondert. Muskelferment oder Gewebsferment und Aktivator sind demnach nicht in richtiger Korrelation, die Zuckerverbrennung findet infolgedessen nicht ausreichend statt (siehe S. 267). Das Pankreas kann aber auch gesund sein, der Muskel dagegen ist krank, dann treten diejenigen Fermente oder Kräfte nicht in Tätigkeit, welche den Zucker verbrennen, obwohl das Pankreas genügend Aktivatoren entsendet. (Muskeldiabetes.)

Phlorrhizindiabetes. Nach Einnehmen oder subkutaner Einspritzung von Phlorrhizin, einem Glykoside der Wurzelrinde des Apfelbaumes, wurde bei Menschen und Tieren eine reichliche Zuckerausscheidung nachgewiesen. Die Eigenschaft des Phlorrhizins wurde zur Prüfung für die Nierenfunktion bei der Nierendiagnostik vorgeschlagen.

Nierendiabetes. Dieser beruht in einer gesteigerten Durchlässigkeit der Nieren für Zucker. Die Fähigkeit des Organismus, den Zucker zu verbrennen, ist hier nicht verringert. Außerdem ist dieser Diabetes auch nach diuretischen Mitteln (Coffein, Theobromin, Cantharidin) zu beobachten, hier auch mit Hyperglykämie.

[1]) Handbuch der speziellen Pathologie des Harnes. Urban u. Schwarzenberg, Berlin-Wien 1913.

Zu erwähnen möchte sein, daß der Diabetes insipidus nichts mit dem Diabetes mellitus zu tun hat. Der Diabetes insipidus ist ausgezeichnet durch eine enorme Polyurie, 8—10 Liter und darüber; der Harn hat ein sehr niedriges spezifisches Gewicht. Die Polyurie ist nach Senator die einzige hervorstehende Krankheitserscheinung, die Fähigkeit, einen konzentrierten Harn zu liefern, ist geschädigt. Die Ursache der Polyurie und des Wesens des Diabetes insipidus ist noch nicht aufgeklärt.

Ich möchte hier wie beim Diabetes mellitus auf die Ausführungen von F. Blumenthal hingewiesen haben.

Eigenschaften eines sog. Zuckerharnes.

Die Farbe des diabetischen Harnes ist fast durchgehends abnorm blaß; das spezifische Gewicht ist bei größeren Zuckermengen ein hohes — 1,04 bis 1,060 sogar —, doch auch wieder normal, so daß aus dem spezifischen Gewichte auf die vorhandene Menge an Zucker im allgemeinen nicht geschlossen werden kann; meist ist die Harnmenge vermehrt; sie schwankt zwischen $2^1/_2$ und 8 Litern und noch mehr für 24 Stunden; doch ist die Polyurie nicht stets die Regel, es können hohe Zuckermengen bei normaler Harnmenge gefunden werden, andererseits kann wieder ein geringer Zuckergehalt bei sehr gesteigerter Harnabsonderung vorhanden sein.

Schließlich kann aus einem hohen spezifischen Gewichte allein nicht auf eine Anwesenheit von Zucker in einem Harne geschlossen werden und andererseits kann ein niedriges spezifisches Gewicht einen Zuckergehalt nicht als fehlend erscheinen lassen. 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, Ammoniak, Kreatin, Indican, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlor und Alkalien, Kalk, Oxalsäure sind mehr oder weniger erheblich vermehrt, die Harnsäure ist vermindert. Der Geruch ist meist fade, obstähnlich (Aceton), der Geschmack mehr oder weniger süßlich, die Reaktion sauer. Nach längerem Stehen finden sich im diabetischen Harne zahlreiche Hefezellen, man bemerkt auch vorher durch die veranlaßte Gärung eine Entwicklung von Kohlensäure. In schweren Diabetesfällen enthält der Harn viel Aceton, bei schweren nervösen Störungen (Koma, Asthma) auch Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure, Fettsäuren, Zeichen auch eines starken Zerfalls von Körpereiweiß.

F. Blumenthal glaubt, in der Phosphat- und Ammoniakausscheidung für die Schwere des Diabetes einen noch sichereren Maßstab zu gewinnen, als bei der alleinigen Prüfung auf Zucker und Aceton.

Öfters — Grube fand, daß Albuminurie und Diabetes in 40% der Fälle gleichzeitig vorkommen — ist mit der Zuckerharnruhr auch Albuminurie verbunden.

Über die Ursache, Bildung und Entstehung, sowie über das Wesen des Diabetes sind eine Reihe von Theorien aufgestellt worden, auf die alle

selbstverständlich nicht eingegangen werden kann, es soll nur das Wesentlichste Erwähnung finden. Im Magendarmkanal werden die Kohlenhydrate in d-Glykose, in l-Fruktose und Galaktose umgewandelt und diese zunächst als Reservestoffe in Form von Glykogen, einem hochmolekularen kolloiden Kohlenhydrate, in Leber und Muskeln, oder als Fett aufgespeichert. Das Auftreten des Zuckers im Harne ist bedingt durch eine Anreicherung des Zuckers im Blute und scheint eine Ursache, vielleicht die wesentlichste der Hyperglykämie und der Glykosurie darin zu bestehen, daß der zuckerkranke Organismus, Muskeln, Leber, die Fähigkeit verloren haben, das Zuckermolekül durch die erforderliche Lockerung oder Spaltung, überhaupt Vorbereitung für die normale vollkommene Verbrennung geeignet zu machen. Der Gehalt an Zucker im normalen Blute beträgt im Durchschnitt 0,08% mit Schwankungen von 0,05—0,11%; ein Überschuß wird durch die Nieren entfernt. Die Lockerung des Zuckermoleküls obliegt in der Hauptsache den Muskeln; eine unvollständige Spaltung des Zuckers deutet deshalb auf eine Störung der chemischen Vorgänge in den Muskeln — Störung in der Bildung des für die Traubenzuckerspaltung erforderlichen Fermentes — und diese Störung ist wohl wieder die Folge des Einflusses des Nervensystems, eine degenerative Erkrankung gewisser Zentren desselben. Der gesunde Muskel hat eben infolge des geschilderten Einflusses seine Eigenschaft, den normalen Stoffwechsel in der Weise zu besorgen, daß der aus dem Muskelglykogen gebildete Traubenzucker gespalten wird, und die Spaltungsprodukte eine Verbrennung erfahren, zum Teil verloren, die notwendige Spaltung ist eine unvollkommene, ohne diese aber kann der Zucker nicht verbrannt werden; er erzeugt Hyperglykämie und tritt aus dem Blute in den Harn über. Da nach O. Baumgartens Versuchen Stoffe, die ihrer Aldehydnatur nach verwandtschaftliche Beziehungen zum Traubenzucker haben oder durch ihre chemische Konstitution als Oxydationsprodukte der Glykosegruppe zugehören, vom Diabetiker verbrannt werden, so scheint es, als ob die fermentative Aufspaltung oder Auflockerung, die der Oxydation des Zuckers im Organismus vorauszugehen scheint, vom Diabetiker nicht geleistet wird oder nur mehr oder minder unvollständig ist. Vielleicht wäre die Hyperglykämie auch zu erklären durch eine infolge der Schädigung der Funktion der Leberzellen bedingte mangelhafte Glykogenbildung; die Leberzellen vermögen den resorbierten Zucker nicht vollkommen in Glykogen umzuwandeln, wodurch ein Teil ins Blut gelangt und Glykosurie erzeugt (Neumeister). In der Leber vollzieht sich ja die Zurückhaltung des Zuckers und Umwandlung dieses in Glykogen, das als Reservestoff aufgespeichert und je nach Bedarf nach Zurückverwandlung in diffundiblen Zucker zum Verbrauch zurückgeführt wird. (Schürmayer.) Daraus wird erklärlich, daß Störungen der Leberfunktionen die richtige Regelung der erwähnten Umwandlung nicht vor sich gehen lassen können. Bekannt ist, daß nach Degeneration und Exstirpation des Pankreas Diabetes eintritt. Unter Umständen ist auch diese Erscheinung mit den angegebenen Störungen in den Funktionen des Nervensystems in Einklang zu bringen,

indem vielleicht ein notwendiges aktivierendes Agens von der Pankreasdrüse nicht geliefert wird (siehe S. 269).

Nach allem, was man bis jetzt über den Diabetes weiß, unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, daß die Zuckerkrankheit keine einheitliche und auf den Zuckerstoffwechsel beschränkte Krankheit darstellt, sondern daß diese durch verschiedenartige pathologische Prozesse, durch direkte und indirekte Funktionsstörungen hervorgerufen wird.

Nach Blumenthal ist auch der Stoffwechsel der Eiweißkörper beim schweren Diabetiker gestört, es tritt eine Abartung in dem Abbau der Eiweißkörper ein.

F. Blumenthal und F. Umber nehmen an, daß es sich um eine synthetische Bildung von Zucker im Organismus handelt und daß bei dieser Bildung schwere Störungen im Stoffwechsel statthaben müssen, wofür das Auftreten von Aceton, Acetessigsäure usw. spräche. Bei dem schweren Diabetes soll Zucker auch aus Eiweiß gebildet werden.

Für wahrscheinlich wird es gehalten, daß für Diabetes eine durch Vererbung erworbene (latente) Diathese besteht; für manche Fälle von Glykosurie läßt sie sich sicherlich beweisen (Th. Brugsch).[1])

Die Herkunft, die Quelle des Harnzuckers kann zumal bei den großen Mengen, die ausgeschieden werden können, nicht ausschließlich in den Kohlenhydraten der Nahrung oder dem Kohlenhydratvorrate des Körpers zu suchen sein; der Organismus des Diabetikers muß die Fähigkeit haben, auch aus anderem Material Traubenzucker erzeugen zu können. Die Frage, ob der Zucker aus Eiweiß oder aus Fett gebildet wird, ist noch nicht entschieden; theoretisch würde der Annahme nichts im Wege stehen, daß der Tierkörper d-Glykose sowohl aus Eiweiß, Aminosäuren, wie aus Fett zu bilden vermag. Die wertvollen Versuche von Lüthje, von Embden und Salomon, Emden und Almagia, Lusk und Ringer sprechen zugunsten einer solchen Annahme.

Ich möchte nicht zu erwähnen vergessen, daß nach H. Koenigsfeld durch eine meist infolge reichlichen Genusses von Alkalien entstandene alkalische Reaktion des Harnes ein Teil der ausgeschiedenen Dextrose in Lävulose invertiert werden kann (s. bei Lävulose).

Darstellung des Harnzuckers aus dem Harne.

Ein oder mehrere Liter Harn werden mit essigsaurem Blei gefällt; das Filtrat wird durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von dem im Überschusse zugesetzten Blei befreit und der Schwefelwasserstoff durch Durchleiten von Luft entfernt; das Filtrat dampft man nach dem Abfiltrieren des Schwefelbleies im Wasserbade zu einem dünnen Sirup ein und überläßt diesen nach dem Übergießen mit Alkohol der Krystallisation. Die ausgeschiedenen Krystalle werden nach dem Zerreiben mit absolutem Alkohol, auch reinem wasserfreiem Methylalkohol, ausgewaschen und am besten aus Methylalkohol umkrystallisiert. Oder man bedient sich, besonders bei Anwesenheit nur

[1]) a. a. O.

geringer Zuckermengen, der Fällbarkeit des Harnzuckers als Bleisaccharat 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 Traubenzuckerkalium 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 niederer Temperatur.

Zur Gewinnung sehr kleiner Mengen Zucker aus großen Harnmengen hat B. Schöndorff[1]) ein Verfahren beschrieben.

Eigenschaften des Harnzuckers.

Der Harnzucker krystallisiert aus Wasser in weißen körnig-krystallinischen 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 zum Reinigen eignet.

Aus seinen Lösungen wird der Harnzucker vollständig durch basisches Bleiacetat und Ammoniak als basisches Bleisalz gefällt. Man benutzt diese Eigenschaft zur Isolierung kleiner Zuckermengen aus Harn. Mit Chlornatrium gibt der Harnzucker verschiedene Verbindungen; eine solche $2(C_6H_{12}O_6)$. $NaCl + H_2O$ scheidet sich aus diabetischem Harne in schönen sechsseitigen Doppelpyramiden oder in Rhomboedern aus; auch Kalk und Baryt geben Verbindungen mit Traubenzucker. Traubenzuckerlösungen reduzieren in der Wärme alkalische Kupferoxyd-, Silberoxyd-, Quecksilberoxydlösungen, wobei der Zucker zu Tartronsäure, Ameisensäure, Essigsäure und zu anderen Säuren oxydiert wird; es gründen sich auf dieses Verhalten bestimmte, sehr wichtige Zuckerreaktionen. Durch Salpetersäure wird der Traubenzucker in Zuckersäure verwandelt. Seine wässerige Lösung dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, und zwar beträgt die spezifische Drehung für das Anhydrid $+ 52{,}74^0$. 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, bei 204^0 schmelzendes Phenylglykosazon. In wässeriger neutraler oder schwach saurer Lösung mit Hefe zusammengebracht, wird der Traubenzucker vergoren und zerfällt in Alkohol und Kohlensäure; am glattesten geht die Gärung bei 25^0 vor sich.

Beim Erwärmen der Traubenzuckerlösungen mit Kalium- oder Natriumhydroxyd tritt eine Zersetzung des Zuckers ein (Bräunung).

[1]) a. a. O.

Qualitativer Nachweis des Zuckers.

Der Nachweis des Zuckers im Harne gehört zu den Untersuchungen in der Harnanalyse, die am häufigsten auszuführen sind; dieser Nachweis erfordert jedoch, so einfach er zu sein scheint, Geduld und Vorsicht, wenn nur kleine Mengen Zucker vorhanden sind. Es sei nochmals daran erinnert, daß bei der Prüfung wohl zu berücksichtigen ist, ob sich der Zucker in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen findet oder nur nach großen Mahlzeiten und nach dem Genusse von Kohlenhydraten. Es wurde S. 268 schon erwähnt, daß z. B. sog. Morgenharn (nüchtern entleert) keinen Zucker, Harn nach eingenommenem Frühstück oder Harn nach Mahlzeiten entleert sogar nicht geringe Zuckermengen enthalten kann. Am besten ist es immer, in erster Linie den innerhalb 24 Stunden entleerten Harn zur Untersuchung zu nehmen und die entleerte Menge zu kennen, dann aber auch den zu verschiedenen Zeiten, nach Mahlzeiten, auch nach körperlichen Bewegungen gelassenen Harn zu prüfen. Notwendig sind weiter wiederholte Harnuntersuchungen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für den Arzt für zu ergreifende Maßnahmen diätetischer Art und zur Prüfung des Erfolges der verordneten Lebensweise von großer Bedeutung. Vor allem muß schon vor Anführung der wichtigsten Verfahren betont werden, daß man sich nie mit dem positiven Ausfall einer Probe begnügen darf, sondern daß man stets noch weitere Proben ausführen muß, bevor das endgültige 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, Arzneistoffen oder Umwandlungsprodukten dieser im Organismus eigen sind und deshalb Täuschungen vorkommen können; es wird bei Besprechung der Proben und Reaktionen auf diese Tatsachen aufmerksam gemacht werden. Findet man Zucker, dann bestimme man seine Menge.

Vorbereitung des Harnes zum qualitativen Nachweis des Zuckers.

Man vergesse nicht, zuckerhaltigen Harn alsbald auch auf die Acetonkörper und auf Eiweißgehalt zu prüfen.

Vor der weiteren Prüfung auf Traubenzucker muß man zunächst die Abwesenheit von Eiweiß und Schwefelwasserstoff feststellen; das Eiweiß, das beim Zuckernachweis störend wirkt (Trommersche Probe kann bordeauxrote Färbung geben, die Wismutprobe wird damit braun, braungelb bis schwarz), scheidet man am besten durch Kochen des Harnes allein oder, wenn nötig, nach Zugabe einiger Tropfen Essigsäure ab und nimmt das Filtrat für die Reaktionen.

Wenn etwa zur Konservierung des Harnes Chloroform zugesetzt ist, dann muß es durch einen Luftstrom oder durch Erwärmen des Harnes beseitigt werden.

Bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff (S. 93) wird dieser durch Schütteln des Harnes mit Bleiweiß entfernt und das Filtrat verwendet.

Für die Vornahme einer recht genauen Prüfung nimmt man den Harn nicht direkt; man gibt zu 50 ccm Harn 5 ccm neutrales Bleiacetat oder Bleiacetat in Substanz (2—3 g), schüttelt bei Anwendung des letzteren bis zur Lösung, filtriert und entfernt aus dem Filtrate durch einige Kubikzentimeter einer gesättigten Lösung von Natriumphosphat das Blei. Das vollkommen helle, ungefärbte Filtrat verwendet man für die Reaktionen. Selbstverständlich muß der Harn sauer sein und sauer bleiben, sonst setzt man vorher einige Tropfen Essigsäure zu. Aus alkalischem Harne wird durch Blei Zucker gefällt. Bleiessig fällt Fruktose.

Man kann auch das Filtrat des Harnes, wie er für die Zwecke der polarimetrischen Prüfung (s. d.) vorbereitet wurde, verwenden, oder die Reinigung mit Quecksilberacetat vornehmen (s. später).

Auf die eine oder die andere Weise entfernt man Farbstoffe und weitere die Reduktion beeinflussende oder selbst reduzierende Stoffe, soweit als möglich. Dies Verfahren empfiehlt sich besonders bei starkgefärbten Harnen.

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, es sei denn, daß man sich durch Versuche von der Brauchbarkeit der Kohle überzeugt hätte. Neuerdings haben Autenrieth und Tesdorpf festgestellt, daß beim Schütteln mit Blutkohle erhebliche Mengen Traubenzucker durch die Kohle absorbiert werden können; nur beim Behandeln des Harnes mit Tierkohle und Salzsäure (Bohmannsson) oder Tierkohle und Aceton oder Essigsäure (Michaelis und Rona) soll keine Absorption von Zucker eintreten. J. Bang empfiehlt 18 ccm Harn mit 2 ccm 95%igem Alkohol zu mischen, mit einer guten Messerspitze Blutkohle (Merck) zu schütteln und das Filtrat für die Reduktionsproben nach Fehling, Trommer, Almen zu verwenden. Die störenden Substanzen, auch geringe Mengen Eiweiß werden von der Kohle adsorbiert; es muß aber der vorgeschriebene Alkoholzusatz gemacht werden, sonst wird auch Zucker teilweise von der Kohle aufgenommen. Tierkohle und Salzsäure absorbiert etwas Zucker. Nach Mercks Bericht können durch die Glykosekohle Merck, mit Säuren gereinigte Carbo sanguinis, störende reduzierende Stoffe bei der Harnzuckerbestimmung entfernt werden.

Nimmt man den Harn direkt, so vergesse man nicht, wenn er konzentriert ist, ihn zwei- bis dreifach zu verdünnen, denn es kann vorkommen, daß stark konzentrierter Harn bei den Proben

mit Fehlingscher oder Wismut-Lösung keine positiven Reaktionen gibt, wohl aber nach der Verdünnung.

Ich erwähne noch die von Ch. Porcher[1]) angegebene Vorbereitung des Harnes, die allerdings ziemlich umständlich ist und nur in besonderen Fällen in Betracht kommen wird. An Stickstoff reichen Harn versetzt man mit dem gleichen Volumen einer 40%igen Quecksilberoxydnitratlösung; nach dem Neutralisieren verdünnt man mit Wasser auf das 10fache Volumen, filtriert, entfernt das Quecksilber mit Zinkstaub oder Schwefelwasserstoff, engt am besten im Vakuum ein, versetzt mit Alkohol, filtriert vom Natriumnitrat ab und verjagt den Alkohol im Vakuum; die Lösung verwendet man für die Reaktionen.

Zu empfehlen ist und dem Quecksilbernitrat bei weitem vorzuziehen besonders bei den an Stickstoff usw. reichen Harnen die Verwendung von Mercuriacetat. Etwa 20 ccm Harn versetzt man mit 2—3 Tropfen Eisessig und mit 2—3 g feingepulvertem Mercuriacetat und bringt letzteres durch Schütteln oder Verreiben in einer Schale in Lösung. Man läßt 10—15 Minuten stehen, filtriert und schüttelt das Filtrat mit 3—4 g Zinkstaub nach dem Zusetzen von 1 Tropfen konz. Salzsäure und einer Spur Kupfersulfat, um das Quecksilber zu entfernen. Man läßt 15—20 Minuten stehen. Das Filtrat dient für die Vornahme der Reaktionen. Es muß wasserklar und frei von Quecksilber sein (Prüfung mit Zinnchlorür), außerdem wiederholt man die angegebene Behandlung mit Zinkstaub usw. (C. Neuberg)[2]). Vorsicht bei der Prüfung mit Ferrocyankalium-Essigsäure!

1. Methode Trommer.[3]) (A. C. Becquerel.[4])) (Älteste Probe.)

Sie wurde 1841 von Trommer unter E. Mitscherlichs Leitung angestellt; Salkowski änderte sie 1879 entsprechend (E. Ebstein a. a. O.).

Prinzip.

Die Probe beruht auf der Eigenschaft des Traubenzuckers, mit Kupferoxydsalz bei Gegenwart von Alkalilauge eine tiefblau gefärbte Lösung, Traubenzucker-Kupferhydrat $C_6H_{12}O_6 \cdot 5\,Cu(OH)_2$ zu bilden, die beim Erwärmen gelbes Kupferoxydulhydrat CuOH oder rotes Kupferoxydul Cu_2O abscheidet.

Man versetzt in einem Reagenzglase 5 ccm Harn zuerst mit der gleichen Menge 10%iger Natronlauge, — nach anderer Angabe mit $^1/_5$ Vol. — schüttelt und fügt unter Umschütteln tropfenweise von einer 5%igen Kupfersulfatlösung so lange hinzu, bis eine kleine Menge von Kupferoxydhydrat $Cu(OH)_2$ ungelöst bleibt (— ein größerer Überschuß veranlaßt Schwarzfärbung in der Hitze unter Bildung von Kupferoxyd —) und die Flüssigkeit etwas blaugrün oder trüb wird. (Eine anfangs bei Alkalizusatz etwa entstehende Trübung rührt von Erdphosphaten her. Alle echten Kohlenhydrate haben wie auch Glycerin die Eigenschaft, Kupferhydroxyd unter Bildung einer leicht löslichen Doppelverbindung zu lösen, so daß eine anfangs entstehende schöne Blaufärbung auf das Vorhandensein von Zucker schließen läßt; die Aldosen und Ketosen, die Zucker mit einer freien Carboxylgruppe, scheiden beim Erwärmen Kupferoxydulhydrat oder Kupferoxydul ab.) Nun erwärmt man die Mischung langsam höchstens bis zum **beginnenden** Sieden — also stärkeres Erhitzen vermeiden! —, am besten bloß an einer Stelle an der Oberfläche der Flüssigkeit. Bei zuckerhaltigem Harne bemerkt man schon vor dem Kochen an der erwärmten Stelle gelbe (Cuprohydrat CuOH) oder orangerote (Kupferoxydul) Streifen oder eine ebensolche wolkige Trübung, die sich ohne weiteres Erwärmen über die ganze Flüssigkeit erstreckt und sich, allerdings gewöhnlich

[1]) Bull. de l'Assoc. des Chim. de Sucr. et Dist. 1906. **24.** 153.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1910. **24.** 424.
[3]) Ann. Chem. Pharm. 1841. **39.** 360.
[4]) Ann. de Chim. et de Phys. 1831. **47.** 15.

sehr langsam, als rötlich feinkörniger Niederschlag von Kupferoxydul absetzt. Meistens bleibt das letztere suspendiert.

Bei geringen Zuckermengen, bei schwacher und undeutlicher Reaktion empfiehlt O. Mayer[1]) in folgender Weise vorzugehen. In einem graduierten Zylinder mischt man 20 ccm Harn und 10 ccm Natronlauge (15%ig) mit wenig 10%iger Kupfersulfatlösung; dann gießt man 10 ccm davon in ein Reagenzrohr *a*, setzt zu der im Zylinder verbliebenen Flüssigkeit eine weitere Menge Kupfersulfat bis zur schwachen Trübung und gießt nochmals 10 ccm in ein Glas *b* ab; zu dem Reste fügt man Kupfersulfat bis zur starken Trübung *c* und erhitzt nunmehr die 3 Proben 3 bis 5 Minuten im kochenden Wasserbade. Wegen der kupferlösenden Wirkung der in physiologischen Harnen vorkommenden organischen Stoffe wird in *a*, meist auch in *b* keine Reduktion eingetreten sein, während in *c* bei Gegenwart von Zucker deutliche Reduktion erfolgt ist. In diabetischen, insbesondere in zuckerreichen Harnen dagegen erfolgt die Reduktion gewöhnlich schon in *a*.

Das Deutsche Arzneibuch V läßt eine 15%ige Natronlauge und eine 10%ige Kupfersulfatlösung verwenden.

K. Simrock[2]), ebenso J. Strassburger[3]), Schwarz[4]) u. a. empfehlen die in Amerika eingebürgerte Modifikation der Trommerschen Zuckerprobe von W. S. Haines.

W. S. Haines, G. P. Pond und R. W. Webster[5]) geben eine abgeänderte Hainessche Lösung und ein verfeinertes Verfahren zum Zuckernachweis an. 5 g Kupfersulfat, 250 ccm Glycerin, 20 g Kalium- oder 14,3 g Natriumhydroxyd, destilliertes Wasser zu 1 Ltr. Das Kupfersulfat wird in der Wärme in 250 ccm Glycerin und 250 ccm Wasser gelöst, das Alkali getrennt davon in 200 ccm. Die Lösungen werden hierauf vereinigt und auf 1 Ltr. aufgefüllt.

5 ccm der Lösung werden gekocht und im schräggehaltenen Reagenzglase mit 10—20 Tropfen Urin versetzt, dessen Phosphate nach Zusatz von 5—6 Tropfen einer 5—10%igen Natronlauge ausgefällt und abfiltriert sind. Ist mehr als 0,1% Zucker vorhanden, so bildet sich an der Berührungsfläche von Reagens und Urin ein roter oder gelber Ring. Bei nur 0,03% bildet sich der Ring erst nach einigen Sekunden, spätestens nach 1 Minute; noch geringere Zuckermengen, die dann bereits physiologisch sind, lassen sich nicht mehr anzeigen.

Die Hainessche Probe soll scharf, zuverlässig sein und sich besonders für die ärztliche Praxis empfehlen (J. N. Schulz, Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes 1910).

Eine Lösung mit Glycerinzusatz haben früher Criswell und Loewe angegeben. Shiebs Reagens auf Harnzucker ist eine abgeänderte Fehlingsche Lösung mit Glycerin.

Beurteilung.

Die Trommersche Probe ist bei Anwendung des Harnes direkt unsicher, ungenau, sie ist eben eine Reduktionsprobe überhaupt.

In der angegebenen Weise verläuft die Reaktion nur in ausgesprochenem diabetischem Harne. Besonders die 2 folgenden Umstände beeinträchtigen den Ausfall und den Wert der Probe. Enthält der Harn viel Zucker, hat man zu wenig Kupfersulfat zugegeben, also zu wenig Kupferoxydhydrat in Lösung gebracht, so daß nicht die ganze Menge des vorhandenen Traubenzuckers durch das Kupferoxyd oxydiert werden kann, so macht sich beim Erhitzen die zerstörende Wirkung des Alkalis auf den Zucker, Dunkelbraunfärbung, Karamelbildung, geltend; in dieser gefärbten Flüssigkeit ist einerseits die Erkennung eines gelben oder roten Kupferoxyduls sehr schwierig, andererseits kann das Karamel allenfalls reduziertes Kupferoxydul wieder in Lösung halten.

Enthält der Harn dagegen wenig Zucker, so kann man leicht zu viel Kupfersulfat zugesetzt haben und aus dem im Überschusse vorhandenen, von Zucker nicht reduzierten Kupferoxydhydrat entsteht beim Erhitzen neben den kleinen Mengen Kupferoxydul schwarzes Kupferoxyd, das ebenfalls das Kupferoxydul verdeckt. Ferner kommen im normalen Harne, wie im Fieberharne Substanzen vor (Harnsäure, Kreatinin, Harn- und Gallenfarbstoffe, Mucin, Glucuronsäureverbindungen), die einerseits eine Reduktion veranlassen, andererseits Kupferoxydul in Lösung zu halten vermögen (besonders Kreatinin, auch Ammoniak), so daß dieses nicht zur Abscheidung gelangt; es können im Harne sogar 0,5% Zucker übersehen werden, wenn sich die reduzierenden und Kupferoxydul lösenden Substanzen gerade decken. Man sei deshalb mit dem Zusatze von Alkali nicht ängstlich, da dadurch das Kreatinin in Kreatin umgewandelt wird, das den regulären Verlauf der Reaktion nicht oder nur wenig beeinträchtigt. Entsprechend vorbereiteter Harn oder 2—3fach verdünnter Harn beseitigt die erwähnten Störungen sehr wesentlich. Auch nach dem Einnehmen von Arzneimitteln (Salicylsäure, Chloralhydrat, Thallin, Salol, Benzosol, Morphin, Saccharin, Copaiva, Arbutin besonders) treten Fällungen auf. Bettmann beobachtete, daß eine bestehende Ausscheidung von Zucker durch Copaivabalsam erheblich gesteigert wird; dieses Arzneimittel kann auch alimentäre Glykosurie bewirken.

---

[1]) Archiv f. Hygien. 1918. **88.** 184.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 865.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1905. **31.** 612.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **54.** 1184.
[5]) Journ. of the Americ. med. assoc. 1919. **74.** 301; Chem. Centralbl. 1920. **91.** IV. 240.

Nach A. Gawalowski können Ortho- und Paraphenolsulfosäuren und deren Salze mehr oder weniger vollständig die Reduktion alkalischer Kupferlösungen durch Harnzucker verhindern. Auf bloße Gelbfärbung der Flüssigkeit, sowie auf einen erst beim Erkalten auftretenden Niederschlag ist nichts zu geben; nur die noch vor dem Kochen eintretende Reduktion ist beweisend; deshalb ist auch weiteres Kochen fehlerhaft, da sich Kupferoxyd und Kupfer abscheiden, wodurch die Farbe schmutzig rotbraun wird. Die alte Trommersche Probe sollte man nur in der viel verbesserten Form von

2. Worm-Müller[1]) oder von Fehling in Anwendung bringen,

wobei sich die oben erwähnten Übelstände weniger bemerkbar machen, da im Überschusse vorhandenes Kupferhydroxyd durch das in diesen Lösungen vorhandene Kaliumnatriumtartrat durch Komplexbildung in Lösung gehalten wird.

Erforderliche Lösungen für das Verfahren von Worm-Müller.

1. 2,5%ige Kupfersulfatlösung.
2. Eine Lösung von 10 Teilen weinsaurem Kalinatron (Seignettesalz) in 100 Teilen 4%iger Natronlauge. Seignettesalzlösung verhindert eine Ausscheidung von schwarzem Kupferoxyd und Kupferhydroxyd, wie dies bei der Probe 1 beobachtet werden kann; neutrale weinsaure Salze, auch Glycerin lösen diese (Bildung komplexer Salze).

Man mischt von diesen Lösungen 1,5 ccm Kupfersulfat- mit 2,5 ccm der Seignettesalzlösung unmittelbar vor dem Gebrauche und erhitzt bis auf 70—80° (nicht ganz zum Kochen); auf die gleiche Temperatur erwärmt man 5 ccm des nötigenfalls verdünnten und filtrierten Harnes und bringt den letzteren in kleinen Portionen ohne Schütteln zur Kupferlösung. (Man kann auch den Inhalt der beiden Reagenzgläser zum Kochen erhitzen, dieses gleichzeitig unterbrechen, die Gläser 20—25 Sekunden stehen lassen und dann vermischen — ursprüngliche Methode). Eine mehr oder weniger rasch eintretende Entfärbung mit einer schmutzig gelbgrünen, gelblichen, bald rötlich werdenden Trübung oder Fällung von Kupferoxydul verbunden, deutet auf Zuckergehalt. Erhält man keine Reaktion, so muß, da bei geringem Zuckergehalte 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, die Kupfermenge muß sukzessiv vermehrt werden, bis die Reaktion eintritt, oder bis die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, bis sie grün bleibt.

Am besten nimmt man diese Probe mit der eigentlichen Fehlingschen Lösung (s. d.) vor. Man erhitzt die unmittelbar vor dem Gebrauche aus gleichen Teilen Kupfer- und Seignettesalzlösung zusammengemischte Flüssigkeit zum Kochen; es darf keine Veränderung der Lösung (Trübung oder Reduktion) eintreten; dann gibt man den nötigenfalls verdünnten und erhitzten Harn (bei stark konzentrierten, harnsäurereichen Harnen verdünnt man mit der gleichen bis 3fachen Menge Wasser), noch sicherer aber das Filtrat des wie angegeben vorbehandelten Harnes, das man gleichfalls erhitzt hat, zur Fehlingschen Lösung. (Der Harn oder das Filtrat darf nicht stark sauer sein; die Mischung mit der Fehlingschen Lösung muß deutlich alkalisch sein.) Eine eintretende gelbliche bis gelblich-rötliche Färbung zeigt die Anwesenheit von Zucker an.

[1]) Archiv Physiol. 1882. **27.** 107.

Zu empfehlen ist eine von Klopstock-Kowarsky angegebene Ausführung, bei der kleinere Mengen Harn und Reagens in Anwendung kommen. Je 10 Tropfen der Kupfer- und Seignettesalzlösung bringt man in ein Reagenzglas, mischt, verdünnt mit der 3fachen Menge Wassers und erhitzt zum Sieden. Zu der heißen Flüssigkeit bringt man 3—5 Tropfen des Harnes und erhitzt wieder zum Sieden. Wenn kein Zucker vorhanden ist, bleibt die blaue Farbe; bei geringem Zuckergehalte treten Veränderung der Farbe und die Ausscheidung des Kupferoxyduls beim nochmaligen Erwärmen ein. Bei reichlichem Zuckergehalte entsteht schon sofort nach Zugabe des Harnes eine gelbe oder gelbrote Färbung der Flüssigkeit und Ausscheidung eines reichlichen feinkörnigen Niederschlages von Kupferoxydul.

Beurteilung.

Diese Probe ist viel empfindlicher wie I., ferner kommen auch bei den angegebenen Temperaturen die das Kupferoxyd bei Siedetemperatur reduzierenden Substanzen in geringerem Grade zur Wirkung, besonders wenn man Harn und nötigenfalls auch das Reagens mit Wasser verdünnt hat. Das Kupferoxydul kann, veranlaßt durch Xanthinbasen, Harnsäure, Kreatinin auch als schmutzig gelbgrüne Trübung fein suspendiert bleiben; und zwar kann in dem einen Harne diese erwähnte Ausscheidung eintreten, bei einem anderen Harne, aber mit dem gleichen Zuckergehalte kann die rote Oxydulfarbe beobachtet werden; diese Verschiedenheit beruht eben auf der Relation zwischen Zucker und den genannten Stoffen. Auch kann, wenn die oxydullösenden Stoffe (Kreatinin) bei Gegenwart kleiner Zuckermengen vermehrt sind, die Oxydulausscheidung ganz verhindert werden.

Auch die anderen bei I. angegebenen Stoffe können die Reaktion beeinflussen, es kann deshalb auch diese Probe nicht als vollkommen eindeutig und stichhaltig bezeichnet werden.

Grünliche Färbung der Flüssigkeit ohne Abscheidung von Oxydul ist auf in größerer Menge vorhandene Harnfarbstoffe zurückzuführen; hier wie bei konzentrierten, phosphatreichen Harnen, die stärkere Niederschläge geben, ist eine Verdünnung des Harnes angezeigt; in allen derartigen abweichenden Fällen denke man zuerst daran, den verdünnten Harn einmal zu prüfen; das Entfernen der Phosphate (Haines, S. 276) ist zu empfehlen. Die grüne oder gelbe Verfärbung kann auch auf die Harnsäure, auf Kreatinin, Ammoniak zurückzuführen sein. Man verdünne dann den Harn wie angegeben.

Man denke noch daran, daß, wie schon erwähnt, Chloroform oder Formalin nicht ohne Einwirkung auf Fehlingsche Lösung sind. Für den Zuckernachweis bestimmter Harn sollte nie mit den genannten Mitteln konserviert werden; es eignet sich hiezu der Zusatz von 1% Kupfersulfat (s. S. 274).

Abänderungen zur Trommerschen und Worm-Müllerschen Probe bringen K. Sauer[1]), H. Ruoss[2]), E. Salkowski[3]), L. de Jager[4]).

3. Die Böttger[5])-A. Almén[6])-E. Nylandersche[7]) Wismutprobe.

Die Wismutprobe wurde 1857 von Böttger in Frankfurt a. M. angewendet; 1867 hat sie A. Th. Almén vereinfacht, E. Nylander zeigte 1883, daß der Gehalt der Alménschen Lösung an Alkali (Na_2O) nur etwa 8% betragen dürfe (E. Ebstein a. a. O.).

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Reduktion von basischem Wismutnitrat in alkalischer Lösung durch Glykose zu schwarzem Wismutoxydul oder metallischem Wismut.

Die ursprünglich Böttgersche 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 genauere Resultate gebenden Abänderung von Nylander ausgeführt.

Das Nylandersche Reagens, eine alkalische Lösung von Wismuttartrat, besteht aus 2 g Bismut. subnitric., die mit 4 g Seignettesalz verrieben und in 100 g 10%iger Natronlauge (1,115 spez. Gew. bei 19°) bei gelinder Wärme gelöst werden; die Lösung wird filtriert. Das Reagens hält sich in einem dunklen Glase und im Dunkeln aufbewahrt längere Zeit unverändert. Der Seignettesalzzusatz hat den Zweck, das durch Natronlauge ausgeschiedene $Bi(OH)_3$ in Lösung

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1916. **63.** 350.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1917. **101.** 131.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **79.** 164.
[4]) Zentralbl. inner. Mediz. 1912. **33.** Nr. 25.
[5]) Journ. prakt. Chem. 1857. **70.** 432.
[6]) Jahresb. Virchow-Hirsch 1869. **1.** 103.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1883/84. **8.** 175.

zu halten. Ein empfohlenes sog. verstärktes Nylandersches Reagens mit etwa 8% Bismut. subnitric. führt zwar schneller zum Ziel, läßt aber auch leichter Fehlschüsse zu.

Das J. Loewesche[1]) Reagens, das in Frankreich benützt wird, ist eine filtrierte, heiß bereitete Lösung von 15 g Wismutnitrat in 30 g Glycerin, 70 ccm Natronlauge (1,34 = 30%) und 150 ccm Wasser.

Man erhält 5—10 ccm des selbstverständlich eiweißfreien Harnes nach Zugabe von $^1/_2$—1 ccm Reagens — ein Überschuß schadet nicht — mindestens 3 Minuten im Kochen. J. Bang nimmt den, wie S. 274 angegeben, vorbereiteten Harn. Auch das Erhitzen 5 Minuten lang in kochendem Wasserbade wird empfohlen, doch weicht man am besten nicht von der alten Vorschrift ab. Bei Anwesenheit von Zucker tritt je nach dem Zuckergehalte Gelb-, Braunschwarzfärbung, sogar Schwarzfärbung der Flüssigkeit und des anfänglich rein weißen Erdphosphatniederschlages auf. Nach kürzerer oder längerer Zeit setzt sich ein schwarzer Bodensatz ab, die obenstehende Flüssigkeit klärt sich, bleibt aber gelb bis gelbbraun gefärbt. Beim Vorhandensein von nur sehr wenig Zucker wird der Harn nicht schwarz- oder schwarzbraun, sondern nur dunkler gefärbt. Das Reagens wird stets vor dem Gebrauche nach 10facher Verdünnung mit Wasser auf seine normale Beschaffenheit geprüft — gekocht; es darf keine Färbung, noch bräunliche oder schwarze Abscheidung stattfinden. Ein sehr geringer Zuckergehalt ist durch die grauweiße Färbung des Phosphatniederschlages (dunkler oder schwarzer Saum am oberen Rande des Niederschlages) erkennbar (doch s. unten). Bei kleinen Zuckermengen kocht man etwas länger, 5 Minuten.

Im alkalischen Harne mit viel Ammoniumkarbonat kann unter Umständen, da das Natriumhydroxyd gebunden wird und an seine Stelle Ammoniak tritt, vorhandener Zucker nicht erkannt werden; reichliche Zugabe des Reagens behebt den Zustand.

Beim Kochen der Mischung bemerkt man häufig ein recht lästiges Stoßen, wobei nicht selten ein Teil des Inhaltes des Glases herausgeschleudert wird; man kann dieses durch Zugeben einer kleinen Platinspirale und dadurch vermeiden, daß man nach dem erfolgten Aufkochen das Reagenzglas neben der Flamme des Brenners kochen läßt. Man wähle keine zu weiten Reagenzgläser

G. Buchner empfiehlt hiezu die Reagenzröhren nach Hoare, die in ihrem oberen Teile eine kugelförmige Erweiterung haben, wodurch das unangenehme Überkochen ausgeschlossen wird.

Nach den eingehenden Versuchen von O. Hammarsten[2]) führt man die Probe genau in der ursprünglich empfohlenen Weise durch Kochen während 3—5 Minuten aus.

Behrendt[3]) empfiehlt die Probe zur annähernden quantitativen Bestimmung unter Verwendung einer Lösung von bestimmtem Gehalte an Wismutsubnitrat.

In einer anderen Modifikation läßt Brücke die Wismutprobe vornehmen. H. Kraus macht den Harn zur Entfernung der Phosphate mit Natronlauge stark alkalisch, filtriert, neutralisiert das Filtrat annähernd mit Essigsäure und prüft dann erst mit Nylanders Reagens. Man soll die undurchsichtige schwarze Flüssigkeit deutlicher erhalten, da die ausfallenden Phosphate von dem fein verteilten Wismutniederschlage mit niederreißen und die Flüssigkeit öfters nicht charakteristisch schwarz oder dunkel aussieht.

G. Bohmannsson hat als Störenfried das Urochrom erkannt; er läßt erst 10 ccm Harn mit $^1/_5$ Vol. 25%iger Salzsäure und etwa 1 Vol. feuchter Knochenkohle oder $^1/_2$ Vol. trockener vermischen, eine Minute schütteln und das Filtrat mit dem Reagens versetzen. Siehe auch A. Bang S. 274.

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1883. **22.** 498.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **50.** 36.
[3]) Deutsch. med Wochenschr. 1903. **29.** 625.

Beurteilung.

Ein Zuckergehalt von noch 0,1 % im Harne gibt sich durch einen deutlich positiven Ausfall der Probe zu erkennen, meistens sind auch 0,05 % Traubenzucker im Harne nachzuweisen. Die Probe ist einfach in ihrer Ausführung.

Kennzeichnend ist vor allem das Auftreten eines schwarzen oder bei Gegenwart von viel Erdphosphaten fast schwarzen Phosphatsedimentes, wenn man nach beendetem Kochen 5 Minuten ruhig stehen läßt und dann beobachtet.

Harnsäure und Kreatinin wirken nicht ein, dagegen Glykuronsäuren und weiter vermehrte Anwesenheit von Ammoniumcarbonat, Indoxylschwefelsäure, Indican, Uroërythrin; eiweißhaltiger Harn färbt sich unter Bildung von Schwefelwismut durch Zersetzung von Eiweiß braunrot, beim Stehen scheidet sich ein Niederschlag von Schwefelwismut ab.

Fruchtzucker und Milchzucker geben die Probe positiv.

Antipyrin, Senna, Rheum, Salol, Benzosol, Terpentinöl (sogar nach Einatmen von solchem), Eucalyptustinktur, Sulfonal, Trional, Arbutin, größere Mengen Chinin wirken ebenfalls ein; der Arzt wird deshalb eine Medikation vor der Anstellung der Probe vermeiden; auch der Genuß von Gewürzen dürfte zweckmäßig zu unterlassen sein. Bei Anwesenheit von Santoninfarbstoff, von Phenolphthalein (als Abführmittel) kann der Harn eine rötliche Farbe annehmen. Sonst ist die Probe als bequeme für den Arzt mit der Bedingung zu empfehlen, daß sie noch durch eine andere kontrolliert wird. Im übrigen kann man sich durch einige Reaktionen von dem Fehlen oder von der Anwesenheit der genannten Stoffe leicht überzeugen. Besonders rheumhaltiger Harn wirkt störend und Zucker vortäuschend ein.

Nach Weitbrecht veranlaßte Formaldehyd, nach Einnehmen von Urotropin entstanden, positive Nylandersche Reaktion.

Nach Jothioneinreibung wurde bei einem Zuckerkranken mit der Wismutprobe kein Zucker gefunden, obwohl durch Polarisation und Bestimmung nach Lehmann reichlich Zucker nachweisbar war (E. Strauss).

Man halte genau das Verhältnis zwischen Harn und Reagens ein. G. Buchner macht noch darauf aufmerksam, daß hie und da eine graue Färbung des Erdphosphatniederschlages eintreten kann, ohne daß Zucker vorhanden ist; er fand, daß ein vermehrter Gehalt an Uroërythrin diese Färbung veranlaßt. Ich fand bei Harnen, die an diesem Farbstoff reich waren, oft nicht allein eine Graufärbung, sondern sogar eine Schwärzung des Sedimentes. (Siehe S. 279 Urochrom und nachstehend.)

Man verwechsle ja nicht einen pentosenhaltigen Harne mit einem Harne, der Zucker enthält und umgekehrt!

Rosenberg[1]), der auf alle die Mängel dieser Probe aufmerksam macht, will diese Probe gar nicht mehr angewendet wissen; mit der nötigen Vorsicht und Umsicht ausgeführt, gibt die Probe uns aber doch wertvolle Aufschlüsse.

G. Bohmannsson hält sie nach Entfernung des Urochroms aus dem Harne — nach J. Bang — für viel wertvoller, wie die Kupferproben; ich schließe mich dieser Ansicht an.

Wie vorsichtig man bei der Beurteilung des Ausfalles der eben erwähnten Zuckerproben zu Werke zu gehen hat, mag dem Analytiker die nachstehende von G. Buchner[2]) zusammengestellte Übersicht zeigen. Wir werden in wichtigen Fällen den Ausfall einer dieser Proben immer noch durch die Gärprobe, auch durch Polarisieren kontrollieren.

Übersicht:

I. Normale Harnbestandteile, die je nach der vorhandenen Menge mehr oder weniger reduzieren oder die Farbe des Erdphosphatniederschlages verändern.

Fehling:	Wismutprobe:
Brenzkatechin	Uroerythrin.
Gallenfarbstoffe.	(Harnfarbstoffe, insbesondere auch Urobilin, wenn diese stark vermehrt sind, verursachen Braunfärbung des Phosphatniederschlages).
Harnfarbstoffe.	
Harnsäure.	
Indican.	Urochrom (Bohmannsson, Bang).
Kreatinin.	
Urobilin.	
Urobilinogen.	

Spuren von Kohlenhydraten als: Glykose, Isomaltose, Pentosen, Milchzucker und tierisches Gummi, dann Glykuronsäureverbindungen (geringe Mengen).

Vermehrte Reduktion zeigen die konzentrierten und sog. hochgestellten Harne, auch Harne, die mäßige oder reichliche Mengen von Formelementen (Leukocyten, Blutkörperchen, Epithelien) enthalten.

[1]) Berl. klinisch. Wochenschr. 1906. **43.** 1104.

[2]) Ärztliche Rundschau 1899. Nr. 42—44. Separatabdruck.

II. Stoffe des anormalen Stoffwechsels, die reduzieren.

Fehling:	Wismutprobe:
—	Blutfarbstoffe.
—	Vermehrtes Hämatoporphyrin.
Homogentisinsäure, Uroleucinsäure (?) } stark.	Homogentisinsäure, Uroleucinsäure (?), (Alkaptonharn) } schwach.
Pentosen.	Pentosen (schwach).

Hexosen (Glykose, Lävulose, Isomaltose, Milchzucker), Erythrodextrin, Glykogen, Glykuronsäureverbindungen.

III. Stoffe, die die Zuckerreaktionen beeinflussen.

Fehling:	Wismutprobe:
Ammoniumcarbonat.	Ammoniumcarbonat.
Eiweiß (Biuretreaktion).	Eiweiß in größerer Menge.

IV. Reduzierende Stoffe, die dem Harne zur Konservierung zugesetzt werden.

Fehling:	Wismutprobe:
Formaldehyd.	—
Chloroform in größerer Menge.	—

V. Medikamente oder deren durch den Stoffwechsel gebildete Produkte.

Fehling:	Wismutprobe:
Acetphenetidin.	Antipyrin.
Antifebrin.	Arbutin.
Arbutin.	Benzoesäure.
Benzoesäure.	Benzosol.
Benzosol.	Chinin (größere Dosen).
Copaiva.	Chloral.
Chloral.	Indican.
Glykuronsäureverbindungen.	Eukalyptus.
Morphium.	Glykuronsäureverbindungen.
Phenacetin.	Jothion, Dijodoxypropan.
Saccharin.	Kairin.
Salicylsäure.	Rheum (auch Faulbaum und Cascara sagrada),
Salol.	Salol. Kubeben.
Sulfonal.	Senna.
Terpentin.	Sulfonal.
Thallin.	Terpentin.
Urethan.	Trional.

Überhaupt auch alle Arzneikörper, die in Form von Glykuronsäureverbindungen ausgeschieden werden. Hiezu kommen noch die Beobachtungen von H. Bechhold[1]), der fand, daß die Wismutprobe bei Anwesenheit von Quecksilber oder Chloroform im Harne bedeutend gehemmt werden kann und der deshalb verlangt, daß jeder auf Zucker zu prüfende Harn nach mindestens zwei Methoden zu untersuchen ist. Zeidlitz[2]), dann M. E. Rehfuß und P. B. Harolt[3]) haben bei richtiger Ausführung der Probe die Angaben von Bechhold aber nicht bestätigen können.

4. Das Verhalten des Harnes bei der Polarisation. S. 296 und 290—296.

5. Die Gärprobe.

Prinzip.

Der im Harne vorhandene Zucker wird durch Hefe vergoren und in Alkohol und Kohlensäure gespalten; in geeigneten Apparaten wird die Kohlensäure gesammelt und aus dem Volumen des Gases die vorhandene Traubenzuckermenge bestimmt. $C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_6O + 2\,CO_2$.

Die Anstellung der Gärungsprobe des diabetischen Harnes scheint auf den Edinburger Arzt F. Home 1780 zurückzugehen, später wurde sie 1835 von C. G. Lehmann ausgeführt und diagnostisch benutzt, 1885 wies aber Max Einhorn von neuem auf die wenig aufgesuchte oder vergessene Probe hin. E. Ebstein a. a. O.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 372.
[2]) Festschrift für O. Hammarsten 1906.
[3]) Journ. of Biolog. Chem. 1909. **7.** 267.

Vorbereitung des Harnes für die Gärprobe.

Es muß möglichst frischer Harn ohne jede Vorbehandlung verwendet werden.

Konservierter Harn (mit Thymol, Formalin, Carbolsäure, Fluornatrium usw. versetzter Harn) ist für diese Probe nicht brauchbar. Salicylsäure enthaltender Harn, Harn nach Gebrauch von Arbutin (Bärentraubenblätter, Extr. Myrtilli) eignet sich ebenfalls nicht für die Gärprobe. Mit Chloroform konservierter Harn muß durch Erwärmen und unter Durchsaugen von Luft vom Chloroform befreit werden.

Der Harn muß klar sein, von saurer, höchstens neutraler Reaktion; alkalischer Harn ist mit Weinsäure anzusäuern und vorsichtig zu erhitzen, um etwa gebildete Kohlensäure (Ammoniumcarbonat) erst zu entfernen. Ammoniakalisch gewordene Harne sind kaum zu verwenden, da man daran zu denken hat, daß bei der ammoniakalischen Gärung der Zucker zerstört werden kann; solche Harne müßte man ebenfalls vorher kochen und ansäuern. Harn, der Blut, Eiter, Eiweiß enthält, eignet sich für die Gärprobe nicht. Bei der Anstellung des Versuches muß man mit peinlichster Reinlichkeit und Sorgfalt verfahren.

Ein Gärungsversuch, bei dessen Abschluß der Harn ammoniakalisch geworden ist, nicht mehr sauer oder neutral reagiert, ist als mißlungen zu verwerfen (Salkowski).[1])

Ausführung.

Am zweckmäßigsten verfährt man unter Verwendung des Lohnsteinschen Apparates in der bei der quantitativen Bestimmung angegebenen Weise (S. 300), da die Instandsetzung dieses Apparates nicht mehr Zeit erfordert, wie die der anderen, nur für qualitative Proben tauglichen Gärungssaccharometer, Gärungsröhrchen.

Im übrigen kann man die qualitative Gärprobe auch in einem der verschiedenen gewöhnlichen Apparate in folgender Weise vornehmen:

Man verreibt ein etwa haselnußgroßes Stück am besten einer stärkefreien Preßhefe (oder 0,5—1 g), die vollkommen zuckerfrei sein muß — man kann auch die lange haltbare Trockenhefe, von deren Brauchbarkeit man sich vorher überzeugt hat, verwenden — in einem kleinen Mörser mit 1—2 ccm Wasser und fügt diesen Hefebrei zu etwa 25 ccm des mit einem Tropfen Weinsäurelösung angesäuerten Harnes; alkalischer Harn wird bis zur sauren Reaktion mit Weinsäure versetzt. Mit diesem hefehaltigen Harne füllt man das nachstehend abgebildete Gärgläschen — das Rohr *a* hat am besten einen inneren Durchmesser von 12 mm — (Fig. 41) (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 zweckmäßig, besonders bei Harn mit geringen Zuckermengen, durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden. Nun stellt man den Apparat an einen ungefähr 30° warmen Ort 12—24 Stunden beiseite. 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 in Kohlensäure zerlegt wird; nach 24stündigem 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 Harne ein zweites Gärungsröhrchen mit durch Weinsäure angesäuertem Wasser und Hefe und ein drittes mit einer ebenfalls angesäuerten, etwa 0,5—1%igen Traubenzuckerlösung und Hefe. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen, wenn im zweiten Gärungsröhrchen sich kein Gas (Kohlensäure), im dritten aber solches in reichlicher Menge ansammelt. Nun findet man aber stets auch im Kontrollröhrchen mit der Hefemischung allein eine kleine Gasblase vor, da fast jede Hefe etwas Kohlensäure in der genannten Zeit entwickelt. Diese Tatsache erschwert bei minimalem Zuckergehalte des Harnes das Urteil, andererseits kann in der Flüssigkeit des Röhrchens auch Kohlensäure absorbiert bleiben. Nach E. Salkowski[2]) kann man auf folgende Weise diese Unsicherheit beheben. Man stellt die gefüllten Gärungsröhrchen von vornherein in ein Becherglas von entsprechenden Dimensionen und füllt das Becherglas mit Wasser von etwa 30° so weit an, daß die Kuppe der Röhrchen noch von Wasser in dünner Schicht bedeckt wird, setzt dann das Becherglas 10—20 Stunden einer erhöhten Temperatur — im Thermostaten bis 38° C — aus und bringt nach dieser Zeit das Becherglas mit den Gärungsröhrchen auf ein stark siedendes Wasserbad, wobei man die Temperatur an einem in das Becherglas gestellten Thermometer beobachtet. Man erhitzt bis 70° und läßt das Becherglas noch etwa $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbade stehen. Man wird mit aller Sicherheit unterscheiden können,

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** 48; Festnummer f. C. A. Ewald.
[2]) l. c.

welches das Kontrollröhrchen ist und welches Röhrchen den mit $^1/_{10}$, sogar mit $^1/_{20}$% Zucker versetzten Harn enthält. Wenn man die Röhrchen bis zum vollständigen Erkalten an der Luft stehen läßt, dann nimmt das Gasvolumen in beiden Röhrchen wieder ab, die Kohlensäure wird mit der Zeit absorbiert.

Diese Kontrollprobe wird man nur bei der Verwendung der Gärungsröhrchen anstellen.

Um den eben besprochenen Mißstand anderweitig zu beheben, hat O. Schumm[1]) ein Gärungsröhrchen verwendet, dessen Konstruktion und Zweck aus der Fig. 42 leicht ersichtlich ist.

Um das Röhrchen zu füllen, gießt man bei offenem Hahne so viel Flüssigkeit in den kurzen Schenkel des Apparates hinein, daß der längere Schenkel bis etwas über die kugelige Erweiterung hinaus gefüllt ist. Man neigt den Apparat dann so, daß etwas von der Flüssigkeit oben durch den Hahn heraustritt, läßt etwa vorhandene Luftbläschen mit entweichen und schließt jetzt den Hahn.

Man erzielt so leicht und schnell die schaumfreie Füllung des längeren Schenkels. Da der unmittelbar unter dem Hahne befindliche Rohrteil so eng ist, daß selbst eine sehr kleine Menge Gas darin eine beträchtliche Längenausdehnung hat, so läßt sich leicht und sicher beurteilen, ob im Röhrchen I mehr Gas gebildet ist, als im Kontrollröhrchen II, d. h. ob der Ausfall der Probe als positiv anzusehen ist oder nicht. Selbstverständlich muß man gleiche Mengen Hefe für die Füllung der beiden Röhrchen verwenden.

Fig. 41.

Fig. 42.

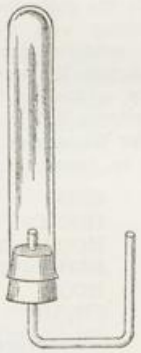


Fig. 43.

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, gibt mehr Wasser hinzu und rührt um. Nach dem Absetzen der Hefe gießt man das Wasser ab und wiederholt diese Behandlung nochmals. Man bringt schließlich den Hefebrei auf ein Filterchen, wäscht mit Wasser aus, läßt letzteres abtropfen und trocknet durch Pressen zwischen Fließpapier die Hefe, die nun zum Gebrauche geeignet ist.

In Ermangelung dieser Apparate kann man sich der von E. Moritz angegebenen Form (Fig. 43) einer Gärungsvorrichtung bedienen, die man sich leicht selbst herstellen kann.

Das etwa 1 cm weite Reagenzglas füllt man mit Harn-Hefengemisch (50 ccm Harn und 1 g zuckerfreie Hefe) vollständig an und verschließt das Reagenzglas mit einem Kautschukstopfen, 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%igen Traubenzuckerlösung mit Hefe zur Kontrolle auf.

Zum Nachweise, 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 vollständig, wenn sie aus Kohlensäure bestanden.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** 1235. Die Gärungsröhrchen sind von der Präzisionsglasbläserei Dittmar u. Vierth in Hamburg 15, Spaldingstraße 148, zu beziehen.

Will man das andere gebildete Gärungsprodukt, den Alkohol, nachweisen, so gibt man die Flüssigkeit im Apparate in ein Kölbchen, destilliert etwa 10 ccm ab und prüft das Destillat mit Jod in Jodkaliumlösung und Natronlauge; es bildet sich Jodoform, wenn Alkohol vorhanden ist. Der Nachweis von Alkohol wäre nicht unwichtig, zumal mit Beziehung auf die Mitteilungen von Neuberg und Hildesheimer. (Siehe bei der quantitativen Bestimmung des Zuckers durch Gärung [S. 300]).

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 Gärprobe ist entschieden die sicherste Probe; durch deren positiven Ausfall wird der nach einer der vorstehenden und folgenden Proben gewonnene positive Befund bestätigt, da sie eine Verwechselung mit irgendeinem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandteil nicht gestattet. Höchstens könnte die selten vorkommende Lävulose in Betracht kommen, die sich aber durch ihre Linksdrehung unterscheidet.

Ein Zuckergehalt von 0,05% kann mit der Gärprobe noch deutlich nachgewiesen werden.

Die früher als einziger Nachteil dieser Probe angeführte längere Dauer des Versuches kann bei Benützung eines auf 30—35° gehaltenen Brutschrankes nun wesentlich abgekürzt werden; mit dem Lohnsteinschen Apparate ist nach 5—6stündigem, wohl besser aber 10stündigem Stehen bei dieser Temperatur der Zuckergehalt abzulesen.

6. Die Phenylhydrazinprobe nach E. Fischer.[1])

Prinzip.

Beim Kochen einer Traubenzuckerlösung mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung entsteht eine aus goldgelben, zu Büscheln und Garben vereinigten gelben Krystallnadeln bestehende Ausscheidung von β-Phenylglukosazon. Diese Verbindung kommt dadurch zustande, daß sich zunächst der Traubenzucker als Aldehyd mit dem Phenylhydrazin unter Abspaltung von 2 Atomen Wasserstoff zu einem Hydrazon kondensiert, wobei die der Hydrazongruppe benachbarte sekundäre Alkoholgruppe CHOH in die CO-Gruppe übergeführt wird, die nun mit einem weiteren Mol. Phenylhydrazin unter Entbindung von 2 At. Wasserstoff *d*-Phenylglukosazon bildet; der Wasserstoff wird aber nicht als solcher frei, sondern spaltet ein drittes Mol. Phenylhydrazin in Ammoniak und Anilin.

$$\begin{array}{lcl} \text{CHO} & & \text{CH}:\text{N}\cdot\text{NHC}_6\text{H}_5 \\ \text{HCOH} & & \text{C}:\text{N}\cdot\text{NHC}_6\text{H}_5 \\ \text{HOCH} & + 3\ \text{H}_2\text{N}\cdot\text{NHC}_6\text{H}_5 = & \text{HOCH} \\ \text{HCOH} & \text{Phenylhydrazin} & \text{HCOH} \\ \text{HCOH} & & \text{HCOH} \\ \text{CH}_2\text{OH} & & \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{Traubenzucker} & & \text{Phenylglykosazon.} \end{array} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_5 + 2\ \text{H}_2\text{O}.$$

Ausführung.

a) Nach E. Fischer und R. v. Jaksch.[2])

50 ccm (oder größere Mengen) eiweißfreien Harnes werden mit 1—2 g reinem, salzsaurem Phenylhydrazin und 2—4 g essigsaurem Natrium $^1/_2$—1 Stunde lang in einem Becherglase in einem kochenden Wasserbade unter häufigerem Umschütteln erwärmt. (Nach E. Fischer kann man 10—20 Tropfen reines Phenylhydrazin und ebensoviel 50%ige Essigsäure nehmen; v. Jaksch nimmt 2 Messerspitzen salzsaures Phenylhydrazin und 3 Messerspitzen Natriumacetat zu 6—8 ccm Harn; erwärmt wird, wie oben angegeben.) Das Becherglas wird in kaltes Wasser gestellt und einige Stunden stehen gelassen; es scheidet sich das Phenylglykosazon krystallinisch oder in amorphen Massen ab. Man untersucht diesen Niederschlag mikroskopisch bei 200—300facher Vergrößerung; es sind die charakteristischen

---

[1]) Berl. Bericht. 1884. **17.** 579. 1887. **20.** 3058 und 1889. **22.** 50.

[2]) Zeitschr. klin. Mediz. 1886. **11.** 20.

Krystalle leicht zu erkennen (Fig. 44, Nadeln, Sterne, auch garbenförmige Krystalle). Konzentrierter Harn ist mit gleichen Teilen Wasser zu verdünnen. Alkalischer Harn muß mit Essigsäure angesäuert werden. Einen amorphen Niederschlag filtriert man ab, löst ihn auf dem Filter mit heißem 96%igem Alkohol, versetzt das Filtrat mit wenig Wasser, entfernt den Alkohol durch vorsichtiges Erhitzen, wobei man das Phenylglykosazon in den charakteristischen intensiv gelben, bei 204 bis 205° schmelzenden, oft büschelförmig vereinigten Nadeln gewinnen kann, die noch bei dem Vorhandensein von 0,05% Zucker im Harne entstehen.

Fig. 44.

Unter dem Mikroskope betrachtet erscheinen die Krystallnadeln gelbgrün.

b) Nach A. Neumann-Cipollina[1]).

Neumann verwendet ein besonderes graduiertes Reagenzrohr[2]) (Fig. 45). 5 ccm Harn werden mit 2 ccm Essigsäuremischung (Eisessig mit 50% Natriumacetat vermischt) und 2 Tropfen reinem Phenylhydrazin versetzt; der Inhalt des Glases wird bei möglichst horizontaler Lage und Haltung des Glases in 1 Minute bis auf 3 ccm eingedampft. Man kühlt unter der Wasserleitung rasch ab, kocht nochmals auf und kühlt wieder ab (Margulies)[3]). Ist die Probe negativ ausgefallen, so verdünne man mit Wasser, das mit Natronlauge versetzt ist, bis auf 5 ccm; es fällt hie und da noch eine Spur mikroskopisch erkennbarer Nadeln aus.

Die betreffenden Mengen (3, 5, 7 ccm) sind am Glase eingezeichnet.

Cipollina verfährt in ähnlicher Weise.

5 Tropfen reines Phenylhydrazin, 1,2 ccm Eisessig oder 1 ccm 50%iger Essigsäure und 4 ccm Harn läßt man in einem gewöhnlichen Reagenzglase über kleiner Flamme unter beständigem Umschütteln kochen. Man fügt 4—5 Tropfen Natronlauge (1,16 spezifisches Gewicht) hinzu und läßt erkalten. Die Schnelligkeit der Krystallbildung hängt von der Dichte des Harnes ab.

Fig. 45.

c) Nach E. Kraft[4]).

Man stellt das Reagenzglas mit 5 ccm Harn, 5 Tropfen reinem Phenylhydrazin und 10 Tropfen Eisessig 1 Stunde lang in das kochende Wasserbad ein. Das Vorkommen von 1—3 Glykosazonkrystallen im Gesichtsfelde bei 400facher Vergrößerung darf nicht als ein pathologischer Befund angesehen werden.

d) Nach E. Salkowski[5]).

Zum Nachweis kleiner Zuckermengen. 5 ccm Harn werden mit 0,5 ccm Eisessig und 20 Tropfen Phenylhydrazin versetzt und genau 1 Minute gekocht. Hierauf fügt man 5 Tropfen 15%iger Natronlauge hinzu, erwärmt nochmals leicht, läßt abkühlen, verdünnt den Inhalt des Glases mit $^3/_4$ Vol. Wasser, erhitzt zum Sieden und läßt über Nacht stehen. Bei $^1/_{10}$—$^1/_{20}$% Zuckergehalt hat sich dann ein schwefelgelbes, stets krystallinisches Sediment gebildet, das mikroskopisch betrachtet aus Nadelbüscheln besteht.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 334.
[2]) Zu haben bei den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, G. m. b. H., Berlin N. 39.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1900. **39.** 881.
[4]) Privatmitteilung und Apoth.-Ztg. 1905. **20.** 383.
[5]) Arb. aus d. patholog. Instit. Berlin. 1906. 587.

Ähnlich verfährt Eschbaum.

Es sind noch eine Reihe anderer Abänderungen angegeben, so von A. Kowarski[1]), C. Schwarz[2]), E. Riegler[3]), R. Rank[4]), A. Schmidt[5]), R. Grünewald[6]), Ch. Porcher[7]), Langworth[8]) u. a., denen wesentliche Vorteile gegenüber der alten Vorschrift nicht zukommen.

Beurteilung.

Milchzucker, Pentose, Lävulose, Maltose geben auch die Osazone. Gepaarte Glykuronsäuren geben diese Probe nicht. Es ist nur die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß diese beim Behandeln mit Säuren gespalten werden und daß die freigewordene Glykuronsäure dann eine mit dem Glykosazon zu verwechselnde Verbindung gibt; in der Tat wird die nach Mentholgenuß entstehende Mentholglykuronsäure leicht in der erwähnten Weise gespalten. Bei Anwesenheit von Glykuronsäuren sollen die Nadeln kürzer und dicker sein. Das Osazon des Traubenzuckers (0,2 g Osazon in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absoluten Alkohols im 100 mm-Rohr polarisiert) dreht 1° 30′ links, das Pentosazon ist optisch inaktiv, schmilzt bei 166—168°, nach Neuberg (S. 263) bei 157—160°, das Maltosazon dreht 1° 30′ rechts (P. Mayer), das Lactose-Phenylosazon ± 0.

Der Schmelzpunkt des Glukosazons (ganz rein) liegt bei 204°, der des Galaktosazons bei 174°, des Isomaltosazons bei 152°, des Maltosazons bei 205°, des Laktosazons bei 197°.

Bemerkt sei, daß das Glukosazon so gut wie unlöslich im Wasser von 60° ist, Pentosazone lösen sich hiebei vollständig.

Über den Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten noch immer geteilt; man soll aus manchem Harne dem Glykosazon ähnliche Krystalle erhalten, während nach anderer Anschauung in zweifelhaften Fällen die Phenylhydrazinprobe einen sicheren Anhaltspunkt gibt und die Empfindlichkeitsgrenzen bei nicht konzentrierten Harnen im Durchschnitte bei 0,03% liegt. Der Niederschlag muß bei Verwendung von etwa 5—10 ccm Harn reichlich sein und mikroskopisch zum weitaus größten Teile aus büschelförmig oder drusig angeordneten gelben Nadeln sich zusammengesetzt erweisen. Ich halte diese Probe für eine gute; sie darf natürlich nicht als allein ausschlaggebend betrachtet werden; ihr Ausfall ist vielmehr durch den Nachweis von Zucker nach einem anderen Verfahren noch zu stützen.

Am besten verfährt man nach der von Fischer und v. Jaksch angegebenen Ausführung. Das reine Phenylhydrazin muß vollkommen rein, hellgelb, fast weiß sein. Ein unnötiger Überschuß von Phenylhydrazin ist zu vermeiden. Bei zu starkem Eindampfen, besonders bei Anwendung des häufig empfohlenen, aber weniger gut geeigneten Eisessigs (statt 30—50%iger Essigsäure zum Lösen des Phenylhydrazins) kann man Krystalle von Acetylphenylhydrazin erhalten, die schon zu mancher Verwechslung Anlaß gegeben haben. Auch denke man daran, daß der Schmelzpunkt der nicht vollkommen reinen Osazone niedriger liegt, als der der ganz reinen (C. Neuberg, E. Salkowski). Die Reinigung wäre demnach stets so oft zu wiederholen, bis sich keine Änderung im Schmelzpunkte mehr zeigt. Hiezu wird das Osazon in möglichst wenig Alkohol gelöst und unter Umrühren mit einem größeren Überschusse von Wasser versetzt; das Osazon scheidet sich in feinen Krystallnadeln aus; nach dreimaligem Umkrystallisieren ist es meist rein.

7. Probe von F. Penzoldt[9]) und E. Fischer.[10])

Man versetzt stark alkalisch gemachten Harn mit der gleichen Menge einer frisch bereiteten, schwach alkalischen (Alkalizusatz) 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 $^1/_4$stündigem Stehen gibt zuckerhaltiger Harn einen rötlichen Schaum, normaler einen gelben oder bräunlichen. Ein Streifen Papier färbt sich im Zuckerharne rosenrot, im normalen gelb.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1900. **37.** 1095.
[2]) Pharm. Ztg. 1888. **33.** 465.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 40; 1903. **29.** 266.
[4]) Zeitschr. österr. Apoth. Ver. 1905. **43.** 1038.
[5]) Apoth.-Ztg. 1907. **22.** 533.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** 730.
[7]) Bull. d. l'Assoc. des Chim. de Sucr. et Dist. 1906. **24.** 155.
[8]) Brit. med. Journ. 1907. Nr. 19. 2427.
[9]) Berl. klin. Wochenschr. 1883. **20.** Nr. 14; Zeitschr. analyt. Chem. 1883. **22.** 466.
[10]) Berl. Bericht. 1883. **16.** 657.

Beurteilung.

Die Probe ist für Zucker zwar zuverlässig, Eiweißstoffe, Acetaldehyd, Aceton usw. verhalten sich nach Petri ähnlich.

Da die Diazobenzolsulfosäure explosibel ist, so bewahrt man sie unter Chloroform in einer dunklen Flasche auf; beim Gebrauche gießt man das Chloroform ab, wägt von der Säure ab und gibt den Rest mit dem Chloroform in die Flasche zurück.

8. Die Moore[1])-Hellersche[2]) Probe.

Der Harn wird mit $^1/_4$—$^1/_3$ Vol. Natron- oder Kalilauge stark alkalisch gemacht und 2—3 Minuten gekocht; bei Zuckergehalt färbt er sich dunkelgelb bis dunkelbraun. Pelouze gibt die gleiche Probe an. (Umwandlung des Zuckers in braungefärbte Huminsubstanzen neben Milchsäure).

Bouchardat verwendet Kalkmilch oder gepulverten frisch gelöschten Kalk.

Beurteilung.

Ist keine scharfe Reaktion; bei einem Gehalte an Zucker unter 0,5% erfolgt zudem keine deutliche Ausscheidung; mucinhaltiger Harn, teilweise auch normaler Harn kann sich ebenfalls dunkel färben.

9. Probe von M. Rubner.[3])

Man versetzt 10 ccm möglichst frischen Harn (konzentrierter 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 vorsichtig Ammoniak. Erwärmt man durch Eintauchen in heißes Wasser (auf etwa 80°, nicht höher, nicht kochen!), so nimmt bei Anwesenheit von Zucker der Niederschlag eine rosenrote oder fleischrote Färbung an.

Beurteilung.

Die Sicherheit der Probe, die ursprünglich von Brücke (1858) stammt, ist nicht groß, da mit 0,2% Zucker kaum Reaktionen erhalten werden. Besser ist die Probe in folgender Ausführung.

10. Probe mit Bleiessig und Ammoniak.

Man versetzt Urin mit einigen Tropfen Ammoniak (Überschuß) und einigen Tropfen Bleiessig. Der entstandene weiße Niederschlag färbt sich bei vorsichtigem Erhitzen (nicht zum Kochen!) fleischfarben bis purpurfarben (Schmidt).

Beurteilung.

Die beiden Proben beruhen auf der Bildung von Bleisaccharat, das sich beim Erwärmen je nach dem Zuckergehalte fleischfarben bis rosenrot färbt.

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

11. Probe mit Nitropropioltabletten.

Diese von der Firma H. A. Teusch in Köln-Ehrenfeld in den Verkehr gebrachten Tabletten bestehen aus Orthonitrophenylpropiolsäure und Natriumcarbonat. Die Anwendung von diesem Reagens (Baeyers Reagens[4]) auf Glykose) zur Prüfung von Harn auf Zucker stammt von Hoppe-Seyler.

Prinzip.

Es werden zwei Moleküle der Orthonitrophenylpropiolsäure bei Gegenwart von Alkali und Traubenzucker (als Reduktionsmittel) unter Bildung von Kohlensäure zu Indigo verwandelt.

Ausführung.

Nach F. v. Gebhardt[5]) nimmt man 10—15 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, verdünnt mit 10 ccm Wasser, setzt die Tablette zu und erwärmt 2—4 Minuten lang vorsichtig (mäßiges Kochen). Beim Vorhandensein von Zucker wird die Flüssigkeit zuerst grünlich, dann dunkelindigoblau gefärbt.

---

[1]) The Lancet. 1844. II.
[2]) Archiv f. Mikroskop. u. mikroskop. Chem. 1844. **1.** 212. 292; **4.** 310.
[3]) Zeitschr. Biolog. 1884. **20.** 397.
[4]) Berl. Bericht. 1880. **13.** 2260 (Baeyer); Zeitschr. physiol. Chem. 1892. **17.** 83 (Hoppe-Seyler).
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1901. **47.** 24.

Beurteilung.

Das Reagens muß immer im Überschusse vorhanden sein, sonst tritt die Bildung des Indigos nicht ein und die Flüssigkeit bleibt, da Indigoweiß entsteht, farblos; deswegen verdünnt man; man kann auch noch mit Chloroform schütteln, das die Indigofarbe aufnimmt.

Die Methode ist unsicher und kann zu Täuschungen Anlaß geben. Dies bestätigen Amrein, Arnold, Behrens, Douglas, Falk, F. Wolter, Zunz.

Nach Weitbrecht soll man 5 g o-Nitrophenylpropiolsäure in einem Porzellanmörser so lange abwechslungsweise mit 1—2 ccm Wasser und 1—2 ccm 10%iger Natronlauge verreiben, bis Lösung eingetreten ist; man braucht im ganzen etwa 8 ccm. Nach dem Filtrieren und Auffüllen erhält man ein hellgelbes Reagens. Auf 5 ccm Reagens soll nicht mehr als 1 ccm Harn genommen werden. Eine geringe Farbenänderung ins Grünliche ist kein positiver Ausfall der Probe. Bottu bringt eine weitere Modifikation dieser Probe; Quirini nimmt eine 0,5%ige Lösung von Orthonitrophenylpropiolsäure in Natronlauge; Ruini verfährt ähnlich.

12. Methylenblauprobe.

a) 1 ccm Harn wird mit 10 ccm Wasser verdünnt und hievon 1 ccm mit 1 ccm Natronlauge und 1 ccm wässeriger, 0,1%iger Methylenblaulösung versetzt; man gibt 2 ccm Wasser zu und kocht. Bei Glykoseanwesenheit erfolgt Entfärbung (Neumann-Wender[1]).

b) Das Filtrat des erst mit Bleiacetat, dann mit Bleiessig behandelten Harnes, 5 ccm, wird zu 5 ccm einer Methylenblaulösung (1 : 300), die mit 1 ccm einer 10%igen Kaliumhydroxydlösung erhitzt wurde, hinzugegeben. Entfärbung bei Zuckeranwesenheit (A. Fröhlich).

Ihl, Herzfeld, Le Goff, Liebers, J. F. Muter und Gertrud Woker haben Abänderungen dieser Probe angegeben oder sich mit dieser beschäftigt.

Beurteilung.

A. Ferranini, Hocke finden die Methylenblaumethode genau. Nach den eingehenden Versuchen von F. Utz[2]) ist Methylenblau kein geeignetes Reagens zum Nachweis von Zucker im Harne. Zersetzter Harn, Glykuronsäuren, Aceton, indikanreiche Urine, Harn nach Einnehmen von Hexamethylentetramin zeigen auch die Reaktion.

13. Safraninprobe s. bei der Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung.

14. Zu nennen sind schließlich noch die von der Chemischen Fabrik in Helfenberg gefertigten Reagenzpapiere zum Zuckernachweis; die Gebrauchsanweisung findet sich dem Etui beigegeben.

An dieser Stelle findet wohl zweckmäßig Erwähnung der von A. Neumann[3]) auf Grund neuer Farbenreaktionen angegebene Nachweis verschiedener Zuckerarten und einiger anderer Stoffe. Neumann fand durch verschiedene Versuche, daß das Orcin nicht nur ein typisches Pentosenreagens, sondern ebenso brauchbar für den Hexosennachweis ist. Ferner hat sich ergeben, daß die Arabinose, die Xylose und die Glykuronsäure, sowie die Glykose und Fruktose durch schöne Farben, die typische Absorptionsstreifen haben, scharf voneinander zu unterscheiden sind. Zur Ausführung der Reaktionen werden 10 Tropfen (= $^1/_2$ ccm) der zu prüfenden wässerigen Zuckerlösung in einem weiten Reagenzglase mit 5 ccm käuflichem (90%igem) Eisessig und einigen Tropfen einer starken etwa 5%igen alkoholischen Orcinlösung versetzt und nach dem Umschütteln bis zum völligen Sieden erhitzt. Man hält das Reagenzglas mit einem Halter und läßt nun aus einer mit weitem Tropfrohr versehenen Tropfflasche konzentrierte Schwefelsäure hinzufließen, indem man anfangs zweimal nach je 5, dann nach je 10 Tropfen kräftig schüttelt. Dieses tropfenweise Zugeben der Schwefelsäure unter Umschütteln ist notwendig, weil sonst die Flüssigkeit mit Sicherheit aus dem Reagenzglase geschleudert wird. Man fügt so lange Schwefelsäure hinzu, bis nach dem Schütteln ein recht deutlicher Farbenton bestehen bleibt. Dieser Endpunkt richtet sich nach der Konzentration der zu prüfenden Zuckerlösung, ist aber auch bei sehr schwachen Lösungen durch 40—50 Tropfen zu erreichen; mehr als 50 Tropfen zuzusetzen hat keinen Zweck, weil dann eine etwa auftretende gelbe Färbung durch Zersetzung des Orcins herbeigeführt wird. Umgekehrt ist aber auch nach Eintritt deutlicher Färbung der weitere Zusatz von Schwefelsäure zu vermeiden, weil sonst einerseits Mischfarben entstehen (z. B. bei der Xylose) oder die Farbstofflösung wegen zu starker Färbung nicht direkt mit dem Spektroskope untersucht werden kann. Man betrachtet die Lösung zur Feststellung des Farbentons und zur spektroskopischen Untersuchung erst nach einigen Minuten, wenn sie abgekühlt ist. Ist sie zu stark gefärbt, so kann man in allen Fällen mit Eisessig verdünnen, ohne daß sich die Farbe ändert. Zusatz von viel Alkohol oder Wasser kann erhebliche Änderungen hervorrufen. Die stark mit Wasser versetzten Lösungen lassen sich zum Konzentrieren des Farbstoffes noch mit Amylalkohol ausschütteln.

---

[1]) Pharm. Post, Wien 1890. **26.** 393.
[2]) Südd. Apoth.-Ztg. 1919. **59.** 280.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1904. **41.** 1073.

Eigenschaften der Farbstofflösungen:

Zuckerart	Farbe	Absorptionsstreifen	durch Alkohol oder Wasser zersetzlich?
a) Arabinose . . .	violettrot	rechts von D; bedeckt Gelb und Gelbgrün;	nein
b) Xylose	warm: violettblau kalt: blau	1., rechts von C im Orange; 2., wie bei a, jedoch schwächer. Beim Stehen nimmt 1 an Intensität zu, 2 ab;	nein
c) Glykuronsäure .	warm: grün kalt: grünblau	links von C im Rot, das ganze Spektrum ist beschattet;	durch Alkohol oder Wasser rötlich
d) Glykose	braunrot	rechts von B im Grün, so daß vor dem Streifen noch Grün, hinter ihm Blau und Violett zu sehen sind;	nein
e) Fruktose	warm: braun kalt: gelbbraun	1., links von C im Rot wie bei c; 2., Verdunkelung beginnend wie bei d bis zum Schluß des Spektrums.	durch Alkohol oder Wasser gelbgrün

Bei diabetischem Harne beobachtet man bei Anwendung dieser Probe selbst bei geringem Zuckergehalte intensive braunrote Färbung, während in normalem Zustande der Harn eine bräunlichgrüne Färbung zeigt, die wahrscheinlich als Mischfarbe von den Spuren Glykuronsäure und Glykose des normalen Harnes herrührt.

Beurteilung.

Guido Mann[1]) hat die Angaben Neumanns einer Nachprüfung unterzogen, die sehr günstig für die Brauchbarkeit der Methode ausfiel.

Eine Anzahl weiterer angegebener Verfahren zum Nachweis von Zucker im Harne möchte ich kurz aus dem Grunde erwähnen, da der Sachverständige öfters nach dieser oder jener Methode gefragt werden kann. Alle empfohlenen Methoden anzuführen, wäre unmöglich.

C. Agostini erhitzt 5 Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit mit der gleichen Menge Goldchloridlösung (1 : 1000) und 2 Tropfen Kalilauge (1 : 20) zum Sieden. Bei Anwesenheit von Zucker tritt Violettfärbung nach dem Erkalten auf.

Allen, Barreswil, Buchner, Criswell, Degener, Drechsel, Fock, Frommherz, Gräger, Loewe, Klitzinsky, Luft, Maridet, Lagrange, Otto, Piffard, Pollitis, Rossel, Sonnerat, Wagner, Violette bringen Fehlingsche Lösung in verschiedener Form zur Anwendung.

Bilinski empfiehlt Fehlingsche Lösung mit Urannitratlösung.

Biltz erhitzt eine mit etwas Fehlingscher Lösung bläulich gefärbte gesättigte Kochsalzlösung und schichtet darauf den Harn; an der Berührungsstelle tritt die Reaktion ein.

Alkalische Pikrinsäurelösung (1 : 250) läßt Braun mit dem Harne erhitzen; bei Anwesenheit von Zucker entsteht eine rote Färbung.

Fehlingsche Lösung mit Ammoniak empfehlen Gaud, Guignet, Hehner, Moritz, Peska, solche mit Mannit Purdy, solche mit etwas Chlorammonium Monnier, Pellet, mit Cyankaliumlösung Gerrard.

Horsley bringt außer Fehlingscher Lösung eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Kaliumchromat zur Anwendung, die beim Kochen grün wird, wenn Glykose vorhanden ist.

Dudley, Krüger, Loewe, Rusting bringen Modifikationen der Nylanderschen Probe.

Duyk wendet eine 20%ige Nickelsulfatlösung an, von der 25 ccm mit 20 ccm Natronlauge (1,33 spez. Gew.) und 50 ccm 6%iger Weinsäurelösung gemischt werden; beim Kochen mit zuckerhaltigem Harne tritt Braun- oder Schwarzfärbung ein.

Ammonmolybdatlösung, wolframsaure Natriumlösung sind von Hager-Gawalowski, Huizinger, Maschke empfohlen worden. Heinrich bringt eine der Sachsseschen Lösung ähnliche Lösung zur Anwendung, eine ganze Reihe verschiedener Reagenzien, so Natriumjodat, o-Nitrophenol, Natriumvanadat usw. Jaworowski.

Mulder wendet eine mit Soda alkalisch gemachte Indigocarminlösung an, die beim Erhitzen mit Glykose sich gelb färbt.

C. Strzyzowski verwendet 5%iges Formaldehyd; Diabetesharn erhält damit eine grüne fluoreszierende Färbung.

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** 231.

Wahl der Methoden.

Man stellt zuerst die Trommersche Probe am besten mit Fehlingscher Lösung, dann die Wismutprobe, in der genau beschriebenen Weise unter Beobachtung der aufgeführten Vorsichtsmaßregeln usw. an; erhält man starke Reaktionen, die die Anwesenheit von Zucker unzweifelhaft ergeben, dann genügen diese Proben; in nicht ganz klaren Fällen wird man die Gärprobe zu Rate ziehen. Die Resultate der letzteren, unter genauer Berücksichtigung des bei der Ausführung Gesagten, helfen über alle Zweifel hinweg; das Vorhandensein oder das Fehlen von Zucker im Harne wird dadurch mit fast absoluter Sicherheit erwiesen. Zeigt z. B. ein Harn Reduktionserscheinungen und hat er diese nach der Vergärung (durch Prüfung des Gärrückstandes) verloren, dann war sicher Zucker vorhanden, was auch durch den Gärversuch bewiesen wird; bleiben die Reduktionserscheinungen des Harnes auch nach der Vergärung, so sind reduzierende Substanzen, die durch die Gärung nicht zerstört wurden, die aber auch nicht vom Zucker herrühren können, vorhanden.

Man verwechsle ja nicht reduzierenden Pentosenharn mit Zucker enthaltendem Harne!

Über die Unterscheidung der verschiedenen im Harne vorkommenden Zuckerarten und der durch verschiedene chemische und physikalische Reaktionen und Eigenschaften das Vorhandensein von Zucker vortäuschenden Stoffe siehe die von mir zusammengestellte Übersicht.

Selbstverständlich gibt der polarimetrische Nachweis, wenn ein guter Apparat zur Verfügung steht, besonders auch im Zusammenhange mit der Gärprobe sehr brauchbare Resultate.

Beim Vorhandensein von Zucker vergesse man nicht, den Harn auf Aceton, Acetessigsäure (β-Oxybuttersäure, Ammoniak, Oxalsäure, Indikan) zu prüfen.

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 strenge beobachteten Diät die Zuckermengen, die ausgeschieden werden, sich konstant bleiben oder ob bei einem 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 Ermittelung des Zuckers gestattet.

Eine sehr rasche, einfache und auch genaue Werte ergebende Bestimmung wird auf polarimetrischem Wege erreicht, — die Verwendung eines guten Apparates vorausgesetzt, — wenn auch, wie wir bereits wissen, Stoffe im Harne vorhanden sein können, die einen geringen Einfluß auf das Ergebnis auszuüben vermögen; hierüber findet sich bei der Beurteilung dieser Methode (S. 299) das Weitere mitgeteilt.

Sehr sicher und einfach ist die Bestimmung des Zuckers durch die Gärung, seitdem wir mit dem von Lohnstein konstruierten Apparate den Zuckergehalt im Harne ermitteln können.

Auch andere Apparate geben brauchbare Ergebnisse.

1. Bestimmung des Zuckers durch Polarisation.

Zur Vornahme der Prüfung durch Polarisation bedient man sich jetzt fast ausschließlich der Halbschattenapparate nach Lippich, des sogen. Halbschatten-Mitscherlich und des Apparates mit Keilkompensation von Schmidt & Haensch, seltener noch des Wildschen Polaristrobometers, des Spektropolarimeters von E. v. Fleischl und des Polarisationssaccharometers nach Ultzmann.

Im nachstehenden soll zuerst über die Zusammensetzung und über den Gebrauch der bei der polarimetrischen Prüfung in Betracht kommenden

Apparate etwas eingehender berichtet werden; die Mitteilungen hierüber verdanke ich zum Teil dem freundlichen Entgegenkommen der Firma Franz Schmidt & Haensch in Berlin.

Optische Einrichtung der Halbschattenapparate.

Die optische Einrichtung eines der gebräuchlichsten Halbschatten-Polarisationsapparate ist in Fig. 46 dargestellt. Der Apparat ist mit einem zweiteiligen Polarisator nach F. Lippich versehen; dieser Polarisator besteht aus den Nicols N_1 und N_2, sowie der Blende D. Der Apparat wird

Fig. 46

durch die Blende A' und die Linse K hindurch von einer Lampe beleuchtet, die in einer der Länge des Apparates entsprechenden Entfernung aufgestellt werden muß. Die Blende A, das Nicol N_3, sowie das kleine astronomische Fernrohr $O\,R$ bilden die Analysator- oder Meßvorrichtung; letztere ist um die Längsachse des Apparates dreh- und meßbar.

Die Beleuchtungslinse K entwirft von der Flamme ein Bild in der Ebene der Analysatorblende A. Das Fernrohr $O\,R$ ist scharf auf die Polarisationsblende D, die das Gesichtsfeld begrenzt, eingestellt. Durch die Nicols N_1 und N_2 wird das Gesichtsfeld in zwei Hälften, 1 und 2, die photometrischen Vergleichsfelder, geteilt, die in Figuren 47, 48 und 49 gezeichnet sind.

Die Schwingungsrichtungen $o\,l$ des Feldes 1 und $o\,r$ des Feldes 2 bilden einen kleinen Winkel ε, den sog. Halbschatten, miteinander. Bei der Einstellung wird das Analysatornicol N_3 mit dem Fernrohr zunächst so gedreht, daß ein Vergleichsfeld, z. B. das nur durch N_1 hindurch beleuchtete Feld 1, ganz dunkel erscheint, ausgelöscht ist (s. Fig. 47); dann ist die Schwingungsrichtung $o\,a$ des von N_3 hindurchgelassenen Lichtes senkrecht zu $o\,l$. Dann dreht man N_3, bis das andere Feld vollkommen ausgelöscht

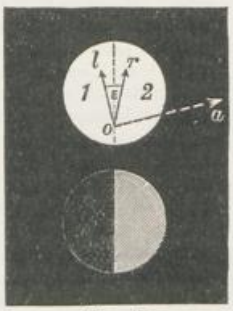


Fig. 47

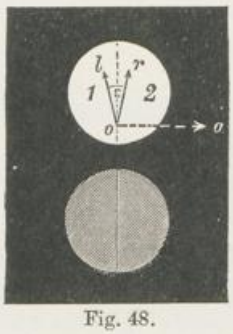


Fig. 48.

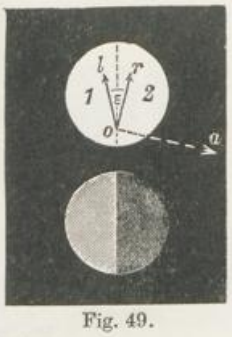


Fig. 49.

ist, wie Fig. 49 zeigt. Dreht man nun N_3 etwas zurück, so findet man eine Stellung, bei der beide Hälften des Gesichtsfeldes in geringer, gleicher Helligkeit erscheinen (s. Fig. 48). Auf diese gleich schwache Beleuchtung benachbarter Vergleichsfelder wird bei allen Halbschattenapparaten eingestellt.

Bei dem bisher beschriebenen Polarisator ist das Gesichtsfeld nach F. Lippich durch zwei Nicols N_1 und N_2 in zwei Hälften geteilt. Die Empfindlichkeit der Einstellung wird noch vergrößert, wenn man durch zwei kleine ähnlich wie N_2 (s. Fig. 46) vor N_1 gesetzte Nicols das Gesichtsfeld in drei Teile teilt; auch dieser Polarisator ist von Lippich angegeben worden.

a) Der Lippichsche Apparat (Fig. 50).

Ein stabiles Dreifußstativ trägt den Balken, auf dem die Einlegerinne fest montiert ist. An dem einen Ende derselben befindet sich der Lippichsche Polarisator P, der aus einem Lippichschen Halbprisma und einem dahinter liegenden größeren, durch den Hebel h drehbaren Glanschen Prisma besteht. Bei S sitzt die Beleuchtungslinse sowie eine kurze Glasröhre, die durch Abschrauben der Fassung c aus dem Apparate herausgenommen werden kann; sie ist mit einer Kaliumbichromatlösung zu füllen, die zur Reinigung der Natriumflamme dient. Die Lösung wird so gewählt, daß beim Beobachten durch den Apparat das Gesichtsfeld noch genügend hell erscheint. Die Einschaltung dieser Lösung wird erforderlich bei Drehungen von mehr als etwa 5°.

Am anderen Ende der Einlegerinne befindet sich die drehbare Analysatorvorrichtung, im wesentlichen aus dem Teilkreise K mit dem Nicol A und dem Fernrohr F bestehend, die durch den Triebknopf T drehbar sind. Die Ablesung geschieht durch zwei feststehende Nonien n mit Hilfe der Lupen $l\,l$. Der Kreis ist in $^1/_4{}^0$ geteilt; die Messung unter Anwendung der Nonien ergibt eine Genauigkeit von 0,01°.

Wird der Hebel h gedreht — es geschieht dies, um bei sehr dunkelen Lösungen ein helleres Gesichtsfeld zu erzielen, freilich auf Kosten der Empfindlichkeit des Apparates, die Drehung sollte deshalb möglichst vermieden werden —, so ändert sich der Halbschatten und somit auch der Nullpunkt des Apparates. Die entstehende Differenz wird praktischerweise in Rechnung genommen. Soll der Nullpunkt aber reguliert werden, so wird zunächst der Kreis genau auf 0 eingestellt; dann dreht man mit den unterhalb A befindlichen Schrauben das Analysatornicol nach rechts oder links, bis der gleiche Halbschatten wieder hergestellt ist.

Die Lampe muß etwa 30 cm vom Apparate abstehen. Der mit Chlornatrium gefüllte Platinring muß zur Erzeugung von intensiv gelbem Licht in die Mitte der Bunsenflamme eingeführt werden. Der Brenner ist in der Höhe verstellbar, seine Höhe ist derart zu regulieren, daß das hellste Licht aus dem Schlitze des Schornsteins in den Apparat gelangt. Ist Gas nicht zur Verfügung, so muß eine Spiritus-Natriumlampe verwendet werden.

Beim Zusammenfallen der Nullpunkte von Nonius und Skala, was mit der Schraube (Triebknopf) T erreicht wird, erscheinen beide Hälften des Gesichtsfeldes gleich hell; man muß deutlich den vertikalen Strich sehen; nötigenfalls 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. Erscheint der Strich undeutlich, verschwommen, so stellt man durch Vor- oder Rückwärtsschieben des Fernrohres F die nötige Helligkeit oder Deutlichkeit her. Ist der Apparat eingestellt (gewöhnlich steht er auf 0° ein) — in die Rinne legt man bei der Einstellung eine mit Wasser gefüllte Röhre —, so gibt 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 bei den meisten Apparaten, wenn das rechte Gesichtsfeld im Apparate dunkel

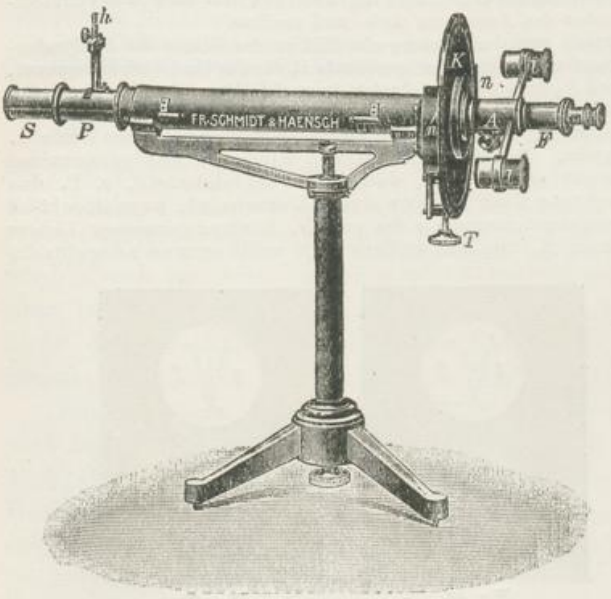


Fig. 50.

erscheint, der Körper linksdrehend, wenn das linke Gesichtsfeld verdunkelt ist, rechtsdrehend. Man muß dann also mit der Schraube T 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 Harne dreht man nach Einlegen des mit dem vorbereiteten Harne beschickten Rohres mit der Schraube T so lange das analysierende Nicol 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 Ablesung von 0,01° gestattet; der Nonius ist mit 25 Teilstrichen versehen, die 24 Teilstrichen der Skala des Kreises entsprechen. Da jeder Teilstrich des Kreises 0,25° beträgt und 24 solcher Teilstriche auf dem Nonius in 25 Teile geteilt sind, kann man den 25. Teil eines Kreisintervalles, d. h. von 0,25° ablesen, mithin 0,01°. Man zählt vom Nullpunkte der Kreisskala bis zum Nullpunkte des Nonius die ganzen und viertel 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 0,01° ausmacht, zu den an der Skala abgelesenen ganzen und viertel Graden.

Ein Beispiel mag dies anschaulicher machen.

Fig. 51 zeigt den innen liegenden drehbaren Kreis und den einen äußeren Nonius des Polarisationsapparates. Der Nullstrich des Nonius liegt zwischen den Teilstrichen 13,50 und 13,75 des Teilkreises; der Noniusstrich 0,16 fällt mit einem Striche des Kreises zusammen, also ist abzulesen

$$13{,}50 + 0{,}16 = 13{,}66^{\circ}.$$

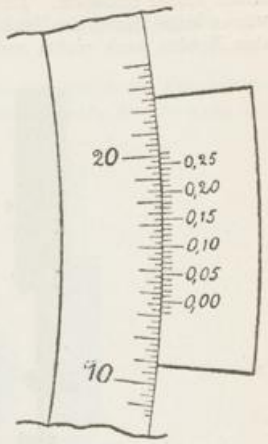


Fig. 51.

b) Apparat nach Mitscherlich (Halbschatten-Mitscherlich).

Die optische Einrichtung dieses Apparates, der gewöhnlich „Halbschatten-Mitscherlich" genannt wird, geht ebenfalls aus Fig. 46 hervor, während die Konstruktion in Fig. 53 dargestellt ist. Der Polarisator (*P* in Fig 53) besteht aus dem Nicol N_1 und der Blende *D* (Fig. 46), vor der einen Hälfte des Gesichtsfeldes ist anstatt des kleineren Nicols N_2 eine dünne Laurentsche Quarzplatte angebracht. Der Apparat wird durch die mit dem Apparat verbundene Blende *A'* und die Linse *K* hindurch von einer Lampe beleuchtet, die nahe an *A'* aufgestellt wird; als Lampe wird wie beim Apparat nach Lippich gewöhnlich eine in Fig. 53 abgebildete Gasnatriumlampe mit Platinring zur Aufnahme von Kochsalz verwendet. Die mit dem zu untersuchenden Harne gefüllte Röhre[1]), zweckmäßig eine Patentbeobachtungsröhre nach Fig. 52, wird bei der Untersuchung in das Rohr *R* gelegt. Der Teil *A F* des Apparates, der Analysator, ist um die Längsachse des Apparates drehbar und trägt bei *A* das Analysatornicol (N_3 in Fig. 46); *F* ist ein kleines Fernrohr, mit dem der Beobachter den Polarisator *P* anvisiert. Man dreht den Analysator, indem man den Hebel *c* anfaßt und liest die Drehung an dem Teilkreise *T* mit Hilfe der beiden mit *A F* verbundenen Nonien ab. Der Apparat ist so justiert, daß das Gesichtsfeld die in Fig. 48 gezeichnete,

Fig. 52. Patent-Beobachtungsröhre.

gleich schwache Beleuchtung der beiden Vergleichsfelder zeigt, wenn der Nullstrich des Nonius auf *O* steht. Bei geringem Drehen des Analysators aus dieser Stellung heraus zeigt sich die in Fig. 47 oder die in Fig. 49 dargestellte Erscheinung. Man legt zuerst die sorgfältig gereinigte Beobachtungsröhre leer in den Apparat und überzeugt sich, daß bei der Gleichheitsstellung der Nullstrich des Nonius auf *O* steht (eine kleine Abweichung ist gegebenenfalls an dem

[1]) Bekanntlich geschieht das Füllen einer gewöhnlichen Beobachtungsröhre, nachdem der eine Deckel mit Deckglas angeschraubt ist, durch vorsichtiges Eingießen, bis eine kleine Kuppe vorhanden ist, die dann mit dem Deckglas seitwärts derart abgestrichen werden muß, daß sich weder eine Blase in der Röhre bildet, wodurch eine freie Durchsicht verhindert und somit eine Polarisation unmöglich gemacht würde, noch auch, daß die obere Seite des Deckglases von der abgestrichenen Flüssigkeit befeuchtet wird. Abgesehen davon, daß diese Manipulation dem Beobachter öfters nicht gelingt und dann Zeitverlust entsteht, ist die Zugabe der fast jedesmal stattfindenden Benetzung der Hand durch die abgestrichene Flüssigkeit gewiß nicht angenehm. Deshalb hat die Firma Franz Schmidt & Haensch schon seit Jahren eine durch Patent (D. R. P. 104846) geschützte Beobachtungsröhre „Patent-Beobachtungsröhre" konstruiert, bei der die eine Seite, wie aus der Fig. 52 ersichtlich, eine Erweiterung besitzt, die speziell zur Aufnahme einer Luftblase dient, ohne daß die letztere bei der Beobachtung stört. Bei Anwendung dieser Röhre sind demnach die vorstehend angegebenen Unbequemlichkeiten vollkommen vermieden. Die Füllung der Patentröhre erfolgt von der der Erweiterung entgegengesetzten Seite aus (also am engen Ende) derart, daß die Flüssigkeit den äußersten Rand noch nicht ganz erreicht; nun legt man das kleine Deckglas auf und verschraubt die Röhre ohne Gewalt. Die dann mit eingeschlossene Luftmenge tritt durch Umkippen der Röhre in Form einer Blase *a* in den erweiterten Raum ein, ohne die freie Durchsicht jetzt zu hindern.

späteren Resultat als Korrektion zu addieren oder zu subtrahieren). Dann füllt man die Röhre, legt diese ein und stellt zunächst das Fernrohr etwas nach, bis die Trennungslinie der Vergleichsfelder scharf erscheint. Darauf stellt man nochmals auf Gleichheit ein; ist in der Flüssigkeit, wie es beim Harne der Zuckerkranken der Fall ist, Traubenzucker enthalten, so findet man jetzt den Nonius nach rechts gedreht; die Drehung wird, wie unten angegeben, genau abgelesen.

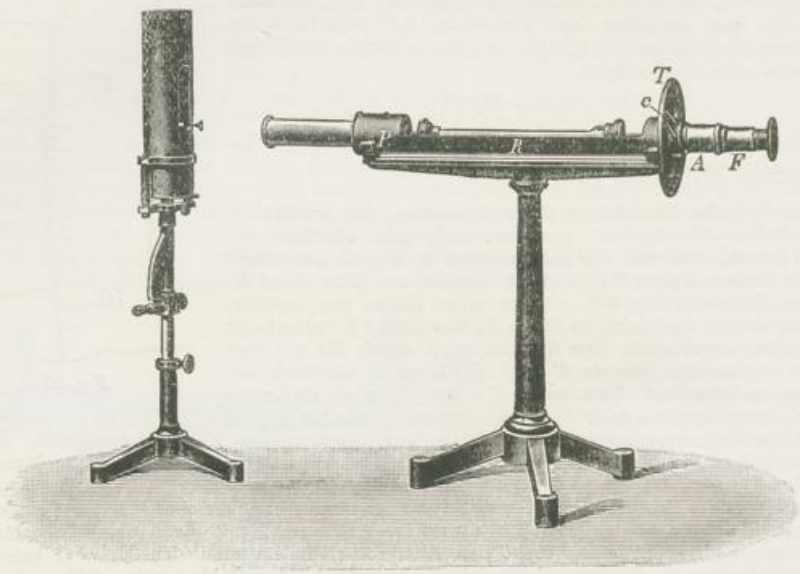


Fig. 53. Polarisationsapparat nach Mitscherlich.

Ist c die Konzentration des untersuchten Harnes an Traubenzucker, d. h. die Anzahl Gramme Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit, ist l die Länge der benutzten Röhre in dm, α der gemessene Drehungswinkel, so ist

$$\alpha = \frac{52{,}8 . l . c}{100} .$$

Um jede Rechnung zu vermeiden, kann man ausschließlich Röhren von der Länge $l_1 = \frac{100}{52{,}8}$ dm = 189,4 mm oder l_2 = 94,7 mm verwenden und findet demnach einfach

$$c_1 = \alpha \quad \text{oder} \quad c_2 = 2 . \alpha .$$

Es ist also der Gehalt an Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit bei Verwendung der Röhre von 189,4 mm (oder 94,7 mm) direkt gleich dem abgelesenen Drehungswinkel (oder doppelt so groß). In nicht ganz korrekter Weise nennt man in der Praxis c einfach „Prozente Traubenzucker".

Beispiel 1. Polarisationsapparat mit Natriumlicht beleuchtet; Länge der Beobachtungsröhre 189,4 mm; bei leerer Röhre steht der Index genau auf 0, wenn auf gleiche Helligkeit der beiden Vergleichsfelder eingestellt ist.

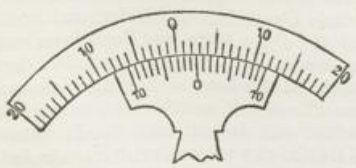


Fig. 54. Teilung beim Polarisationsapparat nach Mitscherlich.

Der zu untersuchende Harn ist vollkommen klar und ungefärbt. Bei gefüllter und eingelegter Röhre wird auf gleiche Helligkeit eingestellt und + 3,1° abgelesen. (Die Drehungen im Sinne des Uhrzeigers werden mit +, die umgekehrten mit — bezeichnet.) Dann ist der

Traubenzuckergehalt 3,1 [g in 100 ccm].

In Fig. 54 ist der außen liegende Kreis und der innen liegende Nonius des „Halbschatten-Mitscherlich" gezeichnet. Der Nullstrich des drehbaren Nonius steht rechts vom Nullpunkt des feststehenden Kreises zwischen dem zweiten und dritten Teilstrich; von den Strichen des rechtsstehenden Nonius fällt der achte mit einem Teilstrich des Kreises zusammen, also ist die Ablesung

$$+ (2^0 + 0{,}8^0) = + 2{,}8^0 .$$

Bei linksdrehenden Lösungen steht der Nullstrich des Nonius links vom Nullpunkte des feststehenden Kreises; die Ablesung geschieht unter Benutzung des linken Nonius in derselben Weise wie vorstehend angegeben.

c) Halbschattenapparat mit Keilkompensation (Schmidt und Haensch).

Gegenwärtig verwendet man zweckmäßig und mit sehr gutem Erfolge einen Apparat mit Keilkompensation, der mit jeder weißen Lichtquelle beleuchtet werden kann, die 2—3 cm vom Apparate entfernt aufgestellt wird.

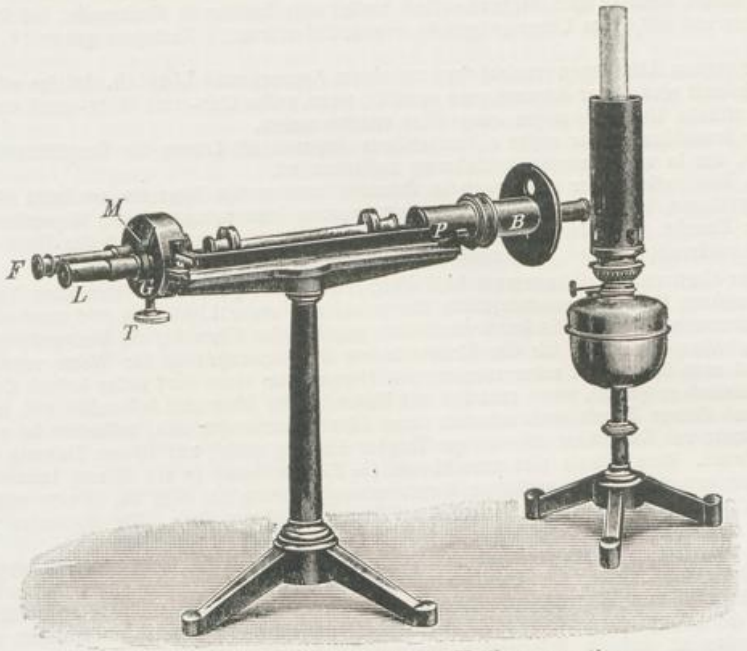


Fig. 55. Polarisationsapparat mit Keilkompensation.

Mit diesem Apparate (Fig. 55) kann der Traubenzuckergehalt bei Benützung einer 200 mm langen Röhre direkt abgelesen werden.

Durch das scharf einzustellende Fernrohr bei F blickt man den Polarisator P an; bei B befindet sich die Beleuchtungslinse. Dreht man mit der Schraube T, so wird der im Gehäuse G befindliche Quarzkeil bewegt, der mit einer Zahnstange und Skala verbunden ist; die Größe der Verschiebung, die die zu polarisierende Lösung nötig macht, um gleiche Helligkeit der beiden Hälften des Gesichtsfeldes herbeizuführen, wird mit der Lupe bei L an der durch den Spiegel M beleuchteten Skala abgelesen; der Spiegel M empfängt sein Licht durch die Lampe und die Beleuchtungslinse.

Man stellt zunächst mit dem scharf eingestellten Fernrohr den Apparat durch Drehen bei T auf gleiche Helligkeitsschicht ein; der Apparat ist so justiert, daß der Nullstrich der Skala mit dem Nullstrich des Nonius genau zusammenfällt. Sollte dies nicht der Fall sein, dann verschiebt man den Nonius mit dem dem Apparate beigegebenen Vierkantschlüssel, bis die richtige Einstellung erfolgt ist. Nun wird die Röhre mit der zu polarisierenden Lösung eingelegt und auf gleiche Helligkeit des Gesichtsfeldes eingestellt; hier werden nur Röhren von 200, 100, 50 mm Länge verwendet.

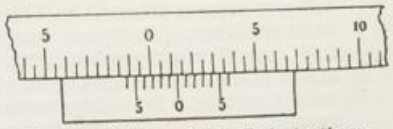


Fig. 56. Teilung beim Polarisationsapparat mit Keilkompensation.

Die Ablesung der Ablenkung erfolgt in etwas anderer Weise, wie bei den Kreisapparaten. Die Skala ist nur in halbe Grade geteilt; der Nonius zeigt fünf Teilstriche, die gleich vier Teilstrichen (halben Graden) der Skala sind, so daß also ein solcher Noniusteilstrich = $^1/_{10}{}^0$ entspricht. In der Abbildung Fig. 56 sind zwei Teilstriche = zwei halbe Grade der Skala am Nullpunkte des Nonius vorbeigegangen; zur Ermittelung der $^1/_{10}$ zählt man nun vom Nullstriche des

Nonius nach rechts gehend die Striche so lange, bis der Noniusteilstrich mit einem der Skala zusammenfällt, was hier mit dem dritten Noniusteilstriche der Fall ist; es sind somit zu den zwei halben = einem ganzen Grade noch 0,3° hinzuzuzählen, so daß die Ablenkung 1,3° beträgt, entsprechend 1,3% Zucker.

Bei Linksdrehung, z. B. bei Anwesenheit von Eiweiß im Harne, tritt der linke Nonius in Wirksamkeit.

Wahl des Apparates.

Die Preise der Apparate können bei den derzeitigen Verhältnissen nicht angegeben werden; man befragt deshalb vorher die die Apparate anfertigende optische Werkstätte. Der für die Praxis zu empfehlende Apparat nach Mitscherlich besitzt eine Teilung in Kreisgrade; bei Anwendung einer Röhre von 189,4 mm Länge entspricht, wie S. 294 erörtert, 1 Kreisgrad genau 1% Traubenzucker.

Sehr genaue Ablesungen erreicht man mit einem Apparat nach Lippich. Infolge seiner hohen Empfindlichkeit wird dieser Apparat gern gewählt, wenn außer Urin- und Wein- auch noch andere wissenschaftliche Untersuchungen ausgeführt werden sollen.

Sehr brauchbar ist der unter c beschriebene Apparat mit Lampe für Gasglühlicht oder für Petroleum, der in verschiedener Ausführung zu haben ist.

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

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; besonders trübe Harne nehmen mehr Licht weg und machen die Bestimmung unsicher. Es kann empfohlen werden, den Harn für die Verwendung zur Polarisation und auch für die titrimetrischen Bestimmungen in der Weise vorzubereiten, daß man 50 ccm des sauer reagierenden Harnes (der Harn darf unter keinen Umständen alkalisch reagieren, wenn man ihn mit Bleiessig oder Bleiacetat behandeln will, auch muß nach diesem Zusatz noch schwach saure Lösung vorhanden sein, außerdem ist vorheriger Zusatz von Essigsäure oder einiger Tropfen Eisessig nötig) mit 10 ccm Bleiessig fällt und filtriert. Vom Filtrate gibt man 30 ccm (= 25 ccm Harn) in ein 50 ccm fassendes Meßkölbchen, fügt 5 ccm gesättigte Natriumphosphatlösung zu, füllt bis 50 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und polarisiert das Filtrat im 200 mm-Rohr. Die abgelesene Drehung ist zu verdoppeln.

Statt des Bleiessigs kann man auch (wobei weniger Vorsicht nötig ist wegen Ausfällung an Zucker, wie bei Anwendung von Bleiessig) 10 ccm einer Bleiacetatlösung (25 g : 100 ccm Wasser) anwenden; die Ausfällung des im Überschusse zugesetzten Bleis in der angegebenen Weise möchte ich aber empfehlen, wenn auch andererseits gefunden worden ist, daß die Polarisation der noch Bleiacetat enthaltenden Lösung Fehler nicht bedingen soll. Lävulose im Harne wird nach den Versuchen von O. Adler durch Bleiessig in beträchtlicher Menge gefällt.

C. Patéin und E. Dufau[1]) haben gefunden, daß das Ausfällen mit Bleiessig und Bleiacetat nicht in allen Fällen genügt und haben folgendes Verfahren empfohlen, das nach Tanrets Mitteilung zuerst von ihm vorgeschlagen wurde. 50 ccm Harn werden mit so viel der Quecksilbernitratlösung (200 g saures Quecksilbernitrat werden mit 500 bis 600 ccm Wasser gelöst; es wird so viel Natronlauge zugemischt, bis eben ein schwacher Niederschlag entsteht und dann zu 1 Liter aufgefüllt oder 220 g gelbes Quecksilberoxyd werden in 300 bis 400 g Wasser und der gerade genügenden Menge Salpetersäure gelöst, einige Tropfen Natronlauge bis zum Erscheinen eines gelbbraunen Niederschlags hinzugefügt, darauf wird bis zu 1 Liter aufgefüllt und filtriert) versetzt, bis durch diese kein Niederschlag mehr hervorgerufen wird; dann fügt man aus einer Bürette tropfenweise verdünnte Natronlauge bis zur neutralen oder höchstens ganz schwach alkalischen Reaktion hinzu, füllt zu 100 ccm auf und filtriert. Im Filtrate darf auf Zusatz von Natronlauge kein Niederschlag mehr entstehen. (Die Spuren Quecksilber können durch Zusatz sehr geringer Mengen von 0,8%iger Natriumhypophosphitlösung abgeschieden werden.) 50 ccm der gewonnenen klaren Flüssigkeit werden polarisiert, 50 ccm können zur titrimetrischen Bestimmung verwendet werden. Bei letztgenannter Bestimmung darf aber kein Natriumhypophosphit zugesetzt werden; übrigens hindern Spuren von Quecksilber bei dem polarimetrischen Nachweis nicht, dagegen entfernt man diese, wenn man die Lösung zur titrimetrischen Bestimmung des Zuckergehaltes verwenden will, in der Weise, daß man 50 ccm des Filtrates mit 2 g Zinkpulver versetzt, schüttelt und das Filtrat alkalisch macht.

Zu dieser Ausführungsweise muß ich bemerken, was mir auch von F. Glaser mitgeteilt wurde, daß man bei manchen Harnen auf 50 ccm Harn bis über 50 ccm Reagens

[1]) Journ. Pharm. Chem. 1902. [6] **15.** 221; 1903. **17.** 5. Les nouv. remèdes. 1902. 229.

verbrauchen kann, wodurch der Harn so sauer wird, daß man bis zum Neutralisationspunkte etwa 20 ccm der 10%igen Lauge nötig hat; dies bedingt eine zu weitgehende Verdünnung. Nach Patéins[1]) weiteren Mitteilungen ist der Zusatz in der geschilderten Weise nicht nötig; man setzt zu 50 ccm Harn 25 ccm Reagens und dann tropfenweise bis zum Eintritt der neutralen Reaktion (Lackmus) verdünnte Natronlauge; es wird auf 100 ccm aufgefüllt und filtriert.

Mit der Frage der Klärung und Entfärbung des Harnes hat sich C. Neuberg[2]) eingehend beschäftigt. Nach Denigès ist das Verfahren von Patéin schwer durchführbar, da auch hier zu große Verdünnungen entstehen; er läßt 40 ccm Harn mit 20 ccm von seinem Reagens (in 160 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,39 trägt man unter Umrühren allmählich 220 g rotes Quecksilberoxyd ein; es dürfen sich keine Klumpen bilden. Nach 5—6 Minuten langem Stehen in der Kälte fügt man 160 ccm Wasser hinzu und erhitzt zum Sieden; man läßt abkühlen und setzt unter Schütteln 40 ccm einer Natronlauge hinzu, die aus 1 Vol. 30%igem Ätznatron vom spez. Gew. 1,33 und 3 Vol. Wasser gemischt ist; die Lösung wird in einem Meßkolben auf 1 Liter aufgefüllt, umgeschüttelt und nach dem Filtrieren in gelben Flaschen verwahrt) versetzen, umschütteln und etwa 20 ccm 7,5%ige Natronlauge tropfenweise bis zur neutralen Reaktion auf Lackmus hinzugeben, auf 100 ccm auffüllen, filtrieren und in einem 50 cm-Rohre polarisieren. Das Filtrat trübt sich leicht, man säuert es mit Salzsäure an oder entfernt das Quecksilber durch Zinkstaub oder Zinkgranalien in der Weise, daß 50 ccm des Filtrates mit 4—5 g Zink und 1 Tropfen Salzsäure geschüttelt werden; nach 1 Stunde ist in der Regel das Quecksilber entfernt.

Nach Neuberg kann für alle praktischen Zwecke die Entfärbung mit neutralem Bleiacetat vorgenommen werden; die Mercurinitratmethode ist umständlich, so große Polarisationsröhren sind oft nicht bei der Hand. Zuckerverluste durch den Zusatz von Bleisalzen sind nicht zu befürchten, wenn man ein für allemal den Urin vor dem Bleizusatz mit 1—3 Tropfen Eisessig deutlich sauer macht. Durch die Anwendung von Bleiacetat (man schüttelt 10—12 ccm Harn in einem Reagenzglas mit etwa 2 g gepulvertem Bleiacetat und filtriert) kann man jede Verdünnung vermeiden.

Will man für spezielle Zwecke auch Quecksilbersalze verwenden, so kann man nach Neuberg Mercuriacetat in fester Form, ähnlich wie das Bleiacetat verwenden; man erspart sich auch hier Verdünnung und Neutralisation.

Michaelis und Rona[3]) schlugen das Ferrum oxydatum dialysatum zur Enteiweißung, Klärung und Entfärbung vor, auch Kaolin; letzteres wirkt nur, wenn gleichzeitig fällbare Proteinstoffe oder andere Kolloide zugegen sind. Von kolloidalem Eisenhydroxyd genügen häufig wenige Tropfen, ebenso von dem gleichfalls für diese Zwecke empfohlenen Ferrisubacetat (Liquor Ferri subacetici). Ersteres könnte, wenn zuviel davon zugesetzt wurde, aus dem Filtrat durch etwas Kochsalz oder Magnesiumsulfat, letzteres durch Aufkochen mit einem löslichen Acetat (Natriumacetat) entfernt werden.

Neuberg glaubt, daß man in den meisten Fällen von jedem Klärmittel absehen kann, wenn es die optischen Verhältnisse irgend gestatten. Wenn man die Natriumflamme verstärkt durch Anwendung von Natriumsalzen, die in der Gaslampe reichlich Sauerstoff abgeben, z. B. von Natriumnitrit in Krystallen oder bei Anwendung von Auerlicht, dann wird die Eigenfarbe der Harne nicht stören. Trübe Harne (Harn bei Phosphaturie) kann man durch einen Tropfen Eisessig klären.

Ich bin mit der zuerst angegebenen Behandlungsweise des Harnes (Zusatz von Bleiacetat, Ausfällen des im Überschusse zugesetzten Bleies) immer gut gefahren. Neubergs Versuche bestätigen die Brauchbarkeit dieses Verfahrens gleichfalls. In einzelnen Fällen kann man sich dann der Ausfällung der störenden Stoffe mit Quecksilberacetat bedienen. S. 274. 275.

Nach G. Bohmannsson[4]) kann man 20 ccm Harn mit 5 ccm 25%iger Salzsäure und 2 g reinster Blut- oder Knochenkohle versetzen, 5 Minuten lang einige Male schütteln und das Filtrat polarisieren. Zucker soll bei dieser Ausführung nicht zu Verlust gehen. Der abgelesene Wert ist mit 1,5 zu multiplizieren. Doch siehe S. 274.

Andersen[5]) versetzt 40 ccm Harn mit 50%iger Essigsäure bis auf 50 ccm und mit 4 g gepulverter Blutkohle und schüttelt innerhalb 5—10 Minuten mehrmals; das klare und wasserhelle Filtrat kann ohne Neutralisation polarisiert oder nach Bang titriert werden.

C. Carrez[6]) versetzt 50 ccm Harn nacheinander mit 5 ccm einer Lösung von 150 g Ferrocyankalium im Liter und mit 5 ccm einer Lösung von 300 g Zinkacetat im Liter.

---

[1]) Journ. Pharm. Chim. 1903. [6]. **17.** 5.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1910. **24.** 423.
[3]) Ebenda. 1907. **7.** 329.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1909. **19.** 281.
[5]) Ebenda. 1911. **37.** 262.
[6]) Ann. chim. analyt. appl. 1908. **13.** 97; Chem. Centralbl. 1908. **79.** II. 1499.

Man schüttelt um, filtriert und polarisiert das Filtrat. Den erhaltenen Wert multipliziert man mit 1,2.

A. Wiesler[1]) klärt den Harn mit Tonerdehydrat (100 ccm Harn + 10 ccm Tonerdehydrat).

Das Filtrat von dem auf die eine oder die andere Weise vorbereiteten Harne wird in die 100 oder 200 mm (oder 94,7 oder 189,4 mm bei Verwendung der unter a) und b) besprochenen Apparate) langen Glasröhren mit abgeschliffenen Enden, die mit Glasplatten und auf das Rohr aufschraubbaren Kappen verschlossen werden, gefüllt. Zwischen Glasplatte und Kappe liegt ein Kautschuk- oder Korkring. 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; bei Anwendung der Seite 293 beschriebenen Patentbeobachtungsröhre (Fig. 52) wird dies vermieden. Die Polarisation nimmt man am besten bei 15—17° vor.

Tierkohle allein könnte zur Entfärbung des Harnes nur Verwendung finden, wenn man sich vorher genau überzeugt hat, daß die Kohle keinen Zucker absorbiert.

2. Der Harn muß ganz frei sein von Eiweiß, da dieses links dreht; das Eiweiß muß erst durch Kochen entfernt und der Harn mit Wasser auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden; doch genügt die Behandlung des Harnes mit Quecksilberacetat.

Ausführung der Polarisation.

Diese ist eine einfache und ist bereits bei der Erklärung der angegebenen Apparate mitgeteilt. Man stellt erst den Apparat genau ein — gewöhnlich steht er auf 0° ein —, gibt dann die Röhre mit dem zu prüfenden und vorbereiteten (s. o.) Harne 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 bei Anwendung der unter a und b beschriebenen Apparate (s. auch S. 291 und 293) in folgender Weise:

Die spez. Drehung[2]) des Traubenzuckers beträgt 52,74°; es entspricht somit die Drehung von 52,74° = 100 g Zucker in 100 ccm. Bei der Bestimmung im Harne kann man eine Drehung von 52,8° (s. S. 273) annehmen.

Zur Berechnung dient die Gleichung $c = \frac{a.100}{52{,}8.l}$, worin:

c = Zucker in Grammen in 100 ccm Lösung,

a = die abgelesene Ablenkung,

l = Länge des Beobachtungsrohres in Dezimetern.

Betrug z. B. im 200 mm-Rohr die Ablenkung 1,1°, so enthält die polarisierte Lösung $\frac{1{,}1.100}{52{,}8.2} = 1{,}041\,\%$ Zucker. (1° der Ablesung an den Kreisgradapparaten also = 0,95 g Traubenzucker bei Anwendung des 200 mm-Rohres.)

Bei der Berechnung haben wir noch die durch die Vorbehandlung des Harnes bedingte Verdünnung zu berücksichtigen und weiter noch in Betracht zu ziehen, ob man etwa 50 ccm des Filtrates vom vorbehandelten Harne noch irgendwie weiter behandelt und auf 55 ccm aufgefüllt hat. In dem letzteren Falle müßte dem erhaltenen Resultate noch $^1/_{10}$ der berechneten

---

[1]) Zeitschr. angew. Chem. 1906. **19.** 1547.

[2]) Man versteht darunter die Drehung, die 100 g Substanz in 100 ccm Flüssigkeit gelöst bei einer Länge der Flüssigkeitssäule von 100 mm — also im 100 mm-Beobachtungsrohr — bewirken; sie beträgt für die Natriumlinie D, also $\alpha[D] = +52{,}74°$ (= 100% Traubenzucker).

Prozente zugezählt werden, wenn man nicht die Polarisation im 220 mm-Rohr vorgenommen hat, wodurch dieser Verdünnung Rechnung getragen ist. Wir hätten also den aus der Drehung des Filtrates wie oben berechneten Zuckergehalt zu verdoppeln (wenn der Harn nach den Vorschriften 1 : 1 verdünnt wurde) und, wenn nicht im 220 mm-Rohr polarisiert wurde, noch $^1/_{10}$ des berechneten Zuckergehaltes zuzuzählen, im Falle die 50 ccm Filtrat durch weitere Behandlung zu 55 ccm aufgefüllt worden sein sollten.

Im angeführten Beispiel würde der Zuckergehalt $1{,}041.2 = 2{,}082\,\%$ betragen.

Zur genauen Ermittelung der Gewichtsprozente wird die wie vorstehend gefundene Grammzahl durch das spez. Gewicht des Harnes dividiert.

Um jede Berechnung bei Verwendung der unter a) und b) besprochenen Apparate zu vermeiden, hat die Firma Schmidt & Haensch, wie schon Seite 294 erwähnt, Röhren von einer Länge zu 94,7 und 189,4 mm konstruiert, die der spez. Drehung des Traubenzuckers Rechnung tragen, so daß bei Verwendung dieser Röhren der Gehalt an Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit gleich dem abgelesenen Drehungswinkel (bei 189,4 mm Länge) oder doppelt so groß ist (bei 94,7 mm Länge). Bei Verwendung des Apparates mit Keilkompensation können nur Röhren von 50, 100 oder 200 mm Länge Verwendung finden, da hier infolge der Quarzkeilkompensation die Zuckerprozente abgelesen werden können. Bei Verwendung der 100 mm-Röhre ist selbstverständlich der gefundene Prozentgehalt zu verdoppeln, bei Verwendung der 50 mm-Röhre ist er mit 4 zu multiplizieren. Die durch die Vorbehandlung des Harnes bedingte Verdünnung muß natürlich berücksichtigt werden.

Beurteilung.

Die polarimetrische Prüfung ist bei Verwendung eines guten Apparates als eine sehr genaue zu bezeichnen, die nur kurze Zeit beansprucht.

Fehler dieser Methode können veranlaßt werden durch die Anwesenheit von Eiweiß, Glykuronsäuren, β-Oxybuttersäure, Lävulose, Laiose, Milchzucker im Harne.

Eiweiß ist leicht zu entfernen; gepaarte Glykuronsäuren und β-Oxybuttersäure drehen links, vergären aber nicht, so daß hier eine Polarisation vor und nach der Vergärung des Harnes zum Ziele führt; übrigens können Glykuronsäuren, β-Oxybuttersäure und Eiweiß durch die geschilderten Vorbereitungen entfernt werden.

Gepaarte Glykuronsäuren können im Harne nach dem Einnehmen von Chloral, Phenolen, Naphthalin, Kampfer, Terpentinöl, Antipyrin enthalten sein und dann die optische Linksdrehung veranlassen. Beim Zusatze von Säuren können diese gepaarten Glykuronsäuren freie rechtsdrehende Glykuronsäure abspalten.

Harn nach dem Einnehmen von Santonin dreht links.

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

Die Lävulose kommt nicht häufig vor.

Milchzucker findet sich äußerst selten (nur im Harne 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.

Bei polarimetrischen Prüfungen unterrichte man sich nach den etwa verabfolgten Heilmitteln und vergesse nicht, chemische Reaktionen und die Gärung anzustellen.

2. Bestimmung des Zuckers durch Gärung.

Prinzip.

Durch Hefe wird bekanntlich eine Dextroselösung in Äthylalkohol und in Kohlensäure zerlegt, und zwar liefert 1 ccm einer 1%igen Dextroselösung ungefähr 2,5 ccm Kohlendioxyd (CO_2) bei 760 mm Barometerdruck und bei 15°.

Bereits bei der Besprechung der qualitativen Proben zum Zuckernachweis wurde erwähnt, daß die Gärprobe entschieden die sicherste Probe darstellt, da durch sie Fehler, die durch das Vorhandensein anderweitiger störender und das Ergebnis beeinflussender Stoffe bedingt sind, ausgeschlossen werden.

Die hiezu empfohlenen Apparate (Fiebig, Einhorn) waren es immer noch, die diese Methode nicht so in den Vordergrund treten ließen, da mit diesen nicht die genauen Ergebnisse ge-

wonnen wurden, wie sie erhalten werden müssen. Eine Ausnahme machte der von R. Fleischer[1]) erfundene Apparat, mit dem bei richtiger Handhabung brauchbare Resultate erhalten wurden.

Th. Lohnstein hat zwei Apparate konstruiert, die sich nicht nur durch eine einfache Handhabung, sondern auch vor allem dadurch auszeichnen, daß sie sehr gute Resultate liefern.

Auch noch andere geeignete Apparate sind inzwischen konstruiert worden.

Meiner Ansicht nach ist das Problem, eine einwandfreie, leicht auszuführende, genaue Methode zum quantitativen Zuckernachweis zu besitzen, nun endgültig gelöst, wozu nicht zum letzten noch der Punkt zu erwähnen mir notwendig erscheint, daß das Verfahren in Beziehung auf Material und Apparate ein billiges ist.

Man beachte aber die Seite 282 angegebene Vorbereitung des Harnes. Alkalisch oder ammoniakalisch gewordener Harn ist nicht mehr brauchbar. Alkalischer Harn bindet Kohlensäure.

C. Neuberg und A. Hildesheimer[2]) fanden allerdings, daß käufliche Hefe und auch Hefereinkulturen ohne Vorhandensein von Zucker mit verschiedenen Stoffen (darunter Milchsäure, Brenztraubensäure, Buttersäure, Lecithin, Cystin u. a.) Kohlensäure entwickeln können. Der Nachweis von Alkohol wäre dann nicht unwichtig (Seite 284).

a) Die Zuckerbestimmung mit dem Lohnsteinschen Apparat.

Vor der Besprechung der Ausführung der Methode mag erwähnt sein, daß Th. Lohnstein[3]) im Jahre 1898 ein neues Gärungssaccharometer konstruiert hat, das nur für zuckerhaltige Urine von 0,0 bis 1,0% Verwendung finden konnte. Urine mit höherem Zuckergehalte mußten verdünnt werden. Ende des Jahres 1900 baute Th. Lohnstein[4]) seinen zweiten Apparat, der sich dadurch von allen bis jetzt empfohlenen Apparaten unterscheidet, daß bei seiner Anwendung der Urin nicht verdünnt zu werden braucht, da seine Skala das ganze Intervall der Zuckergehalte von 0—10% umfaßt. Das ist für die Genauigkeit der Resultate insofern von Vorteil, als ein etwaiger Fehler der Einstellung sich nicht durch Multiplikation mit der Verdünnungszahl vergrößert. Ein solcher durch starke Kohlensäureabsorption möglicher Fehler ist übrigens in dem neuen Apparate aus zwei Gründen auf ein Minimum reduziert; einmal ist im Gegensatz zu dem früheren Saccharometer die im Harne absorbiert bleibende Kohlensäuremenge klein gegen die gasförmig abgeschiedene; sodann ist dadurch, daß der Harn in einer niedrigen Schicht auf die Oberfläche des Quecksilbers ausgebreitet und schon bei mittleren Zuckergehalten im Laufe der Gärung lediglich als Meniskus an der Glaswand vorhanden ist, eine Übersättigung des Harnes mit Kohlensäure äußerst erschwert, da die durch die Diffusion erfolgende Abgabe des im Überschusse vorhandenen Gases unter diesen Umständen äußerst schnell erfolgen muß.

Ausführung.

Man füllt die dem Apparate[5]) beigegebene Quecksilbermenge vollständig bei beiderseits offenem Rohr in den Apparat (Fig. 57), bringt mit der dem Apparate beiliegenden geeichten Spritze auf die Oberfläche des Quecksilbers in der Kugel genau 0,5 ccm von dem zu untersuchenden Harne und dann mit der gereinigten gleichen Spritze je nach dem Zuckergehalte des Harnes 5—10 Teilstriche (0,1—0,2 ccm) des Hefebreies — ein Stück möglichst frischer Preßhefe wird mit dem 2—3fachen seines Volumens gewöhnlichen Wassers zu einem Brei verrieben; 4 Tropfen des Breies verwendet man zweckmäßig bei voraussichtlich sehr hohem [über 5%] Zuckergehalt des Urins, während man bei sehr geringem Zuckergehalt, den man daran erkennt, daß die Trommersche Probe zweifelhaft oder nur schwach positiv ausgefallen ist, nur 2 Tropfen eines dünnen Hefebreies, 1 Teil Hefe zu 10—15 Teilen Wasser, verwendet — in den Apparat zum Urin. Nunmehr setzt man den

---

[1]) Med. chirurg. Rundsch. 1887. 743; Chem. Centralbl. 1888. 62.

[2]) Biochem. Zeitschr. 1911. **31.** 170.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1898. **35.** Nr. 39.

[4]) Allgem. med. Centralztg. 1899. **68.** Nr. 101; 1900. **69.** Nr. 30ff. (Separatabdruck).

[5]) Präzisionsgärungssaccharometer von H. Noffke & Co., Berlin SW. 47, Yorkstraße 19, zu beziehen. Dem Apparate liegt die genaue Gebrauchsanweisung bei. Es wird noch bemerkt, daß die durch Th. Lohnstein kontrollierten Apparate mit dem Warenzeichen „Dr. Lohnstein" Nr. 73015 versehen sind; es wurden Nachahmungen der Apparate vorgefunden, die zum Teil ganz falsche Werte ergaben.

mit dem Dichtungsmittel (gleiche Teile gelbes Wachs und Vaseline) recht gleichmäßig und vollständig bestrichenen Stöpsel auf den Hals der Kugel so auf, daß die Öffnung im Kugelhals mit der des Stopfens zusammenfällt, koindiziert. Auf das Rohr des Apparates gibt man, wie in Fig. 57, die Skala, deren Nulllinie mit der Kuppe der Quecksilbersäule zusammenfallen muß, widrigenfalls man durch geringes Neigen des Apparates — die mit der Dichtungsmasse verklebten Löcher durchsticht man mit einer Nadel — die Quecksilbersäule in die angegebene Stellung bringt; man dreht hierauf bei noch geneigter Stellung des Apparates den Stöpsel so, daß die beiden Löcher am Kugelhalse nicht mehr koindizieren. Steht die Quecksilbersäule etwas über der Nulllinie, so bringt man den abgelesenen Betrag an der Skala von der nach der Beendigung der Bestimmung vorhandenen Zahl in Abzug.

Fig. 57.

Auf den Stöpsel legt man zuletzt das Gewicht. Man überläßt nun den Harn im Apparate der Gärung entweder 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder zur Erzielung sicherer Resultate, da die Gärung, auch bei höherem Zuckergehalte, dann in 4—5 Stunden beendet ist, einer Temperatur von 32—38° C, indem man den Apparat am einfachsten in einen Brutschrank oder in Ermangelung eines solchen in ein Wasserbad (in welchem Falle man selbstverständlich die Skala abnimmt) einstellt, das durch ein kleines Gasflämmchen oder Nachtlämpchen mehrere Stunden auf dieser Temperatur gehalten wird; die richtige Entfernung der Flamme vom Boden des Wasserbades kann man vorher ausprobieren.

Nach Beendigung der Gärung, die man daran erkennt, daß die Quecksilbersäule nicht mehr steigt, kühlt man den Apparat auf die Temperatur ab, bei der er gefüllt wurde.

Zur Ablesung enthält der Apparat auf dem abnehmbaren Rahmen 2 Skalen, von denen die eine für 20° C, die andere für 35° C gilt; für die kleineren Zuckergehalte geben die neu verbesserten Skalen direkt die Fünfzigstel-Prozente an; es lassen sich auch noch die Hundertstel-Prozente erkennen. Für die Prozentgehalte von 2% an sind sie in Zehntel-Prozente geteilt; man kann hier die Zuckergehalte bis auf $^1/_{20}$% bequem feststellen. In den meisten Fällen wird man sich nach vorherigem Abkühlen des Apparates ohne merklichen Fehler mit der Ablesung an der rechten, für 20° C gültigen Skala begnügen können. Außerdem, bei genauen Bestimmungen, berechnet man den Prozentgehalt nach folgender Gleichung:

$$p = p_{35} + \frac{p_{20} - p_{35}}{15}(35 - t),$$

worin p den wirklichen Prozentgehalt, p_{20} und p_{35} die Ablesungen an den beiden für 20 und 35° C gültigen Skalen und t die Temperatur, bei der der

Harn in den Apparat gefüllt und auf die er abgekühlt wurde (also nicht etwa die Gärungstemperatur!) bedeutet.

Beispiel:

Es wurde abgelesen: $p_{35} = 3{,}6$ und $p_{20} = 4{,}0$, $t = 25^0$ C; demnach ist:

$$p = 3{,}6 + \frac{4{,}0 - 3{,}6}{15}(35 - 25),$$

$$= 3{,}6 + \frac{0{,}4}{15}10 = 3{,}6 + 0{,}27 = 3{,}87\,\%.$$

In dem Harne wären demnach 3,87 % Zucker vorhanden.

Beurteilung.

Der Apparat liefert besonders bei Vornahme der Gärung bei 35—38° C 4 Stunden lang (besser etwas länger stehen lassen) und bei der Verwendung möglichst frischer Hefe sehr gute Resultate ist bequem zu handhaben und leicht zu reinigen; nach Beendigung der Bestimmung dreht man langsam den Stöpsel, bis die Löcher am Kugelhalse wieder übereinanderstehen, saugt den hefetrüben Harn mit Watte ab, spritzt noch einige Male den Raum über dem Quecksilber mit Wasser aus und entfernt dieses ebenfalls durch Watte. Der Apparat ist dann für eine neue Bestimmung fertig, ohne daß man das Quecksilber zu entfernen braucht. Nach längerem Gebrauch reinigt man den Glasteil mit heißer Sodalösung.

Man muß den Stopfen recht gut und gleichmäßig mit der Dichtungsmasse bestreichen, damit er vollkommen abschließt. Ich habe mich statt der Spritze einer langen dünnen, genauestens kalibrierten Glaspipette zum Abmessen des Harnes bedient.

Man kann auch die Trockenhefe, die man vorher auf ihre Brauchbarkeit geprüft hat, verwenden.

Eine Reihe Autoren, Demant, Ph. Fischer, F. Goldmann, Gregor, Kraft, Schoorl, J. Thomann u. a. können den Lohnsteinschen Apparat aufs beste empfehlen. O. Schumm erhielt genaue Zahlen, wenn er die Versuche bei Brüttemperatur ausführte.

Th. u. R. Lohnstein[1]) haben (Fig. 58) ein Gärungs-Saccharometer mit Glycerin-Indicator (Verwendung von Glycerin statt Quecksilber) konstruiert, das sich in den Grundprinzipien seiner Konstruktion an das eben beschriebene anlehnt und sich von diesem dadurch unterscheidet, daß die gärende Flüssigkeit nicht in der Kugel des Apparates, sondern in einem an diese sich anschließenden **U**-Rohr Platz findet. Die Gebrauchsanweisung liegt dem Apparate bei.

Fig. 58.

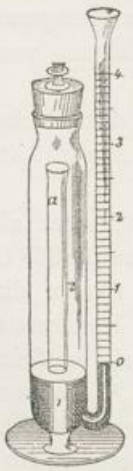


Fig. 59.

Für Werte unter 1 % Zuckergehalt im Harne ist das ältere Präzisions-Gärungssaccharometer genauer; bei höherem Zuckergehalte dürfte kein wesentlicher Unterschied in Beziehung auf die Genauigkeit zwischen dem älteren und dem neueren Apparate bestehen. Als Vorzug dieses Saccharometers ist der Umstand zu betrachten, daß in ihm das Quecksilber durch Glycerin ersetzt ist, wodurch der Apparat weniger zerbrechlich ist.

b) Die Zuckerbestimmung mit dem Fleischerschen Apparat.

Ausführung.

Man verwendet, um von dem verschiedenen Barometerstand und den Schwankungen der Temperatur unabhängig zu sein, von diesem Apparate, dessen Konstruktion aus der Abbildung (Fig. 59) leicht ersichtlich ist, zwei Exemplare, den einen für die auszuführende Bestimmung, den anderen ganz gleichen, vorher geprüften zur Kontrollbestimmung.

Man füllt in beiden Apparaten den mit 1 bezeichneten Raum mit reinem Quecksilber bis zur Marke 0 (ganz genau), ohne diesen Raum mit der warmen Hand zu berühren. Nun werden

[1]) Allgem. med. Zentralztg. 1906. **75.** Nr. 22. Separatabdruck. Das Saccharometer ist zu beziehen von H. Noffke & Co.

von dem zu untersuchenden Urin, wenn dieser 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 Harne werden 10 ccm (= 1 ccm ursprünglicher Harn) in ein Bechergläschen abgemessen, dann wird etwa 1 g frischer zuckerfreier Preßhefe, die jetzt ja sehr rein zu haben ist, dazu gegeben, die Preßhefe mit einem Glasstäbchen verrührt und der Inhalt des Bechergläschens in einem krumm gebogenen Trichter durch die obere Öffnung von 2 in den Raum 2 des Apparates gebracht; das Gläschen spült man mit 10 ccm Wasser nach und gibt 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 Kontrollapparat 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 etwa 15° C so gestellt, daß die eingeteilten Röhren nebeneinander 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 tut 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 so viel Zucker vorhanden ist, wie in den 10 ccm der Zuckerlösung = 0,01 g, in 100 ccm Harn mithin 1%; steht das Quecksilberniveau im Kontrollapparat 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%igen Zuckerlösung nach dem Zugeben von Hefe und 20 ccm Wasser in den Apparat bringen; ich verwendete die oben angegebenen verdünnten Mengen, um Fehler möglichst auszuschließen.

Beurteilung.

Es ist ja nicht unrichtig, daß diese Methode umständlicher ist, daß man noch einen Kontrollapparat nötig hat und daß auch die Reinigung und Wiederinstandsetzung des Apparates eine zeitraubende ist, gleichwohl konnte ich mich nicht entschließen, diesen Apparat und seine Beschreibung aus dem Buche wegzulassen; mit Hilfe des Fleischerschen Apparates war zuerst eine quantitative Bestimmung des Zuckers durch Gärung ermöglicht worden. Der Apparat war in seinem Prinzip gewissermaßen grundlegend für die nun vorhandenen vorzüglich brauchbaren und handlichen Apparate.

c) Ebenfalls zur quantitativen Zuckerbestimmung sind in letzter Zeit noch mehrere andere Gärungsapparate empfohlen worden.

1. B. Wagner[1]) beschreibt seinen „Gärungssaccharomanometer" benannten Apparat, der nach dem Prinzipe des Lohnsteinschen Apparates hergestellt ist. Hier ist das Gärgefäß mit dem Manometer durch einen Schliff verbunden, wodurch vermieden ist, daß die Gärungsflüssigkeit mit dem Quecksilber in Berührung kommt. Die Reinigung des Apparates ist eine leichte, das Instrument ist auf ein Wandbrett montiert und weniger leicht zerbrechlich. Der Apparat mit Zubehör und Gebrauchsanweisung ist von F. O. R. Goetze in Leipzig, Härtelstraße, zu beziehen.

   Die Genauigkeit des Apparates leidet, weil die gärende Flüssigkeit und das U-Rohr mit dem Quecksilber durch einen Luftraum getrennt sind; infolge der Änderungen des Luftvolumens durch Wärmeausdehnung und wechselnde Wasserdampfbildung machen sich die Temperaturschwankungen in viel stärkerem Maße geltend, als bei dem kleinen Luftvolumen des Lohnsteinschen Apparates; ins Wasserbad kann der Apparat nicht eingestellt werden (Goldmann).
2. Das Gärungssaccharometer von Fromme[2]) ist ganz ähnlich dem Lohnsteinschen Apparate konstruiert; es ist von R. Schoeps in Halle a. S. zu erhalten.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1905. **52.** 2328.
[2]) Vierteljahresschr. f. prakt. Pharm. 1905. 400; Pharm. Centrlh. 1907. **48.** 128.

Bei diesem Apparate müßte der Kugelverschluß derart dicht hergestellt sein, daß ein Gasverlust ausgeschlossen ist. Nach Goldmanns Versuchen waren genaue Ergebnisse mit dem Apparate wegen des undichten Verschlusses nicht zu erzielen.

3. Weidenkaff[1]) hat ein Präzisionssaccharometer konstruiert, das nach Versuchen von G. Gregor brauchbar ist. Dieses ist durch die verschiedenen Großhandlungen zu erhalten. Nach J. Thomanns Versuchen versagt dieser Apparat öfters; vielleicht waren die Verschlüsse undicht.
4. A. Basler[2]) hat ein neues einfaches Gärungssaccharometer empfohlen, das dem Lohnsteinschen Apparate ähnlich ist; hier wird die entwickelte Kohlensäure über gesättigter Kochsalzlösung aufgefangen. Der Apparat ist vom Glasbläser O. Ludwig in Tübingen zu beziehen.

Weitere solche Apparate — sie können unmöglich alle erwähnt werden — haben konstruiert und empfohlen Wiedemann[3]), W. Reusch[4]), A. Gause[5]), M. Henius[6]), A. Eppeus[7]), J. C. van d. Harst u. C. H. Koers[8]), Lassar-Cohn[9]). — H. Serger[10]) gibt eine Beschreibung bekannter Gärungssaccharometer.

Allen diesen Apparaten liegt eine ausführliche Gebrauchsanweisung bei.

Beurteilung.

Nach den Ergebnissen der vergleichenden Versuche, die F. Goldmann[11]), J. Thomann mit einer Anzahl der zur quantitativen Bestimmung des Harnzuckers empfohlenen Gärungs-Saccharometer ausführten, ist der Apparat nach Lohnstein, der „lange Lohnstein", als das vollendetste Saccharometer zu bezeichnen und zu empfehlen.

d) Die Bestimmung mit anderen Gärungsapparaten von Einhorn, Fiebig, Arndt.

Von der Verwendung dieser ist abzuraten, da ihre Handhabung und Instandsetzung dieselbe Arbeit und Zeit in Anspruch nimmt und wegen ihrer zum Teil falschen Einteilung und der wechselnden Absorptionsverhältnisse der Flüssigkeit für die Kohlensäure doch nur ein fehlerhaftes Ergebnis erzielt werden kann.

e) Bestimmung durch Gärung nach der aräometrischen Methode.

Diese schon im Jahre 1861 von Roberts angegebene sog. densimetrische Methode beruht darauf, daß das spez. Gewicht eines zuckerhaltigen Harnes infolge der Gärung abnimmt, was durch das Verschwinden des Traubenzuckers und durch die Bildung des das spez. Gewicht erniedrigenden Alkohols bedingt ist. Durch eine Bestimmung des spez. Gewichtes vor und nach der Gärung kann man demnach den Traubenzucker ermitteln. Diese Methode ist von W. Schlosser und Th. Lohnstein[12]) unter Berücksichtigung wesentlicher Punkte so abgeändert worden, daß sie brauchbare Resultate gibt.

Erforderliche Bedingungen.

Es muß für Gleichheit der Temperaturen der Flüssigkeiten bei den spez. Gewichtsbestimmungen gesorgt und ein etwaiger Temperaturunterschied in Betracht gezogen werden. Dann ist zu beachten, daß ein Urin, auch wenn er zuckerfrei ist, schon allein durch den Hefezusatz etwas in seinem spez. Gewicht beeinflußt wird, und endlich muß berücksichtigt werden, inwieweit die durch die Gärung hervorgerufene Erniedrigung der Harndichte dem Zuckergehalte proportional, ob also der Faktor, mit dem man zur Ermittelung des Zuckerprozentgehaltes die Differenz im spezifischen Gewichte zu multiplizieren hat, konstant ist oder nicht. Durch eingehende Versuche hat Lohnstein gefunden, daß als Mittelwert des Faktors für Harne mit höherem Zuckergehalte

---

[1]) Südd. Apoth.-Ztg. 1908. **48.** 155.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** 1802. 2486.
[3]) Ebenda. 1911. **58.** 858.
[4]) Ebenda. 1913. **60.** 2406.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1913. **39.** Nr. 37.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1913. **60.** 1603.
[7]) Chem. Ztg. 1914. **38.** 46.
[8]) Pharm. Weekblad. 1921. **58.** 1230.
[9]) Chem. Ztg. 1921. **45.** 980.
[10]) Zeitschr. öffentl. Chem. 1912. **18.** 355.
[11]) Bericht. der Deutsch. pharm. Gesellsch. 1906. **16.** Heft 4. Sonderabdruck.
[12]) Berl. klin. Wochenschr. 1896. Nr. 6, Allgem. med. Zentralztg. 1898. **67.** Nr. 58, Bericht. der Deutsch. pharm. Gesellsch. 1900. **10.** 334. Nach übersandtem Separatabdruck aus dem Medizinalkalender der allgem. med. Zentralztg. 1901.

233—234, bei solchen mit Zuckergehalt bis 0,5% der Wert 229—230 in Rechnung zu setzen ist. Die Bestimmung des spez. Gewichtes erfolgt mit dem von Lohnstein konstruierten Präzisionsurometer[1]) (Gewichtsurometer), das das spez. Gewicht noch in der vierten Dezimale zu bestimmen gestattet.

α) Verfahren nach Th. Lohnstein (bei größeren Zuckermengen).

60 ccm Urin werden in einen 100 ccm haltenden graduierten Zylinder gefüllt. Ein Stück Preßhefe (2—5 g) wird mit etwa dem Doppelten seines Volumens Wasser zu einem gleichmäßigen Brei in einem passenden Gefäß verrührt; von diesem Brei werden 5—10 ccm zu der im Zylinder befindlichen Harnmenge gebracht, wobei die Flüssigkeit im Zylinder um die zugegebene Hefeflüssigkeitsmenge steigt. Das neue Volumen wird notiert. Von dem entstandenen Hefe-Harngemisch wird mit dem Lohnsteinschen Präzisionsurometer das spezifische Gewicht bestimmt. Hierauf wird die Harn-Hefemischung in einen Kolben oder in eine Medizinflasche (von 200 ccm) gegossen, die, um das Trocknen zu ersparen, vorher mit einigen Kubikzentimetern der Harn-Hefemischung selbst ausgespült waren. Die Flasche wird mit einem Wattepfropf verschlossen und einer Temperatur von 35 bis 38° C ausgesetzt. Unter diesen Umständen ist die Gärung in 4—6 Stunden stets beendet, was sich auch durch die Bildung eines dichten Bodensatzes kundgibt. Die Flüssigkeit wird hierauf durch Schütteln mit der abgesetzten Hefe innig vermengt, auf ungefähr die gleiche Temperatur wie bei der ersten Bestimmung des spez. Gewichtes gebracht und hievon neuerdings das spez. Gewicht bestimmt. Die Berechnung des Zuckergehaltes hieraus wird in folgender Weise vorgenommen: Es seien s_1 und s_2 die beiden spez. Gewichte, v_1 (= 60 ccm) das ursprüngliche Harnvolumen, v_2 das Volumen nach Zusatz der Hefe, 0,234 der Faktor, p die in 100 ccm des hefefreien Harnes enthaltene Zuckermenge in Grammen, d. h. der gesuchte Prozentgehalt, so ist

$$p = \frac{v_2}{v_1}(s_1 - s_2) \cdot 0{,}234_0/_0.$$

War z. B. $s_1 = 1029{,}8$, $s_2 = 1017{,}6$, $v_1 = 60$ ccm, $v_2 = 66$ ccm, d. h. betrug die Vermehrung des Harnvolumens durch den Zusatz des Hefebreies 6 ccm, so ist

$$s_1 - s_2 = 12{,}2, \text{ daher } p = \frac{66}{60} \cdot 12{,}2 \cdot 0{,}234 = 3{,}14.$$

Differenzen in den Temperaturen der Flüssigkeit bei den beiden spezifischen Gewichtsbestimmungen bis zu 1° können bei größeren Zuckergehalten vernachlässigt werden. Nur für kleine Zuckermengen tut man gut, die Temperatur zu berücksichtigen, wozu ein kleines, in einfache Grade geteiltes Thermometer ausreicht, bei dem man halbe und viertel Grade ja noch schätzen kann. War t_1 die Temperatur bei der ersten, t_2 bei der zweiten spezifischen Gewichtsbestimmung, so trägt man der Temperaturdifferenz $t_1 - t_2$ dadurch Rechnung, daß man zu dem ohne ihre Berücksichtigung ermittelten Zuckerprozentgehalt $0{,}05 \cdot (t_1 - t_2)$ oder $0{,}07 \cdot (t_1 - t_2)$ hinzuaddiert, je nachdem t_1 und t_2 zwischen 15 und 20° C oder zwischen 20 und 25° liegen. Wäre z. B. in dem obigen Beispiel $t_1 = 18°$, $t_2 = 19{,}5°$ gewesen, so hätte man $0{,}05 \cdot 1{,}5 = 0{,}08$ (abgekürzt) von obigen 3,14 in Abzug zu bringen (da $t_1 - t_2$ in diesem Falle $= -1{,}5$, d. i. negativ ist); der mit Rücksicht auf die Temperaturdifferenz korrigierte Prozentgehalt wäre also 3,06%.

β) Nach Lohnstein[2]) (bei voraussichtlich kleinen Zuckermengen).

Eine weitere Art, die in dem Hefezusatz liegende Fehlerquelle unschädlich zu machen, besteht darin, daß man zwei mit verschiedenen Hefemengen versetzte Harnvolumina vergären läßt. Bei diesem Verfahren hat man drei spezifische Gewichtsbestimmungen auszuführen. Als Verhältnis der Hefemengen wählt man der Einfachheit halber 1 : 2. Der Unterschied in den spezifischen Gewichten der beiden mit Hefe versetzten Harnvolumina nach Beendigung der Gärung ist dann offenbar gleich der Änderung, die die kleinere Hefemenge an sich an dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit hervorgebracht hätte, und also von der durch die Vergärung bedingten Erniedrigung des spezifischen Gewichtes in Abzug zu bringen. Im einzelnen gestaltet sich das Verfahren, das in dieser Form natürlich nur bei voraussichtlich kleinen Zuckermengen zur Anwendung gebracht zu werden braucht und bei dem man daher mit geringen Hefemengen auskommt, folgendermaßen:

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Urins (s_1).

2. Je 100 ccm des Urins werden mit 1 oder 2 g Preßhefe versetzt, mit ihr gut durchgeschüttelt und im Meßzylinder selbst oder in 100 ccm haltenden Medizinflaschen unter Anwendung von Watteverschlüssen der Gärung überlassen. Nach Beendigung der Gärung wartet man ab, bis die Hefe sich als fester Satz am Boden der Gefäße angesammelt hat, und gießt dann ab. Bestimmung der spezifischen Gewichte s_2' und s_2'' der beiden abgegossenen Flüssigkeiten. Der Zuckergehalt p berechnet sich daraus folgendermaßen:

$$p = 0{,}229\ (s_1 - s_2' - (s_2' - s_2'')$$
$$= 0{,}229\ (s_1 + s_2'' - 2\,s_2').$$

[1]) Gewichtsurometer zu beziehen von L. Reimann, Berlin SO, Schmidgasse 32.

[2]) Nach übersandtem Separatabdruck aus Medizinalkalender 1901.

Die Temperatur muß dabei für alle drei spezifischen Gewichtsbestimmungen die gleiche sein; bis auf Bruchteile eines Grades ist das leicht zu erreichen, die kleinen noch verbleibenden Differenzen berücksichtigt man auf Grund der Tatsache, daß zwischen 15 und 20° jeder Temperaturgrad das spezifische Gewicht des Urins (Wasser = 1000 gesetzt) annähernd um 0,2 und zwischen 20 und 25° annähernd um 0,3 erniedrigt. Am besten wird das Gesagte durch ein Zahlenbeispiel erläutert:

1. Spezifisches Gewicht des Urins s_1 bei 18° C = 1023,4.
2. Spezifisches Gewicht s_2' der nach Beendigung der Gärung von 100 ccm mit 1 g Hefe versetzten Urins abgegossenen Flüssigkeit bei 18,5° C = 1021,6.
3. Spezifisches Gewicht s_2'' der nach Beendigung der Gärung von 100 ccm mit 2 g Hefe versetzten Urins abgegossenen Flüssigkeit bei 17,5° C = 1021,7.

s_2' und s_2'' werden zunächst auf die Temperatur 18° C reduziert und nehmen dadurch die Werte 1021,7 und 1021,6 an. Daher ist $s_1 + s_2'' - 2\,s_2' = 1{,}6$ und der gesuchte Prozentgehalt $p = 1{,}6 \cdot 0{,}229 = 0{,}37\%$.

Ein von J. Schütz empfohlenes Aräosaccharimeter zur Ermittelung des spezifischen Gewichtes des Harnes vor und nach der Gärung kann zur Verwendung bei genauen und exakten Bestimmungen nicht empfohlen werden.

Das Gärsaccharoskop von Citron[1]) führt die alte aräometrische Methode nach Roberts in einen Ableseapparat über. Es ist von der Firma Richard Kallmayer & Co. in Berlin N, Oranienburgerstraße 45 zu beziehen.

Die von Lohnstein berechneten Schwankungen des Faktors nach Roberts können hier aber nicht berücksichtigt werden; weitere Nachteile sind die vorgeschriebene große Menge Hefe, die große benötigte Harnmenge und der dem Aräometer anhaftende Fehler der Kapillarität, der bei diesem Apparat prinzipiell vorhanden ist, da das Urin-Hefegemenge vor und nach der Gärung notwendigerweise verschiedene Kapillaritätskonstanten aufweisen muß (Goldmann).

f) Bestimmung des Harnzuckers mit Hilfe des Refraktometers.[2])

Prinzip.

Die Bestimmung beruht auf der Tatsache, daß auch der optische Brechungsindex einer zuckerhaltigen Flüssigkeit durch die Gärung eine dem Zuckergehalte annähernd proportionale Verminderung erleidet, wobei alle bei dem densimetrischen Verfahren angegebenen Umstände (Temperatur, Hefeeinfluß usw.) zu berücksichtigen sind.

Die Methode gibt aber viel weniger genaue Ergebnisse, als die densimetrische, da der Brechungsindex durch gleichen Zuckergehalt eine viel geringere Abnahme erfährt, als das spezifische Gewicht.

Weiter ist empfohlen worden, den erhaltenen im Asbeströhrchen gesammelten Kupferoxydulniederschlag in Salpetersäure zu lösen, den Asbest auszuwaschen, die salpetersaure Kupfernitratlösung einzudampfen und den Rückstand genau in 5 ccm 2%iger Salpetersäure vom bestimmten Eintauchrefraktometerwert zu lösen; in der genau bei 17,5° auf 10 ccm aufgefüllten Lösung wäre der Eintauchrefraktometerwert bei gleicher Temperatur zu ermitteln.

H. Matthes erwähnt, daß diese Art der Bestimmung jedenfalls keine schnellere genannt werden kann; sie wird auch wohl kaum eine genauere sein.

Das Eintauchrefraktometer (s. S. 31) liefert die Firma Zeiss in Jena.

Ein Verfahren mit dem Saccharorefraktometer gibt P. Dilg[3]) an.

Wahl der Methode.

Die Bestimmung mit dem von Lohnstein konstruierten Gärungssaccharometer in erster Linie, dann das von dem gleichen Autor verbesserte densimetrische Verfahren geben brauchbare Resultate. Damit soll nicht gesagt sein, daß nicht etwa neu konstruierte und empfohlene Gärungssaccharometer nicht brauchbar wären. Ich möchte nur raten, neue Apparate erst genau zu prüfen.

3. Zuckerbestimmung durch Titrieren.

a) Titrieren nach Fehling.

Das Prinzip der Titration mit Fehlingscher Lösung beruht auf der bei der Trommerschen Probe angegebenen Reaktion.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1905. **31.** 1753.

[2]) Grober u. Strubell, Zentralbl. f. innere Mediz. 1900. **21.** Nr. 8, Verhandl. des Kongresses f. inn. Med.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1921. **68.** 46.

Bedingungen sind:

Der Harn muß frei von Eiweiß und Schwefelwasserstoff sein; ferner muß der Harn in der Weise verdünnt werden, daß er nicht mehr als 1% — besser weniger — Zucker enthält, wozu bemerkt sein mag, daß man im allgemeinen[1]) bei einem spezifischen Gewichte des Harnes von 1,030 mit der fünffachen, bei einem höheren mit der zehnfachen Verdünnung des Harnes auskommen wird. Harn mit geringem Zuckergehalte wäre zu konzentrieren. Hauptsache zum Gelingen des Versuches ist, daß die Zuckerlösung (der zuckerhaltige Harn) möglichst auf einmal in die Fehlingsche Flüssigkeit eingetragen wird. Besonders auch für die titrimetrischen Methoden möchte ich die Verwendung des nach S. 296 vorbereiteten Harnes empfehlen. Als ganz exakte Methode kann die Zuckerbestimmung durch Titrieren nicht bezeichnet werden.

Man denke daran, daß im Harne vorhandene Pentosen ebenfalls Reduktion der Fehlingschen Lösung veranlassen; von der Anwesenheit oder der Abwesenheit der Pentosen wird man sich deshalb vorher zu überzeugen haben.

Die Fehlingsche Lösung — Kupfersulfat und Seignettesalzlösung — wird getrennt aufbewahrt und erst beim Gebrauche zu genau gleichen Teilen gemischt. Mit vier Teilen Wasser verdünnt und gekocht darf diese Lösung kein Kupferoxydul abscheiden.

Sehr wichtig ist, daß man den Wirkungswert der Fehlingschen, wie auch der weiteren Lösungen (Knapp, Sachsse) erst mit einer genau 0,5%igen Traubenzuckerlösung bestimmt und hie und da die Lösungen kontrolliert.

Darstellung dieser Lösungen.

1. Fehlingsche Lösung.

Kupfersulfatlösung. Chemisch reiner Kupfervitriol des Handels wird einmal aus verdünnter Salpetersäure, dreimal aus Wasser umkrystallisiert, zwischen Fließpapier trocken gepreßt und dann 12 Stunden an der Luft liegen gelassen. Die Lösung muß genau 34,639 g dieses umkrystallierten reinen Kupfervitriols ($CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$) in 500 ccm dest. Wasser enthalten.

Die alkalische Seignettesalzlösung enthält 173 g Seignettesalz und 53 g Ätznatron in 500 ccm Wasser.

2. Traubenzuckerlösung.

0,5 g reinster im Exsiccator getrockneter Traubenzucker wird 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 noch besser aus einer genau kalibrierten Bürette genau 20 ccm der unmittelbar vor dem Gebrauche genau zu gleichen Teilen abgemessenen und gemischten Lösung von Kupfersulfat und Seignettesalz in eine tiefere Porzellanschale (es gibt besondere Schalen mit Stiel) fließen und verdünnt mit dem vierfachen Volumen Wasser.

Das wie S. 296 bei der Vorbereitung des Harnes zur Polarisation gewonnene wasserhelle Filtrat (den mit gleichem Teile Wasser verdünnten Harn) füllt man direkt, oder wenn der Zuckergehalt ein großer ist, erst nach noch weiterer Verdünnung in eine Bürette mit Quetschhahn oder Glashahn, die man an einem Gestelle so anbringt, daß man aus der Bürette den Harn bequem in die auf einem Drahtnetze befindliche Porzellanschale, die die verdünnte und kochende Fehlingsche Lösung enthält, einfließen lassen kann.

Durch einige Vorversuche hat man zuerst zu ermitteln, welches Volumen von der gereinigten Harnlösung zum Herbeiführen der Endreaktion, zum völligen Reduzieren der 20 ccm Fehlingscher Lösung nötig ist.

Man erhitzt die verdünnte Fehlingsche Lösung zum beginnenden Kochen, läßt von dem entfärbten Harne zunächst 5 ccm zufließen und einige Sekunden kochen und wartet dann, bis sich der Niederschlag von Kuperoxydul einigermaßen abgesetzt hat und man die Farbe der darüberstehenden 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.

---

[1]) Nach einer von Naunyn angegebenen Wahrscheinlichkeitsskala kann man unter Berücksichtigung des spezif. Gewichtes und der Harnmenge den Prozentgehalt an Traubenzucker annähernd abschätzen.

Tägliche Harnmenge	Spez. Gew.	Zuckergehalt.
1500 ccm	1,030	1—2% Traubenzucker
3000 ccm	1,025	3—4% „
3000 ccm	1,030	5% und darüber „
6000—8000 ccm	1,030	8% und darüber „

Man kann bei diesem Vorversuche die ungefähre Menge des zuzusetzenden Harnes erfahren. Man fährt in dem Anstellen der Versuche — selbstverständlich stets mit einer frischen Harnmenge fort, bis bei zwei Versuchen, bei welchen nur eine um 0,1 ccm verschiedene Harnmenge angewendet wurde, in dem einen Falle noch eine Spur Kupfer, in dem anderen keine solche mehr zu erkennen ist; durch Neigen der Flüssigkeit kann man, da als Hintergrund die weiße Schalenwand dient, leicht erkennen, ob noch eine Blaufärbung vorhanden oder ob sie verschwunden ist. Ein dritter Versuch wird dann ein sicheres Resultat ergeben; es ist aber bei dem Hauptversuch absolut nötig, daß die Harnmenge möglichst auf einmal zur Fehlingschen Lösung zugesetzt und der Versuch schnell beendigt wird. Bei langsamem Arbeiten und bei längerer Dauer des Versuches ist durch den Luftsauerstoff eine abermalige Oxydation des Oxyduls und Lösung dieses in dem beim Kochen des Harnes mit Lauge aus dem Harnstoffe sich bildenden Ammoniak zu befürchten. Durch die Vorprobe kann man auch ersehen, ob der Harn zuviel verdünnt ist oder ob er noch mehr verdünnt werden muß. Zur Reduktion von 20 ccm Fehlingscher Lösung sollen, wenn die Bestimmung richtig ausfallen soll, 10—20 ccm des Harnes verbraucht werden.

1 ccm der Fehlingschen Lösung = 0,005 g Zucker (d-Glykose).

Beispiel.

Bis zur Endreaktion wurden für die angewendeten 20 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,1 g Zucker) verbraucht 20 ccm von dem Harne, der fünffach verdünnt worden war; also sind in 4 ccm ursprünglichen Harnes = 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. Man muß sich nämlich gewöhnen, schnell zu sehen, ob die über dem sich absetzenden Kupferoxydul vorhandene Flüssigkeit noch blau ist; die empfohlene, bei anderen Zuckerbestimmungen ja brauchbare Resultate gebende Prüfung zur Erkennung der Endreaktion mit Ferrocyankalium — dieses gibt in dem mit Essigsäure angesäuerten Filtrate vom ausgeschiedenen Kupferoxydul oder mit einem auf Filtrierpapier gebrachten und mit Essigsäure angesäuerten Tropfen der Flüssigkeit bei Anwesenheit von Kupfer eine Braunfärbung — ist beim Harne nicht gut brauchbar, da beim Kochen des Harnes mit der Lauge sich aus dem Harnstoffe stets Ammoniak entwickelt, das Kupferoxydul in Lösung hält und dann mit Ferrocyankalium reagiert. Auch eisenhaltige Harne — Diabetikerharne enthalten meist mehr Eisen — machen die Anwendung dieser Endreaktion unmöglich.

Übrigens ist leicht an der Farbe des Filtrates zu ersehen, ob die Endreaktion eingetreten ist oder nicht. Blaufärbung des Filtrates zeigt an, daß zu wenig, Gelbfärbung, daß zu viel von dem Harne zugesetzt wurde.

Manchmal gelingt es, durch einen kleinen Zusatz von Chlorcalcium die Flüssigkeit so zu klären, daß die Farbe dieser besser zu sehen ist. Man kocht nochmals auf und beobachtet; der entstehende Niederschlag von weinsaurem Kalk reißt das suspendierte Kupferoxydul mit nieder (Munk).

b) Titrieren nach Soxhlet.[1])

Nach Soxhlet reduzieren 50 ccm unverdünnter Fehlingscher Lösung 23,75 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung bei einer zwei Minuten betragenden Kochdauer.

Ausführung.

Durch Vorversuche hat man den Zuckergehalt des Harnes annähernd festgestellt und eine etwa 1% Zucker enthaltende Lösung bereitet. Man verwendet das Filtrat von dem, wie angegeben, vorbereiteten Harne. Enthält der Harn wenig Zucker, so konzentriert man das Filtrat von einer abgemessenen, entsprechend größeren Harnmenge.

50 ccm der unverdünnten Fehlingschen Lösung werden in der Schale zum Kochen erhitzt; in diese läßt man etwa 23 ccm der ungefähr 1%igen Lösung aus einer Bürette auf einmal einfließen; man erhält dann genau zwei Minuten lang im Kochen. Ist die Lösung oder das Filtrat (doppeltes Faltenfilterchen) blau oder grünlich, so wiederholt man den Versuch mit einer größeren Menge der Zuckerlösung; ist das Filtrat gelb, so setzt man 1 ccm der Zuckerlösung weniger zu. Man fährt in der Anstellung der Versuche fort, bis zwei Versuche, bei welchen nur um 0,1 ccm verschiedene Harnmengen angewendet werden, Filtrate geben, von denen das eine kupferhaltig, das andere kupferfrei ist. 50 ccm Fehlingsche Lösung = 0,2375 g Traubenzucker, 1 ccm = 0,00475 g Zucker.

c) Jodometrische Bestimmungen.

Von E. Riegler[2]), dann von K. B. Lehmann[3]) wurden zur Harnzuckerbestimmung Verfahren nach dem zuerst von E. de Haën[4]) befolgten angegeben; diese beruhen darauf, daß im

[1]) Journ. prakt. Chem. (N. F.) 1880. **21.** 227. 289.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1898. **37.** 22.
[3]) Archiv Hyg. 1898. **30.** 267.
[4]) Liebigs Annal. 1854. **91.** 237

Filtrate von der Kupferoxydulausscheidung der nicht verbrauchte Kupfergehalt auf jodometrischem Wege ermittelt wird; durch Zugeben von Schwefelsäure und Jodkalium zum Filtrate wird eine der Menge des vorhandenen Kupfers proportionale Menge Jod frei, die durch Natriumthiosulfat bestimmt wird.

$$2\,CuSO_4 + 4\,KJ = 2\,CuJ + J_2 + 2\,K_2SO_4;$$
$$J_2 + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6;$$
$$1\text{ At. Jod} = 1\text{ At. Cu.}$$

F. Lehmann, E. Rupp und F. Lehmann[1]) brachten eine Abänderung dieses Verfahrens.

Zu dem von diesen befolgten Wege bemerkt schon F. N. Schulz[2]), daß die Reduktion bei Verwendung der Allihnschen Zuckertabelle genau nach der Vorschrift vorzunehmen ist, die für die betreffende gravimetrische Bestimmung nach Pflüger-Allihn gültig ist, da die zu gleichen Kupfermengen zugehörigen Zuckermengen ganz von den Versuchsbedingungen abhängen.

Darauf weisen auch Ruos[3]), E. Schowalter[4]) und C. Frerichs u. E. Mannheim[5]) hin; letztere sagen, daß das Verfahren an sich fehlerfrei ist, daß nur die Allihnsche Tabelle hier einer Richtigstellung bedarf. Rupp und Lehmann lassen 15 ccm Kupferlösung verwenden, Allihn hat seine Tabelle unter Verwendung von 30 ccm Kupfersulfatlösung berechnet; man müßte, wie dies von Schoorl[6]) geschah, die Tabelle berechnen, nach Frerichs und Mannheim soll man sie aber entbehren können, wenn man mit einem Mittelwert rechnet (1 ccm $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung = 3,33 mg Traubenzucker), wobei der Fehler der Berechnung im ungünstigsten Falle nur $^1/_{20}$ der Traubenzuckermenge beträgt.

1. Ausführung der Bestimmung nach Frerichs und Mannheim.

Einstellung der Kupfersulfatlösung.

Man kocht ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 15 ccm alkalischer Tartratlösung (also Fehlingscher Lösung, s. S. 307) und 50 ccm Wasser etwa 2 Minuten lang, kühlt ab, setzt 2,5 g Jodkalium, 25 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 + 5), 50 ccm Wasser und 10 ccm Stärkelösung hinzu und titriert mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (S. 119).

Bestimmung des Traubenzuckers im Harne.

Man verdünnt 10 ccm Harn mit 20 ccm Wasser, erhitzt ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 15 ccm alkalischer Tartratlösung und 35 ccm Wasser oder ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 5 g Kaliumnatriumtartrat, 9 ccm 15%iger Natronlauge und 40 ccm Wasser zum Sieden, läßt 10 ccm verdünnten Harn zufließen, erhitzt von neuem, erhält die Flüssigkeit etwa 2 Minuten im Sieden, kühlt ab, setzt 2,5 g Jodkalium, 25 ccm verdünnte Schwefelsäure, 50 ccm Wasser und 10 ccm Stärkelösung zu und titriert mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung. Liegt der gefundene Zuckergehalt unter 1% oder über 3,5%, so wiederholt man die Bestimmung in der oben angegebenen Weise mit 10 oder 20 ccm unverdünntem Harne oder mit 5 ccm verdünntem Harne. Wenn man 10 oder 20 ccm unverdünnten Harn verwendet, dann hat man die im Harne enthaltene geringe Menge an Jod reduzierenden Substanzen zu berücksichtigen, indem man die gleiche Menge Harn mit 2—3 ccm verdünnter Schwefelsäure und 5 ccm Stärkelösung versetzt, mit $^n/_{10}$ Jodlösung titriert und die verbrauchte Anzahl ccm Jodlösung von der bei der Bestimmung erhaltenen Thiosulfatzahl in Abzug bringt.

2. Verfahren nach J. Bang.[7])

Prinzip.

Das Kupferoxydul wird hier direkt jodometrisch bestimmt; das Oxydul muß aber in Lösung gehalten werden, was durch Verwendung einer reichlichen Menge Kaliumchlorid geschieht, wodurch ein komplexes Kupro-Kaliumchlorid gebildet wird, das beim Verdünnen mit Wasser unter Ausscheidung von Kupferoxydul hydrolytisch dissoziiert wird. Da das gelöste Kupferoxydul besonders in der Wärme von der Luft rasch oxydiert wird, muß man abkühlen, ohne daß Luft zutritt. $CuCl + KCl + J = CuCl_2 + KJ$. Empfehlenswert ist es, die jodbindenden Stoffe des Harnes durch Blutkohle-Alkohol (Seite 274) zu entfernen. Bei einem, wie es gewöhnlich der Fall ist, strohgelb gefärbten Harne spielen diese Stoffe keine Rolle, dunkelgefärbter Harn muß aber unbedingt entfärbt werden.

Erforderliche Lösungen.

1. Die Kupferlösung enthält 2,65 g Kupfersulfat ($CuSO_4.5H_2O$) und 100 g Kaliumbikarbonat ($KHCO_3$); diese Salze werden zuerst in einem 2 L.-Kolben mit Hilfe von etwa 1 L.

---

[1]) Archiv Pharm. 1909. **247**. 516; Apoth.-Ztg 1909. **24**. 73.
[2]) Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1916. **55**. 1.
[4]) Zeitschr. Unters. Nahrungs- u. Genußmitt. 1918. **36**. 180; 1919. **38**. 221.
[5]) Archiv Pharm. 1916. **254**. 138.
[6]) Zeitschr. angew. Chem. 1899. 633.
[7]) Lehrbuch der Harnanalyse. J. F. Bergmann, Wiesbaden 1918.

Wasser gelöst; schließlich kommen noch 60 g Kaliumcarbonat (K_2CO_3) und 450 g Kaliumchlorid (KCl) hinzu. Nach Auflösung der Salze füllt man mit Wasser bis zur Marke auf. Die Lösung ist haltbar.

2. Eine $^n/_{25}$ Jodlösung.

Ausführung.

Man bringt 55 ccm der alkalischen, fertiggestellten Kupferlösung in einen 100 ccm fassenden Kolben von Jenaer Glas, setzt 2 ccm Harn, der nicht über 1% Zucker enthalten darf, hinzu und erhitzt die Mischung über dem Drahtnetze bis zum Sieden. Den Kolben hat man mit einem Stopfen mit Bunsenventil (Seite 76) verschlossen. Zum Beginne des Siedens sollen etwa $3^1/_2$ Minuten nötig sein; man läßt die Flüssigkeit beinahe 3 Minuten kochen; während des Kochens entweicht Wasserdampf durch die Spaltöffnung des Gummischlauches, nach Entfernung des Brenners schließt der Überdruck der Luft die Öffnung; die oben erwähnte Oxydation wird verhindert. Nach dem Abkühlen des Kolbens entfernt man den Stopfen, setzt 8—10 Tropfen Stärkelösung und von einer $^n/_{25}$ Jodlösung soviel ccm hinzu, bis die Farbe in tiefultramarinblau umschlägt; ein Schütteln der Flüssigkeit vermeidet man und beschränkt sich auf ein leises Umrühren. Trotzdem die Flüssigkeit beim Durchsehen blau gefärbt ist, kann man den Umschlag sehr leicht bis auf einen Tropfen Jodlösung genau beobachten. Zur Berechnung der Zuckermenge bedient man sich folgender Tabelle:

mg Zucker	ccm $^n/_{25}$ Jodlösung	mg Zucker	ccm $^n/_{25}$ Jodlösung
1	0,73	6	4,15
2	1,45	7	4,85
3	2,20	8	5,50
4	2,95	9	6,20
5	3,65	10	6,93

1 mg Zucker = 0,7 ccm Jodlösung. Annähernd richtige Werte kann man auch durch Division der verbrauchten Menge Jod mit 0,73 erhalten.

Beurteilung.

Nach Bang bestehen die Vorteile der Methode gegenüber der von Lehmann darin, daß man das reduzierte Oxydul direkt bestimmt und nicht aus der Oxydmenge im Überschuß berechnet, und daß weiter der Jodverbrauch ein geringer ist. Mit Ausnahme des Verfahrens von Bertrand, das Bang als einfach, bequem und genau bezeichnet, fallen die Ergebnisse genauer aus, als bei den meisten anderen Verfahren. Die Methode besitzt endlich gegenüber sämtlichen anderen den Vorzug, daß man selbst minimale Zuckermengen ebenso genau oder sogar noch genauer wie größere bestimmen kann. Diabetischen Harn soll man vorher mit 10 Vol. Wasser verdünnen.

3. Die jodosaccharometrische Methode nach H. Citron.[1])

Das Prinzip ist das gleiche wie bei der Titrationsmethode nach Lehmann. Es ist von Schoorl 1899 angegeben worden.

Citron hat eine Bürette mit automatischer Füllung und Nullpunkteinstellung ohne Büretten-halter konstruiert, deren graduierter Fassungsraum auf 27,8 ccm bemessen ist; der tiefste Punkt ist mit 0% bezeichnet; diese 27,8 ccm wurden gewählt, da die 20 ccm Fehlingscher Lösung so viel Kupfer enthalten, daß die auf Jodkaliumzusatz freiwerdende Jodmenge durch 27,8 ccm $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung gebunden wird; 20 ccm Fehlingscher Lösung = 176 mg Cu = 90 mg Zucker = 9 g Zucker in 100 ccm Harn bei Anwendung von 1 ccm Harn für die Bestimmung.

Der Zwischenraum an der Bürette vom obersten Punkt bis zum tiefsten (0%) ist in Abständen von etwa 0,1% der Allihnschen Tabelle entsprechend graduiert, so daß jede Berechnung in Wegfall kommt.

Erforderliche Lösungen sind:

1. 173 g Seignettesalz löst man in 250 ccm Wasser unter Erwärmen auf, trägt 50 g Natriumhydrat in Stücken ein, filtriert, läßt erkalten und abkühlen und füllt auf 500 ccm auf.
2. 34,639 g reinster Kupfervitriol werden zu 500 ccm Wasser gelöst.
3. $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung. Diese bereitet man aus der Normallösung. 50 ccm werden mit Wasser auf 500 ccm aufgefüllt; es wird 1 g Ammoniumcarbonat in Substanz zugegeben. Letzteres soll verhindern, daß Kupferjodür in Lösung geht.
4. 20%ige Jodkaliumlösung, in dunkler Flasche verwahrt.
5. Natriumbisulfat.
6. Stärkelösung; man stellt sich diese aus der löslichen Stärke her.

Zur Ausführung der Bestimmung mißt man in die Porzellanschale mit Stiel sorgfältig 20 ccm Fehlingscher Lösung und 1 ccm Harn — bei geringem Zucker- und starkem Harnsäuregehalte fand Citron es zweckmäßig, den Harn durch Tierkohle zu filtrieren und 2 ccm Harn zu verwenden, Resultat durch 2 teilen —, erhitzt zum Sieden und läßt $1^1/_2$ Minuten schwach kochen;

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1904. **30.** 1603.

den Schaleninhalt gießt man auf das gut in den Trichterhals eingesteckte Filter, das wenig gepulverten Bimsstein enthält. Der kurz abgeschnittene Trichter befindet sich in einem Glas, das zwei Teelöffel voll Natriumbisulfat enthält und in eine mit kaltem Wasser gefüllte Schale gestellt ist. Die Porzellanschale füllt man bis zum dritten Teil mit destilliertem Wasser, kocht abermals und wäscht mit dem siedenden Wasser das nunmehr fast leere Filter aus. Ein weiteres Auswaschen ist unnötig. Nach dem Abkühlen des Filtrates gibt man 5—10 ccm Jodkaliumlösung zu und rührt kräftig um; es muß ein dicker, lehmartiger Niederschlag entstehen, andernfalls ist noch etwas Natriumbisulfat zuzusetzen.

Nunmehr bringt man das Glas mit der Flüssigkeit unter die auf neun eingestellte Bürette, läßt langsam die Thiosulfatlösung zutropfen, bis die Färbung etwas hell wird, gibt Stärkelösung hinzu und öffnet die Schraube so weit, daß in der Sekunde etwa 2 Tropfen austreten. Beginnt die Flüssigkeit unter kräftigem Rühren momentan ins Weißliche umzuschlagen, um sich rasch wieder blau zu färben, so legt man Daumen und Zeigefinger der linken Hand an das Schlauchstück oberhalb der Schraube, läßt durch Fingerdruck immer je 5 Tropfen auf einmal zufließen und rührt nach jedesmaligem Zusatz kräftig um.

Sobald der sehr prägnante Umschlag in Weiß stattgefunden und, ohne nachzubläuen, eine Minute angehalten hat, schließt man die Schraube und liest das Resultat ab. Der Apparat — das Jodosaccharometer — ist zu beziehen von der Firma R. Kallmayer & Co. in Berlin.

Ein Glukometer benannter Apparat wird ebenfalls von Citron[1]) beschrieben; das Verfahren beruht auf dem von Bang angegebenen.

Beurteilung der jodosaccharometrischen Probe.

Gibt im allgemeinen für klinische Zwecke brauchbare Ergebnisse.

d) Die Titriermethode nach Pavy.[2])

1. Ausführung nach H. Sahli.[3])

Prinzip.

Es wird eine ammoniakalische Kupferlösung verwendet, die das ausgeschiedene Kupferoxydul in Lösung hält.

Erforderliche Lösungen:

Lösung 1:

Krystallisiertes reines Kupfersulfat	4,158 g
Destilliertes Wasser	ad 500 ccm

Lösung 2:

Seignettesalz	20,4 g
Reines Ätzkali	20,4 g
Ammoniak (spez. Gew. 0,88)	300,0 g
Destilliertes Wasser	ad 500 ccm.

Man mischt zum Gebrauche je 5 ccm von Lösung 1 und 2 und erhält damit 10 ccm einer Flüssigkeit, die vollkommen der ursprünglichen Pavyschen Lösung entspricht und von der also 10 ccm 0,005 g Glykose entsprechen.

In einem Erlenmeyerkölbchen von 75—100 ccm Inhalt werden 10 ccm Pavyscher Lösung, oder je 5 ccm der Lösung 1 und 2 mit einer Pipette genau abgemessen und 30 ccm destillierten Wassers hinzugefügt. Das Kölbchen wird auf einem mit Asbest durchsponnenen Drahtgeflechte auf einen Dreifuß von etwa 20 cm Höhe über einen Brenner, der regulierbar ist, gestellt. Wenn man kein solches Drahtgeflecht besitzt, kann man statt dessen auch dünnen Asbestkarton oder eine Schale aus Eisen oder Nickel benützen, deren Boden mit einer einige Millimeter dicken Schicht von gebrannter Magnesia bedeckt ist. Der Asbest oder die Magnesia dienen dazu, beim Kochen die Hitzeeinwirkung zu mäßigen und außerdem für die Feststellung der Farbenveränderung einen weißen Hintergrund abzugeben. Der zu untersuchende Urin oder eine Verdünnung desselben — die genauesten Resultate erhält man, wenn man die Verdünnung des Harnes so wählt, daß man davon 5—10 ccm zusetzen muß, um die verwendete Menge von 10 ccm Pavyscher Lösung zu reduzieren, es entspricht dies einem Zuckergehalte der Verdünnung von $^1/_2$—1‰ — wird in eine Bürette mit Quetschhahn gefüllt und diese in einem Stative oder Bürettenhalter seitwärts vom Dreifuß aufgestellt. Man erhitzt das Kölbchen mit Inhalt und reguliert die Größe der Flamme derart, daß die Flüssigkeit zwar deutlich, aber nicht zu stark siedet. Dann nimmt man die Bürette in die Hand und setzt nun vorsichtig, die allmähliche Entfärbung beobachtend, entweder in rascher Tropfenfolge oder in ganz kleinen Güssen von dem verdünnten Harne zur Kupferlösung; man reguliert das Zufließen in der Weise, daß das Kochen niemals unterbrochen

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1918. **65.** 1053.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1880. **19.** 98; Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1901. 321.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1905. **31.** 1417.

wird; nötigenfalls muß auch noch während der Bestimmung selbst die Flammengröße reguliert werden. Im Anfange kann der Zusatz rasch, nachher, wenn man in die Nähe der Endreaktion (Entfärbung) kommt, muß er immer vorsichtiger und langsamer geschehen, da man sonst leicht über die Endreaktion hinausgeht, weil gegen das Ende hin die Reduktion träger erfolgt als im Anfange. Gewöhnlich ist die Endreaktion, d. h. die völlige Entfärbung der siedenden Flüssigkeit leicht und scharf zu erkennen. Man hält sich bei der Beurteilung der Entfärbung am besten an die hellschimmernden, lichtstarken Reflexe, die das Kölbchen infolge der totalen Reflexion des durch die Flüssigkeit fallenden Lichtes an gewissen Stellen darbietet. Diese sollen wegen des weißen Untergrundes, auf dem das Kölbchen steht, bei der völligen Entfärbung der Flüssigkeit vollkommen weiß oder farblos erscheinen.

Die Berechnung ist eine sehr einfache. Sind z. B. für die 10 ccm der Pavyschen Lösung 7 ccm des Harnes, der 4fach verdünnt worden ist, verbraucht, so entspricht dies:

$$7 : 0{,}005 \text{ Glykose} = 100 : x; \quad x = 0{,}0714 \cdot 4 = 0{,}2856\,\% \text{ Zucker.}$$

Beurteilung.

Man nimmt die Bestimmung am besten in der folgenden Modifikation von Kumagawa-Suto vor.

2. Ausführung der Pavyschen Methode nach Kumagawa-Suto.[1])

Es wird ein Entweichen von Ammoniakdämpfen durch eine besondere Vorrichtung verhütet und eine Oxydation des Oxyduls verhindert. Es wird die Einwirkung der Luft ausgeschlossen.

Erforderliche Lösungen:

1. Krystallisiertes Kupfersulfat 4,278 g wird mit Wasser auf 1 Liter gelöst.
2. 21 g Seignettesalz, 21 g Ätzkali, 300 ccm konz. Ammoniaklösung (spez. Gew. 0,880) werden mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt.

Zum Reduzieren wird ein Rundkolben mit am Halse seitlich angeschmolzenem Rohre verwendet (Fig. 60). Die Bürette, in der der Harn sich befindet, ist an einem Gestell in der Weise angebracht, daß die Spitze durch einen Gummistopfen in den Hals des Kolbens mündet. Der Kolben wird mit dem Stopfen fest verschlossen. Um das Verschwinden der blauen Farbe deutlich zu erkennen, ist hinter dem Kolben eine weiße Porzellanplatte angebracht. Das erwähnte Ansatzrohr wird durch einen dickwandigen Schlauch mit einem rechtwinklig gebogenen Glasrohr von möglichst langer Mündung verbunden; dieses Glasrohr ist unten mit einem Glasschwimmer als Ventil versehen und taucht in eine in einem etwa 500 ccm fassenden Erlenmeyerkolben befindliche Lösung von etwa 50 ccm konz. Schwefelsäure, 100 ccm Wasser und 1—2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung. Der Glasschwimmer mit Ventil verhindert das Zurücktreten von Flüssigkeit und von Luft in den Reduktionskolben; die Schwefelsäure dient zum Binden des Ammoniaks. Das Ableitungsrohr geht durch einen im Erlenmeyerkolben befindlichen Kork. In diesem Kork befindet sich noch ein kleines Glasrohr zum Entweichen von Luft usw.

20 ccm der Kupfersulfatlösung (genau abpipettiert) und 20 ccm der alkalischen Seignettesalzlösung werden in den wie angegeben verschlossenen Reduktionskolben gebracht und erhitzt, um die Luft aus dem Kolben zu entfernen. Hierauf wird die Flamme so reguliert, daß die Lösung nur schwach siedet, um das Entweichen von zu viel Ammoniak und ein Ausscheiden von Kupferoxydul zu vermeiden und zu verhindern. Man läßt nun aus der Bürette von dem vorbereiteten Harne (am besten wird er so verdünnt, daß er etwa

---

[1]) Schulz, Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910. Festschrift für A. Salkowski 1904. 211.

0,2% Zucker enthält (Kinoshita[1])) 2—3 ccm in der Minute zufließen so lange, bis die blaue Farbe fast, doch noch nicht ganz verschwunden ist. Man wartet etwa 2 Minuten und gibt noch 1—2 Tropfen hinzu und so fort, bis die blaue Farbe eben vergangen ist; wird zu viel Harn zugesetzt,

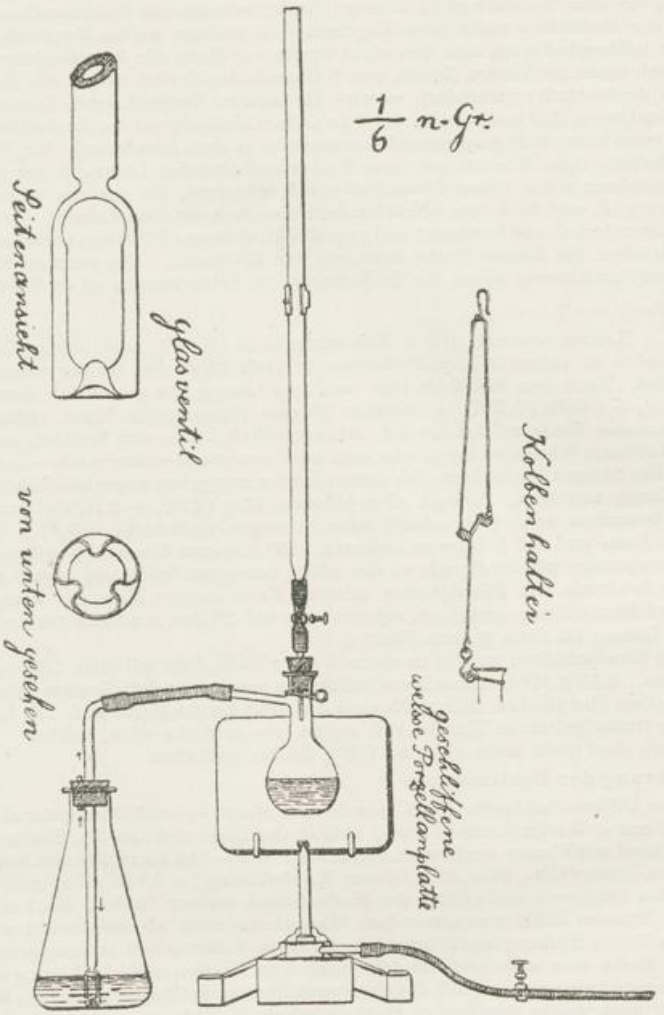


Fig. 60.

so entsteht Gelbfärbung des Kolbeninhaltes, die aber auch, wenn zu viel Ammoniak entschwunden ist, eintreten kann. 40 ccm der ammoniakalischen Lösung = 0,01 g Zucker.

Beurteilung.

In dieser Ausführung ist die Methode zuverlässig und brauchbar.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1908. **9.** 219.

e) Bestimmung nach J. Bang.[1]) (Hydroxylaminverfahren.)

Prinzip.

Weißes Kupferrhodanür ist bekanntlich leicht löslich in fixen Alkalien; deswegen gelingt die Ausfällung des Kupferoxyduls als Rhodanür durch Zusatz von Rhodankalium zur Fehlingschen Lösung nicht. Wohl aber geht, wie Bang gefunden hat, diese Ausscheidung vor sich, wenn an Stelle der fixen Alkalien in der Lösung nur Carbonate vorhanden sind. So scheidet sich bei der Verwendung von einer Soldainschen Lösung (Kupfercarbonat und Kaliumcarbonat) mit Rhodankalium bei der Reduktion nicht rotes Kupferoxydul, sondern weißes Kupferrhodanür aus, das vollkommen luftbeständig ist, sich also nicht wieder oxydiert; die Ausscheidung ist eine quantitative. Durch einen reichlichen Zusatz von Kaliumrhodanid wird zudem die Ausscheidung von Oxydul (Kupferrhodanür) verhindert, es wird als farblose Verbindung in Lösung gehalten. Es steht nichts entgegen, daß man wie bei der Pavyschen Methode mit der Zuckerlösung bis zur Entfärbung titrieren kann; weit genauer und bequemer ist es aber, immer noch Kupferoxyd im Überschusse zu haben. Beim Kochen mit einer Zucker enthaltenden Lösung findet folglich nur eine teilweise Entfärbung statt. Dieser Überschuß von Kupferoxyd, der von der vorhandenen Zuckermenge abhängig ist, wird nach dem Abkühlen der Flüssigkeit mit einer Lösung von schwefelsaurem Hydroxylamin reduziert und bestimmt und zwar direkt, ohne eine Filtration vornehmen zu brauchen. Das Verschwinden der blauen Farbe markiert den Endpunkt. Die verbrauchten Kubikzentimeter Hydroxylaminlösung geben die Zuckermenge in Milligrammen an (s. Tabelle S. 315).

Erforderliche Lösungen.

1. 500 g Kaliumcarbonat, 400 g Kaliumrhodanid (KCNS) und 100 g Kaliumbicarbonat ($KHCO_3$) werden in einem 2 Liter-Meßkolben in etwa 1200 ccm Wasser unter Erwärmen bei etwa 60° gelöst. Nach dem Abkühlen fügt man eine Lösung von genau 25 g gereinigten Kupfervitriols ($CuSO_4 + 5H_2O$) (S. 307) in ungefähr 150 ccm Wasser gelöst hinzu, spült nach und füllt genau in bekannter Weise auf 2 Liter auf. Als vorteilhaft hat es sich bewährt, erst die 100 g Bicarbonat in 1300 ccm Wasser zu lösen, was auch bei Zimmertemperatur rasch — in einigen Minuten — erfolgt. Die übrigen Salze lösen sich dann nachher zugegeben augenblicklich auf. Jetzt wird die Kupferlösung zugesetzt. Anstatt aber jedesmal 25 g $CuSO_4 + 5H_2O$ abzuwägen, ist es zu empfehlen, besonders wenn man schnell seine Lösungen verbraucht, 166,67 g $CuSO_4 + 5H_2O$ in Wasser zu lösen und auf 1 Liter zu ergänzen. 150 ccm von dieser Kupferlösung werden dann bei Zimmertemperatur mit der Pipette zu der schon bereiteten Salzlösung zugefügt, wonach man durch leises Schütteln die Flüssigkeiten mischt. Nach einigen Minuten, wenn die schwache Kohlendioxyd-Entwicklung vorbei ist, ergänzt man auf 2 Liter, schüttelt gut durch und filtriert gleich. Die Lösung ist dann gebrauchsfertig.

2. 200 g Rhodankalium werden in einem 2 Liter Meßkolben mit etwa 1500 ccm destillierten Wassers gelöst. 6,55 g Hydroxylaminum sulfuricum werden in destilliertem Wasser gelöst und in den Meßkolben übergeführt. Man spült nach und füllt bis zur Marke auf. Die Lösung verwahrt man in einer dunkelgefärbten Flasche auf; sie ist, wie auch die erste, haltbar.

Der Harn darf nicht mehr als etwa 0,5% Zucker enthalten.

Ausführung der Bestimmung:

Mit einer Differentialpipette führt man 10 ccm Harn (— enthält er mehr als 0,6% Zucker, nur 5 oder 2 ccm + 5 oder 8 ccm Wasser; enthält der Harn mehr als 3% Zucker, so muß man erst entsprechend mit Wasser verdünnen, vielleicht 1 + 9 —) in einen 200 ccm fassenden Kolben, am besten aus Jenaer Glas, über, läßt 50 ccm Kupferlösung (= 0,156 g Cu) zufließen, stellt den Kolben auf das Drahtnetz und erhitzt den Kolbeninhalt bis zum Sieden. Nach einer Kochdauer von genau 3 Minuten kühlt man unter dem Wasserhahn rasch ab und titriert mit der in einer Bürette befindlichen Hydroxylaminlösung, bis der blaue Kolbeninhalt farblos (gelblich) geworden, bis die blaue Farbe eben verschwunden ist. Nach dem Kochen muß die Lösung noch blau sein; eine Entfärbung würde anzeigen, daß der zugesetzte Harn zuviel Zucker enthielte; die Bestimmung muß mit dem noch weiter verdünnten Harne wiederholt werden.

Beurteilung.

Die Bangsche Methode liefert nach dem Ergebnis der Nachprüfung gute Werte. H. Laveson[2]), H. Jessen-Hansen[3]), A. C. Anderson[4]), P. Dilg[5]) empfehlen diese Methode als eine sehr geeignete. Alle erwähnen, daß man genau nach der Vorschrift arbeiten muß; nach H. Jessen-Hansen wird das Hinzufügen der Titrierflüssigkeit am besten so geregelt, daß

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1906. **2.** 271; Berl. klin. Wochenschr. 1907. **44.** 216. Methode der Zuckerbestimmung, Verlag von J. Springer, Berlin 1908. Biochem. Zeitschr. 1911. **32.** 443.

[2]) Biochem. Zeitschr. 1907. **4.** 40.

[3]) Chem. Ztg. Repert. 1909. **33.** 418.

[4]) Ebenda. 1909. **33.** 418; Biochem. Zeitschr. 1910. **26.** 157.

[5]) Münch. med. Wochenschr. 1908. **55.** 1279.

Vollständige Reduktionstabelle.

Hydroxylaminlösung verbraucht	mg Zucker	Hydroxylaminlösung verbraucht	mg Zucker
0,75	60,0	25,00	24,1
1,00	59,4	25,50	23,5
1,50	58,4	26,00	22,9
2,00	57,3	26,50	22,3
2,50	56,2	27,00	21,8
3,00	55,0	27,50	21,2
3,50	54,3	28,00	20,7
4,00	53,4	28,50	20,1
4,50	52,6	29,00	19,6
5,00	51,6	29,50	19,1
5,50	50,7	30,00	18,6
6,00	49,8	30,50	18,0
6,50	48,9	31,00	17,5
7,00	48,0	31,50	17,0
7,50	47,2	32,00	16,5
8,00	46,3	32,50	15,9
8,50	45,5	33,00	15,4
9,00	44,7	33,50	14,9
9,50	44,0	34,00	14,4
10,00	43,3	34,50	13,9
10,50	42,5	35,00	13,4
11,00	41,8	35,50	12,9
11,50	41,1	36,00	12,4
12,00	40,4	36,50	11,9
12,50	39,7	37,00	11,4
13,00	39,0	37,50	10,9
13,50	38,3	38,00	10,4
14,00	37,7	38,50	9,9
14,50	37,1	39,00	9,4
15,00	36,4	39,50	9,0
15,50	35,8	40,00	8,5
16,00	35,1	40,50	8,1
16,50	34,5	41,00	7,6
17,00	33,9	41,50	7,2
17,50	33,3	42,00	6,7
18,00	32,6	42,50	6,3
18,50	32,0	43,00	5,8
19,00	31,4	43,50	5,4
19,50	30,8	44,00	4,9
20,00	30,2	44,50	4,5
20,50	29,6	45,00	4,1
21,00	29,0	45,50	3,7
21,50	28,3	46,00	3,3
22,00	27,7	46,50	2,9
22,50	27,1	47,00	2,5
23,00	26,5	47,50	2,1
23,50	25,8	48,00	1,7
24,00	25,2	48,50	1,3
24,50	24,6	49,00	0,9

Für jeden $^1/_{10}$ ccm Hydroxylaminlösung Mehrverbrauch, als in der Tabelle angeführt, wird zwischen 49,00—15,00 **0,1** mg Zucker und zwischen 15,00—1,0 **0,2** mg Zucker von dem entsprechenden Zuckerwerte subtrahiert.

20 ccm im Laufe von 15 Sekunden zugesetzt werden; man nimmt die Titration bei etwa 32° C vor. Von Anderson wird die Entfernung der Stoffe, die ebenfalls reduzieren, empfohlen; dies halte ich besonders bei einzelnen Harnen für notwendig; die Eigenreduktion des Harnes ist nach A. am größten bei Fieberharn, am kleinsten bei Diabetikerharn; A. empfahl zuerst Bleiacetat, dann Mercurinitrat (50 ccm Harn + 25 ccm der Mercurinitratlösung, 10%ige Natronlauge bis zur Neu-

tralisation und Verdünnen auf 100 ccm), später die Verwendung von Mercuriacetat, das C. Neuberg[1]) verwendet, der die Bangsche Methode empfiehlt und bemerkt, daß mit ihr, was Bequemlichkeit und Genauigkeit anbelangt, nur das Verfahren Pavy-Kumagawa-Suto-Kinoshita konkurieren kann. Siehe S. 274 u. 296.

J. Bang und G. Bohmannsson[2]) nehmen die Reinigung des Harnes in folgender Weise vor: 20 ccm Harn werden mit 5 ccm 25%iger Salzsäure und 2 g Blutkohle (feuchte oder bei 100° vollständig entwässerte und pulverisierte) versetzt. Man schüttelt einigemal während 5 Minuten und filtriert.

C. Funck[3]) will etwas zu hohe Werte, bis 0,7%, erhalten haben; J. Tolenaar[4]) hält die Methode weder für leicht ausführbar, noch für ganz zuverlässig; dieses Urteil ist nicht ganz zutreffend.

f) Titriermethode nach G. Bertrand.[5])

Nach G. Sonntag[6]) war dieses Verfahren im Prinzip schon vor Bertrand bekannt und von Sonntag auf Grund der älteren Angaben bereits vor Jahren besprochen worden.

Prinzip.

Das beim Kochen mit einer im Überschusse zugegebenen Fehlingschen Lösung abgeschiedene, ausgewaschene Kupferoxydul wird in einer Lösung von Ferrisulfat in Schwefelsäure gelöst und das entstandene Ferrosalz mit einer Permanganatlösung von bekanntem Gehalte (mit Ammoniumoxalat eingestellt) titriert.

$$Cu_2O + Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2\,CuSO_4 + H_2O + 2\,FeSO_4;$$
$$10\,FeSO_4 + 2\,KMnO_4 + 8\,H_2SO_4 = 5\,Fe_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 2\,MnSO_4 + 8\,H_2O;$$
$$5\,C_2H_2O_4 + 2\,KMnO_4 + 3\,H_2SO_4 = 10\,CO_2 + 2\,MnSO_4 + K_2SO_4 + 8\,H_2O.$$

Erforderliche Lösungen.

1. 40 g reines kryst. Kupfersulfat werden in Wasser gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt.
2. 200 g reines Seignettesalz, 150 g Natriumhydroxyd in Stangen werden in Wasser gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt.
3. 50 g Ferrisulfat werden in Wasser gelöst, 200 ccm konz. Schwefelsäure hinzugegeben und mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt. Die Lösung muß frei sein von Ferrosulfat und von anderen reduzierenden Stoffen.
4. 5 g Kaliumpermanganat werden zu 1 Liter Wasser gelöst.

Die Kaliumpermanganatlösung wird auf ihren Wirkungswert mit Ammoniumoxalat ($C_2O_4(NH_4)_2 \cdot 2\,H_2O$) geprüft. 0,250 g (genau gewogen) dieses Salzes werden in einem Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Wasser und 2 ccm reiner konz. Schwefelsäure auf 60—70° erwärmt und mit der Permanganatlösung titriert, bis Rosafärbung eintritt. 1 Mol. Ammoniumoxalat (142,1) = 2 Fe = 2 Cu = 127,2 Cu oder die Menge Kaliumpermanganatlösung, die 1 g Ammoniumoxalat oxydieren kann, entspricht nach der Gleichung 142,1 : 127,2 = 1 : x; x = 0,8951 = 0,8951 g Kupfer.

Ausführung der Bestimmung.

In einen Erlenmeyerkolben von 150 ccm Inhalt bringt man 20 ccm der höchstens 100 mg, am besten 10—90 mg Zucker enthaltenden Lösung und dazu je 20 ccm der Kupfer- und der Seignettesalzlösung. Man erhitzt zum Kochen und läßt genau 3 Minuten ruhig, nicht zu heftig sieden. Nach dem Absetzen des gebildeten Kupferoxyduls — die darüber stehende Flüssigkeit muß noch blau sein — bringt man die Flüssigkeit — aber möglichst wenig vom Kupferoxydulniederschlag — auf ein Asbestfilter, saugt gut ab, wäscht den Niederschlag im Kolben mit lauwarmem destilliertem Wasser aus, läßt den Niederschlag immer mit absetzen und gießt das Waschwasser durchs Asbestfilter. Zum Niederschlage, dem abgeschiedenen Kupferoxydul im Kolben, setzt man allmählich unter Umschütteln, ohne zu erwärmen, etwa 20 ccm (5—20 ccm) der Ferrisulfatlösung, wodurch das Kupferoxydul gelöst wird; die schön grüne Lösung gießt man langsam durch das wieder auf die sehr gut gereinigte Saugflasche gebrachte Filter, um auch die darauf befindliche Menge von Kupferoxydul zu lösen. Kolben und Filter werden gut mit kaltem Wasser ausgewaschen; die in der Saugflasche befindliche Flüssigkeit, d. h. die Menge des gebildeten Ferro-

---

[1]) C. Neuberg, Der Harn I. J. Springer, Berlin 1911.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **63.** 443.
[3]) Ebenda. 1908. **56.** 507.
[4]) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1907. I. 1013.
[5]) Bull. soc. chim. Paris 1906. **35.** 1285; H. Schulz, Analyse des Harnes von Neubauer-Huppert, Wiesbaden 1910; Jahresber. Fortschr. d. Tierchem. 1907. **36.** 67.
[6]) Biochem. Zeitschr. 1913. **53.** 501; Arb. Kaiserl. Ges. Amt. 1903. **19.** 447.

sulfates, wird mit der Permanganatlösung sofort und schnell titriert, um eine Oxydation des Ferrosulfates zu vermeiden, bis ein Umschlag von Grün in Rosa erfolgt ist. Der Umschlag ist scharf und gut zu erkennen.

Wenn zu konzentrierte Harne vorliegen, ist die Oxydulausscheidung oft eine unvollständige; in solchen Fällen hilft man sich nach Bang mit einer Behandlung des Harnes mit Blutkohle und Alkohol oder man nimmt den entsprechend vorbereiteten Harn (Seite 296).

Berechnung.

Man berechnet die als Oxydul ausgefällte Kupfermenge dadurch, daß man die der verbrauchten Permanganatlösung entsprechende Menge Ammoniumoxalat berechnet. Dieser Wert mit $\frac{63{,}6 \cdot 2}{142{,}1} = 0{,}8951$ multipliziert ergibt die Kupfermenge.

Für 0,250 g Ammoniumoxalat wären z. B. 22 ccm Permanganatlösung verbraucht worden; 0,25 Ammoniumoxalat = 0,2218 g Cu; 1 ccm der Permanganatlösung dann = 0,01001 g Kupfer.

Bertrand hat folgende Tabelle zur Berechnung des Zuckergehaltes aus dem Kupfergehalte angegeben.

Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg
20,4	10	64,6	33	105,8	56	144,5	79
22,4	11	66,5	34	107,6	57	146,1	80
24,3	12	68,3	35	109,3	58	147,7	81
26,3	13	70,1	36	111,1	59	149,3	82
28,3	14	72,0	37	112,8	60	150,9	83
30,2	15	73,8	38	114,5	61	152,5	84
32,2	16	75,7	39	116,2	62	154,0	85
34,2	17	77,5	40	117,9	63	155,6	86
36,2	18	79,3	41	119,6	64	157,2	87
38,1	19	81,1	42	121,3	65	158,8	88
40,1	20	82,9	43	123,0	66	160,4	89
42,0	21	84,7	44	124,7	67	162,0	90
43,9	22	86,4	45	126,4	68	163,6	91
45,8	23	88,2	46	128,1	69	165,2	92
47,7	24	90,0	47	129,8	70	166,7	93
49,6	25	91,8	48	131,4	71	168,3	94
51,5	26	93,6	49	133,1	72	169,8	95
53,4	27	95,4	50	134,7	73	171,4	96
55,3	28	97,1	51	136,3	74	173,1	97
57,2	29	98,9	52	137,9	75	174,6	98
59,1	30	100,6	53	139,6	76	176,2	99
60,9	31	102,3	54	141,2	77	177,8	100
62,8	32	104,1	55	142,8	78		

Beurteilung.

F. N. Schulz[1]) hat die Methode nachgeprüft; er findet sie leicht und rasch ausführbar und genau. Euler, C. Funck[2]), Else Hirschberg[3]) empfehlen sie ebenfalls; A. C. Anderson[4]) J. Bang und G. Bohmannsson[5]) fanden sie weniger brauchbar. Doch sagt J. Bang in seinem Lehrbuche der Harnanalyse wieder, daß das Bertrandsche Verfahren einfach, bequem und außerdem genau ist, weshalb es auch recht häufig angewendet wird. Die Methode gibt allerdings mit reinen Zuckerlösungen sehr gute Zahlen; im Harne bei dessen verschiedener Zusammensetzung liegen die Verhältnisse eben, wie bei den anderen Verfahren, auch hier anders. Die Methode ist aber brauchbar und gibt unter Beachtung der gegebenen Vorsichtsmaßregeln gute Werte. Man koche nicht zu stark und aber auch nicht zu wenig.

[1]) l. c.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **56.** 507; 1910. **69.** 72.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **86.** 484.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1909. **15.** 76.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **63.** 443.

g) Titrieren nach Reischauer.

Zur titrimetrischen Bestimmung kann man sich auch mit Erfolg, nachdem man durch eine vorläufige Titration bis auf 1—2 ccm die für 5 ccm Fehlingscher Lösung nötige Harnmenge ermittelt hat, des Reischauerschen Titrationsverfahrens — des Reischauerschen Sternes — bedienen. Dieser besteht aus einem Stativ, an dem in Klemmvorrichtungen sechs dünnwandige, I—VI bezeichnete Reagenzgläser sich befinden (Fig. 61).

Fig. 61.

Man bringt in jedes Glas mit einer Meßpipette oder aus einer Bürette 5 ccm der Fehlingschen 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 Fehlingscher Lösung etwa 20 ccm Harn 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 usw. des Harnes geben. Man stellt das Stativ mit dem Harne 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 die Menge Harn, die 5 ccm Fehlingscher Lösung zu reduzieren imstande ist, zwischen 5,0—5,5 liegen muß. Man wiederholt den Versuch in der Weise, daß man in das Glas I zur Fehlingschen Lösung 5 ccm, ins Glas II 5,1 ccm, ins Glas III 5,2 ccm, ins Glas IV 5,3 ccm, ins Glas V 5,4 und ins Glas VI 5,5 ccm von dem Harne gibt und wieder 15 Minuten erhitzt. Man erfährt dann leicht, wo die Reduktion vollkommen erfolgt ist.

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

G. O. Gaebel benützt zum Nachweis, ob noch Kupfer, Kupriionen vorhanden sind, die Eigenschaft des Kupfersalzes, aus Jodkalium Jod auszuscheiden; man gibt etwas Jodkalium hinzu, schüttelt um, säuert mit Schwefelsäure an und gibt Stärkelösung zu. Blaufärbung zeigt noch vorhandenes Kupfer an.

Beurteilung.

Die Methode gibt, zumal wenn man entsprechend vorbereiteten Harn (S. 296) anwendet und wenn man etwas eingearbeitet ist, recht gute Ergebnisse.

h) Eine von A. Duhomme[1]) veröffentlichte Bestimmungsmethode des Traubenzuckers mit Fehlingscher Lösung haben L. Vanino und F. Bertele[2]) einer Nachprüfung unterzogen, da dieses in Vergessenheit geratene Verfahren, auch unter dem Namen „Limousin"[3]) bekannt, auf Grund ihrer Nachprüfung durch die Einfachheit der Hilfsmittel, der Handhabung und Berechnung des Ergebnisses sich auszeichnet.

Der sog. Limousinsche Apparat besteht aus 2 Tropfenzählern, die genauestens geeicht sein müssen; der eine ist für den Harn bestimmt und auf 1 ccm geeicht, der andere dient für das Abmessen des Reagens, 2 ccm Fehlingscher Lösung von der üblichen genau hergestellten Zusammensetzung (Seite 307).

Die getrennt hergestellten Lösungen (Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung) werden vor dem Gebrauch zu genau gleichen Teilen gemischt. 2 ccm der Fehlingschen Lösung werden durch 0,950 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung, 2 ccm der Fehlingschen Lösung + 2 ccm Wasser durch 0,974 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung und 2 ccm Fehlingscher Lösung durch 1,914 ccm einer 0,5%igen Traubenzuckerlösung reduziert.

Zur Vornahme der Bestimmung muß man, kurz erwähnt,

1. genau 1 ccm von dem zu prüfenden, eiweißfreien Harne mit dem Tropfenzähler, der Harnpipette, in Tropfen auszählen und die gefundene Zahl notieren;

2. bringt man dann 2 ccm Fehlingscher Lösung in ein Reagenzglas; durch Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser kann man den Endpunkt der Reaktion leichter erkennen. Die Fehlingsche Lösung erhitzt man zum Sieden und gibt tropfenweise aus der Harnpipette solange Harn dazu, bis die blaue Farbe des Reagens gerade zum Verschwinden gebracht wird. Der End-

---

[1]) Répert. d. pharm. 1874. S. 67; Bullet. général d. therap. 1875. **90.** 163. 214. 261; Bullet. et memoir. d. therapeut. le 28. II. 1876.

[2]) Archiv Pharm. 1917. **225.** 134; E. Bertele, Dissert. Erlangen 1920.

[3]) Limousin, ein Apotheker, hat die nötige Apparatur in den Handel gebracht. Der Limousinsche Apparat wurde in Deutschland durch die Salomons-Apotheke in Leipzig, durch die Firma Warmbrunn u. Quilitz in Berlin, dann durch die Sächsische Verbandstofffabrik in Radebeul bei Dresden und Apotheker Arnold Wolf in Hamburg hergestellt und in den Handel gebracht. Gebrauchsanweisung usw. sollen beigegeben sein.

punkt der Reaktion läßt sich durch Beobachten im durchfallenden Lichte und kurzes Absetzenlassen des Kupferoxyduls erkennen. Die verbrauchten Tropfen Harn werden aufgezeichnet.

Duhomme hat seinerzeit zur einfachen Berechnung des Zuckergehaltes eine Tabelle ausgearbeitet, die die Verf. noch erweitert haben. Ohne die Tabelle zu benutzen, gibt eine einfache Division den Prozentgehalt an Zucker an. Z. B. 1 ccm Harn liefert 21 (XXI) Tropfen; zur Reduktion sind 23 Tropfen nötig, dann enthält der Harn $^{21}/_{23} = 0{,}913\%$ Harnzucker.

Bei einem Gehalte von 0,5—1,0% Traubenzucker leistet das Verfahren am meisten an Genauigkeit. Für eine völlig einwandsfreie Bestimmung ist es unerläßlich, den Harn nach einer Vorprüfung auf einen Gehalt von etwa 1% Traubenzucker zu bringen, da bekanntlich nach Soxhlets Untersuchungen der Verdünnungsgrad der Lösung, sowie längere oder kürzere Dauer des Erhitzens das Reduktionsverhältnis verschieben. Die Verdünnung ist bei der Berechnung nicht zu vergessen. Was das Instrumentarium betrifft, so ist die völlige Gleichmäßigkeit der Tropfen während eines Versuches die Grundlage des Verfahrens. Bei dem Einflusse der konstanten Abtropffläche auf die Tropfengröße muß das Ende der Kapillaren glatt und scharf abschneiden; der Durchmesser der letzteren darf nicht mehr als 3 mm betragen, wenn ein Tropfenzähler 1 ccm Wasser in 20—25 Tropfen zerlegen soll. Nach Duhomme soll 1 ccm Wasser bei 15° C = 20 Tropfen betragen, 1 Tropfen demnach 0,05 ccm.

Nach dem Urteil von Vanino u. Bertele ist die alte Methode von Duhomme — einwandfrei konstruierte Harntropfpipette vorausgesetzt — auf Grund des Ergebnisses zahlreicher Untersuchungen als ein einfaches und brauchbares Verfahren zu betrachten.

i) Eine Schnellmethode, ein Schätzungsverfahren, auf der Trommerschen Probe beruhend, gibt O. Mayer[1]) an.

Erforderlich sind 1—2 graduierte Zylinder von 100 ccm Inhalt mit Glasstopfen, Natronlauge von 15%, eine Lösung von 25 g reinem Kupfersulfat im L. dest. Wassers, 2 Meßzylinder oder Pipetten zu 10 ccm, 1 Bürette zu 50 ccm im Stativ.

Ausführung. 10 ccm Harn werden in dem Standzylinder mit 10 ccm Natronlauge versetzt; die Mischung wird mit destilliertem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt; hiezu läßt man unter leichtem Umschütteln portionenweise die Lösung von Kupfersulfat aus der Bürette zufließen, bis der das Ende der Reaktion ankündigende Niederschlag nach kurzem, kräftigem Durchschütteln größtenteils wieder in Lösung gegangen und eine gerade wahrnehmbare, jedoch bleibende und beim Stehen etwas zunehmende Trübung der Mischung eingetreten ist. Jeder Kubikzentimeter der Kupfersulfatlösung entspricht unter obigen Bedingungen 0,1% Traubenzucker. Von Harnen, welche mehr als 4% Zucker enthalten, nimmt man zweckmäßig nur 5 ccm in Arbeit, während von weniger als 0,5—1% Zucker enthaltenden Harnen 20 ccm zur Titration abgemessen werden; im übrigen verfährt man wie oben und verdoppelt bzw. halbiert nur die gefundenen Mengen Kupferlösung. Die jeweilige Berechnung des Zuckergehaltes aus der verbrauchten Anzahl Kubikzentimeter Kupferlösung = n ergibt sich aus folgenden Beispielen:

Harn	Berechnung	n $CuSO_4$	Zucker
20 ccm	$\frac{0{,}1\ n}{2}$	14 ccm	0,7 Proz.
10 ccm	0,1 n	23 ccm	2,3 Proz.
5 ccm	0,1 n × 2	29 ccm	5,8 Proz.

Der mit Lauge versetzte und auf das 2,5—10fache verdünnte Urin zeigt nur in dem nicht gerade häufigen Falle einer ungewöhnlich hohen Konzentration eine flockige Ausscheidung von Erdphosphaten. Da hiedurch die Empfindlichkeit des Umschlages gestört werden könnte, so vermischt man 20 ccm Urin mit 20 ccm Natronlauge, verdünnt auf 100 ccm, filtriert durch ein Faltenfilter und führt die Titration mit 50 ccm des klaren Filtrates aus. Im übrigen bedürfen nur stark getrübte Harne einer vorherigen Filtration. Größere, schon durch die Biuretreaktion erkennbare Eiweißmengen sind durch Kochen zu beseitigen. Als einzige Schwierigkeit verbleibt somit für den mit der Methode noch wenig Vertrauten die Erkennung des Endpunktes der Reaktion. Doch auch darüber kommt man hinweg, wenn man zunächst in einem Vorversuche einige Kubikzentimeter Kupferlösung im Überschusse, also bis zur deutlichen Trübung[2]) zugibt, wodurch man die Höchstmenge Kupferlösung kennen lernt. Beim Hauptversuche merkt man sich dann den Punkt, bei welchem das frisch gefällte Kupferhydroxyd noch klar gelöst wird; zwischen den so ermittelten Höchst- und Mindestwerten liegt

[1]) Archiv Hyg. 1919. 88. 184; Münch. med. Wochenschr. 1917. 64. 1222.
[2]) Schon nach kurzem Stehen wird hiebei ein flockiger Niederschlag zu Boden fallen.

die wirklich verbrauchte Menge Kupferlösung, die hierauf durch die Endtitration unschwer gefunden wird.

Es sind unter anderen noch folgende titrimetrische Methoden empfohlen worden, die auf dem Prinzipe der Fehlingschen Titrationsmethode beruhen.

Methode von R. T. Williamson[1]) (Gerrard).

Von Borroughs, Wellcome & Co. werden Tabletten (Soloids) in den Handel gebracht mit einer bestimmten Menge von Kupfersulfat (0,034 g) und Seignettesalz; diese zwei Soloids geben eine Lösung, die 1,0 ccm Fehlingscher Lösung und somit 0,005 g Zucker entspricht. Ein weiteres Soloid besteht aus Kalium cyanic. und hat den Zweck, das Ausscheiden des Kupferoxyduls zu verhindern.

Man gibt 2,0 ccm Wasser in das Reagenzrohr und löst darin die 2 Soloide von Kupfersulfat und Seignettesalz; in derselben Lösung löst man unter Erwärmen 1 Soloid von Kalium cyanic. In die kochende Lösung tropft man rasch aus einer Bürette den nötigenfalls zweckentsprechend verdünnten Urin, bis die blaue Farbe der Lösung verschwindet. Die verbrauchte Harnmenge enthält dann 0,005 g Zucker.

Von der Firma E. Merck werden Tabletten zur Zuckerbestimmung im Harne in den Handel gebracht, die einen bestimmten Wirkungswert (1 Paar Tabletten = 0,01 g Zucker) besitzen. Kupfersalz und Alkali bilden je eine besondere Tablette. Auch nach den Versuchen von J. Thomann, F. Dietze kann man mit Hilfe dieser Tabletten den Zucker mit genügender Genauigkeit im Harne bestimmen; man muß sich aber genau nach den Angaben richten, die in einer Broschüre von der Firma Merck niedergelegt sind. Diese Broschüre mit einer Farbentafel zur leichteren Erkennung der Farbentöne, sowie einer Tabelle, aus der der Zuckergehalt bei Anwendung verschiedener Mengen Harn und Reagenztabletten ersichtlich ist, ist den Tabletten beigegeben.

E. P. Lavalle[2]) benützt die Eigenschaft der Löslichkeit des Kupferoxydules im Überschusse von Alkali, um eine völlig farblose Flüssigkeit zu erhalten und um eine Störung beim Endpunkte der Reaktion auszuschließen. In eine Porzellanschale bringt man 5 oder 10 ccm Fehlingsche Lösung, 30 ccm Natronlauge (1 : 3) und 50 oder 60 ccm Wasser, erhitzt und gibt nach und nach von der Zuckerlösung hinzu. Die Operation ist beendet, sobald der letzte Tropfen die blaue Farbe der Fehlingschen Lösung verschwinden läßt.

S. Haines gibt eine quantitative Zuckerbestimmung an, die ähnlich der Pavyschen ist. Das Reagens besteht aus 8,314 g Kupfersulfat in 400 ccm Wasser, 40 ccm Glyzerin, 500 ccm einer 5%igen Kaliumhydratlösung und Wasser, bis 1000 ccm erreicht sind. Von dieser Lösung werden 10 ccm mit 30 ccm starkem Ammoniakwasser gemischt und gelinde mit dem Harne gekocht. Die Reduktion und Entfärbung dieser 10 ccm entspricht 0,01 g Dextrose.

H. Benedict[3]), E Harrison[4]), V. C Myers[5]) empfehlen an Stelle der Fehlingschen Lösung wieder andere Lösungen; die Benedictsche Lösung hat folgende Zusammensetzung:

173 g Natrium- oder Kaliumcitrat, 200 g Natriumkarbonat werden in 700 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst; zu der filtrierten Lösung fügt man langsam unter Umrühren eine Lösung von 17,3 g Kupfersulfat in 100 ccm Wasser, kühlt ab und füllt auf 1 L. auf. Die Lösung soll angeblich empfindlicher sein wie die Fehlingsche.

E. Harrison hat die Lösung wieder etwas abgeändert; er läßt 200 g Soda, 200 g Kaliumcitrat, 125 g Kaliumsulfocyanat in warmem Wasser zu 800 ccm lösen; unter Umrühren fügt man eine Lösung von 18,0 g Kupfersulfat in etwa 100 ccm Wasser, dann 5 ccm einer 5%igen Kaliumferrocyanidlösung hinzu und füllt auf 1 L. auf. 25 ccm der Lösung werden durch 0,050 g Glykose reduziert. Zur Bestimmung gibt man 25 ccm der Lösung in eine Porzellanschale, fügt 10—20 g kristall. Natriumcarbonat und eine kleine Menge Bimsstein- oder Talkumpulver hinzu, löst das Natriumcarbonat unter Erhitzen und läßt zu der kochenden Flüssigkeit aus einer Bürette den entsprechend verdünnten Harn zulaufen, bis sich ein kalkweißer Niederschlag zu bilden beginnt, dann langsamer, unter beständigem Kochen, bis ein Tropfen die letzte Spur von blauer Farbe zum Verschwinden bringt und so den Endpunkt anzeigt.

Walbum[6]) hat ein Saccharimeter zur Zuckerbestimmung konstruiert, das mit der Gebrauchsanweisung von der Firma P. Altmann in Berlin NW. zu beziehen ist. Das Prinzip der Bestimmungsmethode beruht gleichfalls auf der Reduktion von Fehlingscher Lösung durch zuckerhaltigen Harn; es wird so lange von dem reinen oder verdünnten Harne zu der im Saccharimeter erhitzten Kupferlösung zugegeben, bis die blaue Färbung eben verschwunden ist. Am Saccharimeter ist eine Skala angebracht, an der man die Zuckerprozente ablesen kann.

---

[1]) Lancet 1905. **29.** 811; Münch. med. Wochenschr. 1905. **42.** 2040.
[2]) Chem. Ztg. 1906. **30.** 17.
[3]) Journ. Amer. med. assoc. 1911. **57.** 1193.
[4]) The Pharm. Journ. and Pharm. 1911; Pharm. Ztg. 1912. **57.** 461.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 1494.
[6]) Deutsch. med. Wochenschr. 1907. **33.** Nr. 11; Pharm. Ztg. 1907. **52.** 311.

k) Titrieren nach K. Knapp.[1])

Prinzip.

Quecksilbercyanid wird in alkalischer Lösung durch Traubenzucker zu metallischem Quecksilber reduziert, während der Zucker selbst zu Glukonsäure und anderen Substanzen wie Zuckersäure oxydiert wird. Die Titration findet wie bei der Fehlingschen statt, nur kann hier ein Indicator angewendet werden.

Der Harn darf ebenfalls nur 0,5—1% Zucker und kein Eiweiß enthalten; durch einen Vorversuch ist zu ermitteln, wie weit der Harn verdünnt werden muß.

Erforderliche Lösung.

1. 10 g reines, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknetes Quecksilbercyanid werden in einem Literkolben in Wasser gelöst und mit 100 ccm Natronlauge vom spez. Gewicht 1,145 (12,5% NaOH enthaltend) versetzt; es wird zur Marke aufgefüllt.

Die Lösung läßt sich beliebig lange aufbewahren. Man stellt sie erst mit einer genau 0,5% Traubenzucker enthaltenden Lösung ein; auch kontrolliert man die Lösung hie und da.

2. Alkalische Zinnoxydullösung.

Man löst 50 g krystallisiertes Zinnchlorür in 10%iger Natronlauge und verdünnt mit Wasser zum Liter; scheidet sich ein Niederschlag beim Verdünnen mit Wasser aus, so war zu wenig Natronlauge zugesetzt. Damit die Lösung durch den Luftsauerstoff nicht oxydiert und unbrauchbar wird, gibt man etwas granuliertes Zinn hinzu.

Bei der Prüfung der Endreaktion mit Zinnoxydul entsprechen nach Soxhlets Untersuchungen 100 ccm der Knappschen Lösung 0,200—0,202 g wasserfreiem Traubenzucker, 1 ccm entspricht demnach 0,002 g.

Prüft man bei der Endreaktion auf noch vorhandenes Quecksilbercyanid mit Schwefelammonium nach Knapp oder nach dem Ansäuern mit Schwefelwasserstoff, so ergeben sich andere Werte.

Verdünnt man die Knappsche Flüssigkeit auf das Dreifache und läßt die 0,05—1% Zucker enthaltende Lösung nach und nach zufließen, so zeigt 1 ccm der Knappschen Lösung 0,0025 g Zucker an (Worm-Müller u. Hagen, Otto).

Ausführung.

Man läßt aus einer Bürette (nicht Pipette nehmen!) 20 ccm Knappsche Lösung in eine Porzellanschale oder einen Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas fließen, fügt 80 ccm Wasser — bei einem Zuckergehalte unter 0,5% nur 40—60 ccm Wasser — hinzu und erhitzt zum Sieden. Aus einer Bürette läßt man nach und nach den entsprechend verdünnten oder vorbereiteten Harn zuerst von 1 ccm zu 1 ccm, dann von 0,5 zu 0,5 und schließlich von 0,1 zu 0,1 ccm zu der kochend heißen Lösung zufließen und erhält nach jedem Zusatze 1/2—1 Minute im gelinden Sieden. Wenn der Inhalt der Schale oder des Kolbens sich zu klären beginnt und das reduzierte Quecksilber, sowie die Phosphate sich rasch absetzen, dann bringt man auf eine Porzellanplatte oder auf eine auf einer Filtrierpapierunterlage befindliche Glastafel einen Tropfen des geklärten Kolbeninhaltes und dazu einen Tropfen der alkalischen Zinnoxydullösung. Ist noch Quecksilbercyanid in Lösung, so bewirkt der zugesetzte Indikator eine graue Quecksilberabscheidung; man fährt dann noch solange mit dem Zugeben von Harnflüssigkeit fort, bis die Probe negativ ist. Wie bei der Bestimmung nach Fehling, so ist auch hier die erste Bestimmung nur ein Vorversuch; bei den zwei noch weiter anzustellenden Bestimmungen muß die ganze oder nahezu die ganze notwendige Harnmenge auf einmal zugesetzt werden; die zwei Bestimmungen dürfen nur um 0,1 ccm des verdünnten Harnes differieren, in einer Probe soll noch eine Spur Quecksilber gelöst enthalten sein, die andere muß davon frei sein.

Die Berechnung ergibt sich aus dem Gesagten; die Einstellung der Lösung mit der Traubenzuckerlösung nimmt man in der gleichen Weise vor.

l) Titrieren nach R. Sachsse.[2])

Prinzip.

Das Verfahren beruht auch auf der Reduktion von Quecksilberoxyd.

Erforderliche Lösungen.

1. 18 g Quecksilberjodid und 25 g Jodkalium werden in Wasser gelöst und zu 500 ccm verdünnt.
2. 80 g Kaliumhydroxyd werden in Wasser zu 500 ccm gelöst.
3. Als Indicator dient die alkalische Zinnoxydullösung.

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1870. **154.** 252.
[2]) Chem. Centralbl. 1877. 471.

Ausführung.

Je 20 ccm der Lösung 1 und 2 werden in einer Porzellanschale gemischt, mit einer bestimmten Menge der vorbereiteten Harnlösung versetzt und nun 2—3 Minuten gekocht. Man bringt einige Tropfen der über dem Niederschlage befindlichen Flüssigkeit auf einem flachen Porzellanschälchen mit einigen Tropfen des Indicators zusammen. Tritt keine Reaktion ein, so ist Zucker im Überschuß oder es entsprechen sich Zucker und Quecksilber; bildet sich ein schwarzer Niederschlag, dann ist noch unzersetzte Quecksilberlösung vorhanden. Man verfährt wie bei der Titration nach Knapp.

Wie bei den anderen titrimetrischen Prüfungsverfahren muß man auch hier mehrere Vorversuche anstellen, bis man die richtige, den 40 ccm der Sachsseschen Lösung entsprechende Harnmenge gefunden hat.

Nach Soxhlet entspricht 1 ccm Sachsse = 0,00325 g Traubenzucker in 0,5%iger Lösung und 0,0033 in $^1/_2$%iger.

Eine indirekte volumetrische Methode hat B. Glassmann[1]) empfohlen, deren Prinzip das gleiche ist, wie das nach den Verfahren von Knapp oder Sachsse; nur wird hier der ausgeschiedene Quecksilbergehalt nach der Methode von E. Rupp und Ludwig[2]) bestimmt.

Beurteilung.

Die Quecksilbermethoden sind nicht empfehlenswert, da der Endpunkt der Titration erstens nie so scharf zu erkennen ist, wie es wünschenswert erscheint und weil weiterhin die Resultate verschieden ausfallen, je nach der Verwendung des den Endpunkt anzeigenden Indikators; auch kommt der Grad der Verdünnung in Betracht. Endlich ist noch die durch Kreatinin bewirkte Quecksilberabscheidung ziemlich beträchtlich, so daß man, um den richtigen Traubenzuckerwert zu erfahren, die Bestimmung im Harne vor und nach der Vergärung vorzunehmen hätte.

m) A. M. Kellas und Frank J. Wethered[3]) verwenden eine Safraninlösung (Crismers Probe). 2 ccm dieser (1 : 1000) werden mit 2 ccm Normalnatronlauge und 2 ccm Harn gemischt und gekocht; bei Anwesenheit von Glykose wird die rote Lösung gelb; um den Zucker annähernd zu bestimmen, setzt man während des Kochens langsam Safranin zu, bis die rote Farbe nicht mehr verschwindet. 2 ccm Safraninlösung = etwa 0,1 g Zucker. Stark zuckerhaltiger Harn ist zu verdünnen, Schütteln ist zu vermeiden.

K. A. Hasselbach und J. Linhard[4]) empfehlen zur Bestimmung des Zuckers ebenfalls diese Probe, die sie als schnell auszuführende und zuverlässige bezeichnen. Mit einer Pipette oder aus einer Bürette mißt man gleiche Teile einer Safraninlösung (1 : 10000) und eine Lösung Kalilauge (1 : 100) in ein enges Reagenzglas ab; zu dieser Mischung setzt man mit einem Normaltropfenzähler die Zuckerlösung oder den Harn. Nach dem Schütteln bringt man das Glas drei Minuten lang in ein siedendes Wasserbad. Hat man gefunden, daß 1 Safranin (darunter versteht man 1 ccm der Safraninlösung und 1 ccm der Kalilauge) durch 0,25 mg Traubenzucker reduziert wird und erhält man durch 2 Safranin mit 10 Tropfen positive Reaktion, so findet man den Zuckergehalt in der Lösung (Harn) in mg für den ccm zu $x = \frac{20 \cdot 2 \cdot 0{,}25}{10} = 0{,}1\%$ Zucker. Die Safraninlösung ist unbegrenzt haltbar und wird auf eine Traubenzuckerlösung von bekanntem Gehalt eingestellt. Man kann sich der Apparatur wie beim Reischauerschen Verfahren bedienen.

Beurteilung der titrimetrischen Methoden.

Die Bestimmungen des Zuckers im Harne fallen bei allen titrimetrischen Proben nicht ganz genau aus, da auch, wie schon des öfteren erwähnt, andere im Harne 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, was allerdings mit Umständen verbunden ist. Im übrigen werden diese erwähnten Fehlerquellen durch die angegebene Vorbereitung des Harnes schon sehr wesentlich beschränkt und verringert; beim Vorhandensein geringer Zuckermengen im Harne macht sich der Fehler allerdings wieder mehr bemerkbar. Nicht geleugnet kann werden, daß man mit einiger Übung mit den angegebenen Methoden brauchbare Zahlen erhalten kann. Am besten ist es, sich auf eine der Methoden, als welche besonders die Proben nach Pavy (S. 311, nach Bang (S. 309 u. 314) und Bertrand (S. 316) empfohlen werden können, einzuarbeiten; in allen zweifelhaften Fällen wird man noch einen Gärversuch anreihen.

---

[1]) Berl. Bericht. 1906. **39.** 503.
[2]) Berl. Bericht. 1902. **35.** 2015.
[3]) The Lancet. 1906. **20.** 27; Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** 40.
[4]) Biochem. Zeitschr. 1910. **27.** 273.

4. Gewichtsanalytische Bestimmung des Zuckers.

Prinzip.

Das durch die Anwesenheit von Zucker reduzierte, ausgeschiedene und gesammelte Kupferoxydul wird durch Wasserstoff reduziert und das Kupfer gewogen oder noch einfacher, das Oxydul wird durch einfaches Glühen in Oxyd verwandelt, daraus werden Kupfer und Zuckergehalt berechnet.

Bedingungen.

Wie bei der Bestimmung auf titrimetrischem Wege darf der Harn auch hier nicht mehr als 1% Traubenzucker enthalten; weiter empfiehlt es sich, den, wie schon angegeben, entsprechend von anderen störenden und reduzierend wirkenden Stoffen gereinigten Harn in Anwendung zu ziehen.

Ausführung.

In die Porzellanschale mit Stiel (S. 307) gibt man 30 ccm der Fehlingschen 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 von dem vorbereiteten, auch wenn nötig, entsprechend verdünnten Harne, der nicht mehr als 1%[1]) Zucker enthalten darf, kocht genau zwei Minuten lang und filtriert sofort und möglichst rasch das ausgeschiedene Kupferoxydul ab. Zum Filtrieren verwendet man am besten die von Soxhlet zuerst angegebenen, mit langfaserigem Asbest beschickten Filtrierröhrchen (Asbeströhrchen) (Fig. 62).

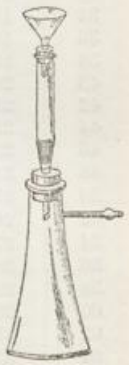


Fig. 62.

Zur Herstellung dieser zieht man ein Verbrennungsrohr von ungefähr 15—20 mm lichter Weite etwa 6—7 cm von einem Ende entfernt auf $^1/_3$ seiner Stärke gleichmäßig aus; der enge Teil darf 5—6 cm lang sein. In den Hals bringt man als Unterlage für den Asbest ein kleines Platinnetzchen, darauf weichen, vorher mit Natronlauge und Salpetersäure behandelten und wieder getrockneten Asbest, der ziemlich locker einzufüllen ist; man gibt 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 dem mit dem Asbest angeschüttelten Wasser 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 etwa $1^1/_2$ cm betragen und das Wasser beim Ansaugen mit der Wasserluftpumpe mit der erwünschten Schnelligkeit durchlassen. Das so gefüllte Röhrchen wird mehrmals mit heißer Natronlauge behandelt, dann mit heißem Wasser und nachher mit Alkohol und Äther nachgewaschen, getrocknet, nach dem Ausglühen in den Exsiccator gebracht und gewogen. Das Röhrchen ist für den Gebrauch fertig und wird nach jedesmaliger Benützung dadurch wieder gebrauchsfähig gemacht, daß man es mit Salpetersäure, dann mit heißem Wasser, mit Alkohol und mit Äther auswäscht und wieder trocknet. Das ausgeglühte und erkaltete Röhrchen wird vor dem jedesmaligen Gebrauche gewogen.

Beim Filtrieren setzt man mit Hilfe eines Korkes ein Trichterrohr lose auf das Röhrchen und gibt zuerst — man verbindet die angegebene Vorrichtung (Fig. 62) mit der Saugpumpe und saugt schwach — 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 wird mehrere Male mit heißem Wasser, darauf mit Alkohol und mit Äther nachgewaschen und etwa $^1/_4$ Stunde im Trockenschranke getrocknet. Nach dem Trocknen verbindet man das Asbestfilter durch ein Glasröhrchen und durch einen durchbohrten Stopfen mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat, 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, läßt man im Wasserstoffstrom

[1]) Wird beim Kochen der alkalischen Kupferlösung mit den 25 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, den vorbereiteten Harn noch weiter, nötigenfalls 5—10fach, verdünnen und dann den Versuch wiederholen.

erkalten und wägt. Die Zunahme ist die dem Zucker entsprechende Menge Kupfer; aus dem gefundenen Gehalt an diesem findet sich in nachstehender Tabelle (nach F. Allihn) der Gehalt an Zucker.

Allihnsche Tabelle.

Kupfer mg	Traubenzucker mg	Kupfer mg	Traubenzucker mg	Kupfer mg	Traubenzucker mg	Kupfer mg	Traubenzucker mg	Kupfer mg	Traubenzucker mg
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	112,2	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		

Viel einfacher und ebenso genau ist es, das Kupferoxydul unter Durchsaugen von Luft über einer Flamme zu erhitzen, wodurch dieses in Kupferoxyd umgewandelt wird, was nach kurzem Glühen erreicht ist Nach dem Erkalten des Röhrchens im Exsiccator wägt man das Kupferoxyd. Dieses mit 0,799 multipliziert, gibt die Menge met. Cu an. In der beigegebenen Tabelle nach A. Fernau findet man die dem gef. Kupferoxyd entsprechende Menge Kupfer.

CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg
10	8,0	70	55,9	131	104,6	192	153,3	253	202,0	314	250,8
11	8,8	71	56,7	132	105,4	193	154,1	254	202,8	315	251,6
12	9,6	72	57,5	133	106,2	194	154,9	255	203,6	316	252,4
13	10,4	73	58,3	134	107,0	195	155,7	256	204,4	317	253,2
14	11,2	74	59,1	135	107,8	196	156,5	257	205,2	318	254,0
15	12,0	75	59,9	136	108,6	197	157,3	258	206,0	319	254,8
16	12,8	76	60,7	137	109,4	198	158,1	259	206,8	320	255,6
17	13,6	77	61,5	138	110,2	199	158,9	260	207,6	321	256,4
18	14,4	78	62,3	139	111,0	200	159,7	261	208,4	322	257,2
19	15,2	79	63,1	140	111,8	201	160,5	262	209,2	323	258,0
20	16,0	80	63,9	141	112,6	202	161,3	263	210,0	324	258,8
21	16,8	81	64,7	142	113,4	203	162,1	264	210,8	325	259,6
22	17,6	82	65,5	143	114,2	204	162,9	265	211,6	326	260,4
23	18,4	83	66,3	144	115,0	205	163,7	266	212,4	327	261,2
24	19,2	84	67,1	145	115,8	206	164,5	267	213,2	328	262,0
25	20,0	85	67,9	146	116,6	207	165,3	268	214,0	329	262,8
26	20,8	86	68,7	147	117,4	208	166,1	269	214,8	330	263,6
27	21,6	87	69,5	148	118,2	209	166,9	270	215,6	331	264,4
28	22,4	88	70,3	149	119,0	210	167,7	271	216,4	332	265,2
29	23,2	89	71,1	150	119,8	211	168,5	272	217,2	333	266,0
30	24,0	90	71,9	151	120,6	212	169,3	273	218,0	334	266,8
31	24,8	91	72,7	152	121,4	213	170,1	274	218,8	335	267,6
32	25,6	92	73,5	153	122,2	214	170,9	275	219,6	336	268,4
33	26,4	93	74,3	154	123,0	215	171,7	276	220,4	337	269,2
34	27,2	94	75,1	155	123,8	216	172,5	277	221,2	338	270,0
35	28,0	95	75,9	156	124,6	217	173,3	278	222,0	339	270,8
36	28,7	96	76,7	157	125,4	218	174,1	279	222,8	340	271,6
37	29,5	97	77,5	158	126,2	219	174,9	280	223,6	341	272,4
38	30,3	98	78,3	159	127,0	220	175,7	281	224,4	342	273,2
39	31,1	99	79,1	160	127,8	221	176,5	282	225,2	343	274,0
40	31,9	100	79,8	161	128,6	222	177,3	283	226,0	344	274,8
41	32,7	101	80,6	162	129,4	223	178,1	284	226,8	345	275,6
42	33,5	102	81,4	163	130,2	224	178,9	285	227,6	346	276,4
43	34,4	103	82,2	164	131,0	225	179,7	286	228,4	347	277,2
44	35,1	104	83,0	165	131,8	226	180,5	287	229,2	348	278,0
45	35,9	105	83,8	166	132,6	227	181,3	288	230,0	349	278,7
46	36,7	106	84,6	167	133,4	228	182,1	289	230,8	350	279,5
47	37,5	107	85,4	168	134,2	229	182,9	290	231,6	351	280,3
48	38,3	108	86,2	169	134,9	230	183,7	291	232,4	352	281,1
49	39,1	109	87,0	170	135,7	231	184,5	292	233,2	353	281,9
50	39,9	110	87,8	171	136,5	232	185,3	293	234,0	354	282,7
51	40,7	111	88,6	172	137,3	233	186,1	294	234,8	355	283,5
52	41,5	112	89,4	173	138,1	234	186,9	295	235,6	356	284,3
53	42,3	113	90,2	174	138,9	235	187,7	296	236,4	357	285,1
54	43,1	114	91,0	175	139,7	236	188,5	297	237,2	358	285,9
55	43,9	115	91,8	176	140,5	237	189,3	298	238,0	359	286,7
56	44,7	116	92,6	177	141,3	238	190,0	299	238,8	360	287,5
57	45,5	117	93,4	178	142,1	239	190,8	300	239,6	361	288,3
58	46,3	118	94,2	179	142,9	240	191,6	301	240,4	362	289,1
59	47,1	119	95,0	180	143,7	241	192,4	302	241,2	363	289,9
60	47,9	120	95,8	181	144,5	242	193,2	303	242,0	364	290,7
61	48,7	121	96,6	182	145,4	243	194,0	304	242,8	365	291,5
62	49,5	122	97,4	183	146,2	244	194,8	305	243,6	366	292,3
62,6	50,0	123	98,2	184	147,0	245	195,6	306	244,4	367	293,1
63	50,3	124	99,0	185	147,8	246	196,4	307	245,2	368	293,9
64	51,1	125	99,8	186	148,6	247	197,2	308	246,0	369	294,7
65	51,9	126	100,6	187	149,4	248	198,0	309	246,8	370	295,5
66	52,7	127	101,4	188	150,1	249	198,8	310	247,6	371	296,3
67	53,5	128	102,2	189	150,9	250	199,6	311	248,4	372	297,1
68	54,3	129	103,0	190	151,7	251	200,4	312	249,2	373	297,9
69	55,1	130	103,8	191	152,5	252	201,2	313	250,0	374	298,7

CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg	CuO mg	Cu mg
375	299,5	410	327,4	445	355,3	479	382,5	513	409,7	547	436,8
376	300,3	411	328,2	446	356,1	480	383,3	514	410,5	548	437,6
377	301,1	412	329,0	447	356,9	481	384,1	515	411,3	549	438,4
378	301,9	413	329,8	448	357,7	482	384,9	516	412,1	550	439,2
379	302,7	414	330,6	449	358,5	483	385,7	517	412,9	551	440,0
380	303,5	415	331,4	450	359,3	484	386,5	518	413,7	552	440,8
381	304,3	416	332,2	451	360,1	485	387,3	519	414,5	553	441,6
382	305,1	417	333,0	452	360,9	486	388,1	520	415,3	554	442,4
383	305,9	418	333,8	453	361,6	487	388,9	521	416,1	555	443,2
384	306,7	419	334,6	454	362,4	488	389,7	522	416,9	556	444,0
385	307,5	420	335,4	455	363,2	489	390,5	523	417,7	557	444,8
386	308,3	421	336,2	456	364,0	490	391,3	524	418,5	558	445,6
387	309,1	422	337,0	457	364,8	491	392,1	525	419,3	559	446,4
388	309,9	423	337,8	458	365,6	492	392,9	526	420,1	560	447,2
389	310,7	424	338,6	459	366,4	493	393,7	527	420,9	561	448,0
390	311,5	425	339,4	460	367,2	494	394,5	528	421,7	562	448,8
391	312,3	426	340,2	461	368,0	495	395,3	529	422,5	563	449,6
392	313,1	427	341,0	462	368,8	496	396,1	530	423,3	564	450,4
393	313,9	428	341,8	463	369,6	497	396,9	531	424,1	565	451,2
394	314,7	429	342,6	464	370,4	498	397,7	532	424,9	566	452,0
395	315,5	430	343,4	465	371,2	499	398,5	533	425,7	567	452,8
396	316,3	431	344,2	466	372,0	500	399,3	534	426,5	568	453,6
397	317,1	432	345,0	467	372,8	501	400,1	535	427,3	569	454,4
398	317,9	433	345,8	468	373,6	502	400,9	536	428,1	570	455,2
399	318,7	434	346,6	469	374,4	503	401,7	537	428,9	571	456,0
400	319,4	435	347,4	470	375,2	504	402,5	538	429,7	572	456,8
401	320,2	436	348,2	471	376,0	505	403,3	539	430,5	573	457,6
402	321,0	437	349,0	472	376,8	506	404,1	540	431,2	574	458,4
403	321,8	438	349,8	473	377,6	507	404,9	541	432,0	575	459,2
404	322,6	439	350,6	474	378,4	508	405,7	542	432,8	576	460,0
405	323,4	440	351,4	475	379,2	509	406,5	543	433,6	577	460,8
406	324,2	441	352,2	476	380,0	510	407,3	544	434,1	578	461,6
407	325,0	442	353,0	477	380,8	511	408,1	545	435,2	579	462,4
408	325,8	443	353,8	478	381,6	512	408,9	546	436,0	580	463,2
409	326,6	444	354,5								

Beurteilung.

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

Man hat die heiße Flüssigkeit schnell zu filtrieren, um einer Auflösung von abgeschiedenem Kupferoxydul durch das bei der Zersetzung von Harnstoff sich bildende Ammoniak vorzubeugen.

Es ist auch empfohlen worden, das in dem Filtrierröhrchen auf Watte statt auf Asbest gesammelte Kupferoxydul direkt zu wägen; dies geht beim Harne nicht an, da in dem Niederschlage Stoffe vorhanden sein können, die das Ergebnis sehr beeinflussen und die deshalb durch Glühen zu entfernen sind.

5. Gasvolumetrische Zuckerbestimmungsmethode.

Die von E. Riegler[1]) empfohlene gasometrische Methode der Zuckerbestimmung beruht auf der Tatsache, daß Traubenzucker durch Kaliumpermanganat derart oxydiert wird, daß Kaliumcarbonat und Kohlendioxyd gebildet werden nach folgender Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 8\,KMnO_4 = 4\,K_2CO_3 + 2\,CO_2 + 8\,MnO_2 + 6\,H_2O.$$

Aus dem gebildeten Kaliumcarbonat, aus der Menge CO_2, die im Kaliumcarbonat vorhanden ist, kann die entsprechende Zuckermenge berechnet werden.

Ein gasvolumetrisches Verfahren gibt R. Weiß[2]) an.

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1904. **51**. 210; Apparat mit 2 Tabellen ist zu haben bei Altmann in Berlin und Hugershoff in Leipzig.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1915. **62**. 1046.

Beurteilung.

Auch nach R. Levys Untersuchungen gibt diese Methode keine genauen Zahlen.

6. Zuckerbestimmungen auf colorimetrischem Wege.

E. Rudeck[1]) empfiehlt die colorimetrische Harnzuckerbestimmung mit dem Wismutreagens; zur Abschätzung dient eine Farbenskala mit verschiedenen Farbentönen. K. K. Järvinen[2]) benützt die Wismutprobe ebenfalls als quantitative Bestimmungsmethode.

E. Benedix und H. Schittenhelm[3]) nehmen die Traubenzuckerbestimmung in einem „Chromosaccharometer Rapid" genannten Apparate vor. Die Probe beruht auf der colorimetrischen Zuckerprobe von Moore. Der Apparat enthält ein Standardröhrchen, dessen Farbe der Braunfärbung eines mit gleichen Teilen Natronlauge gekochten 1%igen Zuckerurins entspricht, ein graduiertes Reagenzglas und eine Pipette von 5 ccm nebst Stativ.

Die Braunfärbung mit Lauge nimmt auch A. Angiolani[4]) zur Grundlage einer kolorimetrischen Bestimmung; auch ein Verfahren auf dem Prinzip des sog. Reischauerschen beruhend gibt der gleiche Autor an.

Das Glucosimeter von J. Zeehandelaar[5]) beruht auf ähnlichem Prinzip.

Johnson verwendet ein Pikrosaccharimeter. (Die Rotfärbung beim Kochen von Traubenzucker mit Lauge und Pikrinsäure.)

Ähnliche Verfahren veröffentlichten Alma Hiller, Stanley R. Benedict und E. Ostertag[6]).

W. Autenrieth und G. Müller[7]), W. Autenrieth und A. Funk nehmen die colorimetrische Bestimmung in dem Colorimeter von Autenrieth-Koenigsberger vor und zwar benützen sie die Methode nach Bang; sie titrieren nicht mit Hydroxylamin, sondern bestimmen die Stärke der Kupferlösung nach dem Kochen dieser mit dem Harne mit dem Colorimeter. Das Autenriethsche Colorimeter benützt auch E. Riegler, Neubauer die Entfärbung der Fehlingschen Lösung und das Königsche Diaphanometer.

K. Reicher und E. H. Stein[8]) verwenden Tabletten mit α-Naphthol und entsprechenden Röhrchen, J. B. Summier und V. A. Graham[9]) erwähnen ein colorimetrisches Verfahren mit Dinitrosalicylsäure.

Beurteilung.

Zuckerbestimmungen auf colorimetrischem Wege können als genügend genau nicht bezeichnet werden. Sie können wohl den Arzt über die beiläufige Höhe des Zuckergehaltes orientieren, für genaue Bestimmungen können sie nicht in Betracht kommen (G. Gregor). Diese Anschauung ist jetzt nicht mehr ganz begründet; einzelne Verfahren, so nach Autenrieth, geben, zumal wenn man sich in diese eingearbeitet hat, gut brauchbare Ergebnisse.

Verschiedene andere Methoden (Wägen des Phenylglykosazons, des Benzoesäureesters, Bestimmung mit dem Eintauchrefraktometer usw.) sind vorläufig als durchaus brauchbare und einwandfreie nicht zu betrachten.

7. Eine Bestimmung kleiner und kleinster Zuckerwerte mit Hilfe der Zeitreaktion gibt F. Clausnitzer[10]) an.

Das Verfahren ist eine sog Zeitreaktion, bei der aus der Geschwindigkeit des Auftretens der Reaktion — es ist die Worm-Müllersche Probe hiezu gewählt — auf den Zuckergehalt des Harnes geschlossen wird.

Wahl der Methode für die quantitative Bestimmung des Zuckers im Harne.

Das einfachste und das am wenigsten Zeit in Anspruch nehmende Verfahren ist das polarimetrische, das unter Berücksichtigung des bei dieser Bestimmung Gesagten und bei Verwendung

---

[1]) Pharm. Ztg. 1904. **39.** 653.

[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1913. **52.** 14.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 1309; der Apparat mit Gebrauchsanweisung ist von Hausmann in St. Gallen zu beziehen.

[4]) Giorn. Farm. Chim. 1921. **70.** 69.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. 1909. **46.** 109. 1460; der Apparat wird vom Mediz. Warenhaus in Berlin geliefert.

[6]) Journ. Biol. Chem. 1921. **48.** 51.

[7]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** 899; 1912. **59.** 689. Dem Colorimeter sind genaue Anweisungen zur Vornahme der verschiedenen Bestimmungsverfahren beigegeben.

[8]) Biochem. Zeitschr. 1911. **37.** 321; Apparatur usw. durch die Firma J. D. Riedel, Berlin, zu beziehen.

[9]) Journ. Biol. Chem. 1921. **48** 51.

[10]) Pflügers Archiv ges. Physiolog. 1915. **162.** 159.

eines guten Apparates sehr gute, wenn auch nicht immer (gleichzeitige Anwesenheit von Lävulose, β-Oxybuttersäure, Glykuronsäureverbindungen oder diese allein) einwandfreie Resultate gibt; zu aller Vorsicht kann man es noch durch eine andere quantitative Methode, besonders durch die quantitative Gärprobe kontrollieren.

Für die Praxis, für den praktischen Arzt, sind die Verfahren der Bestimmung des Zuckers mit den Gärungssaccharometern und die densimetrische Bestimmung in der von Lohnstein abgeänderten Form geeignete zur Ermittelung des Zuckergehaltes; bequemer ist die erstere Methode, während die letztere wieder den Vorteil bietet, daß mit dem Urometer gleichzeitig beliebig viele Bestimmungen ausgeführt werden können.

Vor allen Methoden hat aber die richtig vorgenommene Gärmethode den Vorteil, daß sie eindeutige und einwandfreie Ergebnisse liefert, wenn man von der sehr selten im Harne vorkommenden Lävulose absieht, die überdies im gegebenen Falle klinisch der Dextrose gleich zu erachten sein wird. Siehe Arbutin.

Mit einzelnen titrimetrischen Bestimmungsmethoden bekommt man, zumal wenn man sich auf die eine oder andere Methode eingearbeitet hat, ebenfalls brauchbare Werte. Hierüber ist das Nähere gesagt worden.

Als zutreffend muß ich das Urteil Rosenbergs[1]) anerkennen, daß alle Verfahren bei ihrer Ausführung ganz bestimmte Vorsichtsmaßregeln erfordern, wenn man eine falsche Bewertung der Ergebnisse vermeiden will; manchmal wird erst aus der Kombination verschiedener Methoden eine sichere Diagnose zu stellen sein. Die angeführten Vorsichtsmaßregeln glaube ich wohl sämtlich bei den einzelnen Verfahren erwähnt zu haben; sie finden sich übrigens noch in der S. 352—354 aufgeführten Übersicht angegeben.

Kurzer Gang zur Prüfung des Harnes auf Zucker und Kennzeichnung eines Harnes als diabetischen Harn.

Man wird mit dem übergebenen, nötigenfalls noch vorbereiteten Harne, entweder vom sog. Tagesharne oder von dem nach einer bestimmten Mahlzeit oder Tageszeit entleerten Harne, erst qualitative Reaktionen anstellen, und zwar unter Beobachtung der genau erwähnten Vorsichtsmaßregeln in erster Linie die Probe mit Fehlingscher Lösung (Nr. 2), dann die Wismutprobe (Nr. 3). Fallen diese Proben positiv aus, dann wird man, um keine Zeit zu verlieren, am besten sofort die Gärprobe vornehmen. Weiter wird man den Gehalt an Zucker am einfachsten durch die Gärmethode oder durch Polarisation bestimmen. Siehe Arbutin. Da, wie erwähnt, sowohl Nahrung, wie Tageszeit auf die ausgeschiedene Zuckermenge Einfluß haben, so berücksichtige man bei der Prüfung diese Tatsachen.

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 ihrer Besprechung erwähnten fremden Stoffe herbeigeführt worden sein können, dann wird man in erster Linie den auf irgendeine Weise entsprechend gereinigten Harn nochmals prüfen und zur Bestätigung und Sicherung des Ergebnisses die Phenylhydrazin- und Gärprobe, wie angegeben, vornehmen. Der Ausfall der letzten Probe hilft stets über bestehende Zweifel hinweg. Siehe die Übersicht S. 352 bis 354.

Beim Vorhandensein von Zucker hat man noch das spezifische Gewicht des Harnes festzustellen und schließlich auch nicht zu vergessen, auf die Gegenwart der Acetonkörper (Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure), von Eiweiß und auf die Anwesenheit von Cylindern (sog. Komacylindern) im Harne zu prüfen. Diabetische Harne sind öfters eiweißhaltig. Man prüfe sie auch noch mikroskopisch (Cylinder, Epithelien usw.).

Man vergesse auch in den Fällen, in denen vorher Zucker vorhanden gewesen ist, nicht, auf Aceton und auf Acetessigsäure zu prüfen. Bei manchen Kranken ist der Zucker im Harne verschwunden, Aceton usw. sind aber noch nachweisbar.

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

Wichtig und unerläßlich ist es endlich, die in 12—24 Stunden entleerte Harnmenge zu kennen, um aus dem gefundenen Prozentgehalte des Zuckers die in der Tagesmenge Harn zur Ausscheidung kommende Zuckermenge berechnen zu können; denn 5% Zucker bei 2 Liter täglicher Harnausscheidung geben z. B. 100 g, 2% Zucker aber bei 6 Liter 120 g Zucker. Hat man nicht selbst Gelegenheit, die täglich zur Ausscheidung kommende Harnmenge genau zu messen, so mag man sich die Menge, die man von dem Laien mit einem Schoppenglas — 1/4 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, nicht an.

C. *Linksdrehender Zucker.*

Es wurden diabetische Harne gefunden, in denen der durch die quantitative Bestimmung ermittelte Zuckergehalt bei weitem mehr betrug, als der durch

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1906. 43. 1102.

Polarisation gefundene; daß in diesen Fällen die Beeinflussung der polarimetrischen Bestimmung nicht durch andere Körper, als die wir die β-Oxybuttersäure, die gepaarten Glykuronsäuren kennen, hervorgerufen wurde, wurde ermittelt; zugleich wurde festgestellt, daß die Linksdrehung durch einen linksdrehenden Zucker, Lävulose, Fruchtzucker, bedingt ist.

Von Leo[1]) ist im diabetischen Harne ein linksdrehender Zucker (Laiose genannt) nachgewiesen worden, der mit der Lävulose in seinen Eigenschaften insofern nicht zusammenstimmt, als er mit Hefe nicht gärt und keinen süßen, sondern einen salzartigen Geschmack zeigt. Ob ein besonderer Zucker hier vorliegt, ist aber nicht mit der genügenden Sicherheit bewiesen; jedenfalls ist der im Harne vorkommende linksdrehende Zucker die Lävulose und ist das Vorkommen eines anderen linksdrehenden Zuckers wenig wahrscheinlich (Neumeister).

F. Rosenberger[2]) glaubt, in dem Urin einer Patientin eine neue Zuckerart und zwar eine Heptose gefunden zu haben. Die Ähnlichkeit dieser Heptose mit der von Leo gefundenen Laiose ist nach Rosenberger eine weitgehende, so daß er zu dem Schlusse kommt, daß wohl auch diese Laiose eine Heptose ist.

Ragnar Berg[3]) berichtet über einen ähnlichen Zucker, den er für eine Heptose und für identisch mit dem Leoschen Zucker hält. Er nannte den Zucker Arthriston.

Lävulose, d-Fructose, Fruchtzucker $C_6H_{12}O_6$.

Das Vorkommen von Lävulose im Harne wurde früher von zahlreichen Forschern vermutet, es sind viele Fälle beschrieben worden, in denen linksdrehende, gärungsfähige Harne entleert wurden und Reduktion und polarimetrische Untersuchung im Zuckergehalte Unterschiede ergaben, die durch die Annahme des Vorhandenseins von Fruchtzucker neben Dextrose (Glukose) erklärbar waren. Solche Beobachtungen wurden gemacht von Ventzke[4]), von v. Gorup-Besanez, K. Zimmer[5]), F. Czapeck[6]), J. Seegen[7]), Worm-Müller[8]), E. Külz[9]), R. May[10]), P. Marie und R. Robinson[11]), H. Rosin und L. Laband[12]), W. Schlesinger[13]), A. Lion[14]), Lepine und Boulud[15]), O. Neubauer[16]), W. v. Moraczewski[17]). — O. Adler[18]) hat die an-

[1]) Virchows Archiv 1887. **107.** 99.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **49.** 202.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1919. **45.** 435.
[4]) Journ. prakt. Chem. 1842. **1.** 25. 80.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1876. **2.** 329.
[6]) Prag. med. Wochenschr. 1876. **14.** 265.
[7]) Centralbl. med. Wissensch. 1884. 753.
[8]) Pflügers Archiv 1885. **35.** 98.
[9]) Zeitschr. Biolog. 1890. **27.** 228.
[10]) Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1896. **57.** 279.
[11]) Extr. d Bullet. et Mémor. d. la Soc. méd. des hôpit. de Paris. 1897. Separatabdr.
[12]) Zeitschr. klin. Mediz. 1902. **47.** 183.
[13]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1903. **50.** 273.
[14]) Münch. med. Wochenschr. 1903. **50.** 1105.
[15]) Rev. d. Medic. 1904. **28.** 185.
[16]) Münch. med. Wochenschr. 1905. **52.** 1525.
[17]) Zeitschr. klin. Mediz 1907. **68.** 503.
[18]) Archiv Physiol. 1911. **139.** 93.

geführten Fälle eingehend besprochen; in einzelnen ist das Vorkommen von Fructose mit Sicherheit nicht erwiesen, bei anderen könnte es sich um gleichzeitige Ausscheidung von Dextrose und Lävulose handeln, andere Fälle sind als chronische Lävulosurie aufzufassen. O. Neubauer hat in einem Falle die Lävulose in Krystallform isoliert, auch hat er einen Fall von diabetischer Lävulosurie (gemischter Melliturie) beobachtet. Durch die Arbeiten von Herzfeld und Winter ist im Harne ebenfalls das Vorkommen von Fruchtzucker nachgewiesen worden. Während einige Autoren, L. Schwarz, F. Umber, besonders Rosin und Laband, die Anschauung vertreten, daß bei schwerem Diabetes Lävulose häufig ausgeschieden wird oder werden kann, und zwar neben Dextrose in zum Teil reichlicher Menge, steht O. Adler auf Grund der Untersuchungsergebnisse eines großen Materiales von Diabetesharnen auf dem Standpunkt, daß die Ausscheidung von Lävulose bei Diabetes mellitus zu den Seltenheiten gehört; ihm ist es bei der Untersuchung von mehreren 100 Fällen noch nicht gelungen, in einem Falle Lävulose im Harne eines Diabetikers mit Sicherheit nachzuweisen. Dazu kommt auch noch, daß, wie O. Adler erwähnt, Lävulose bisher noch niemals aus diabetischem Harne in reiner Form isoliert worden ist und daß man daher wohl nicht berechtigt ist, Lävulose mit Sicherheit anzunehmen. Es fehlte bisher auch an genügend genauen Isolierungsmethoden, die Unvollkommenheit der Untersuchungsverfahren ermöglichte nicht die sichere Beweisführung für das Vorhandensein des Fruchtzuckers; es ist daran zu denken, daß die besonders hervortretende Erscheinung bei der Untersuchung des Harnes, die Linksdrehung, auch durch β-Oxybuttersäure, gepaarte Glykuronsäuren, Aminosäuren bedingt gewesen sein konnte. Durch die Darstellung des Methylphenylosazons einerseits, der Lävulosekalkverbindung und der Anreicherung der Lävulose nach dem von O. Adler ausgearbeiteten Benzidinverfahren andererseits kann nun die Lävulose isoliert werden.

Man pflegt drei Formen der Fruchtzuckerausscheidung zu unterscheiden; die chronische, reine Lävulosurie, die alimentäre und die diabetische oder gemischte. O. Adler hat unter 7726 untersuchten Harnen mit 1490 diabetischen in 7 Jahren nur zwei Fälle von chronischer Lävulosurie beobachtet. B. Naunyn[1]) erwähnt, daß diese Fälle sehr selten sind; im allgemeinen wird nach Naunyn hier die Lävulose die Rolle der Dextrose übernehmen. Das Auftreten von Acidosis, von β-Oxybuttersäure, Acetessigsäure, Aceton wurde nach O. Adler in den seitherigen Fällen nie beobachtet; im allgemeinen scheint die Lävulosurie vielleicht etwas harmloser zu sein.

Nach den Beobachtungen von H. Strauss[2]), H. Strauss und H. Sachs[3]) läßt sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nach Lävulosezufuhr (100 g in den nüchternen Magen) alimentäre Lävulosurie herbeiführen, welche

[1]) Der Diabetes mellitus. Wien. 1898.
[2]) Deutsch. med. Ztg. 1897. 43; Deutsch. med. Wochenschr. 1901. 27. Nr. 44 u. 45.
[3]) Verh. des Kongresses f. inner. Mediz. 1904. 431.

Tatsache anderweitig bestätigt worden ist (B. Chajes)[1]), so daß man auf das Bestehen einer Lebererkrankung schließen zu können glaubt, weil bei einer erkrankten Leber die Fähigkeit, Fruchtzucker zu verbrennen, verringert ist.

Über die diabetische Lävulosurie wurde schon im vorhergehenden kurze Mitteilung gemacht; die Annahme, daß im Harne der Diabetiker, besonders beim schweren Diabetes, Lävulose nicht selten ausgeschieden wurde, wurde gestützt durch die Ergebnisse der Bestimmungen zwischen Titration und Polarisation oder zwischen Polarisation und Gärung und durch den positiven Ausfall der Probe nach Seliwanoff. Selbstverständlich ist, daß linksdrehende, nicht gärfähige Substanzen (β-Oxybuttersäure, Glykuronsäure) berücksichtigt werden, die ja nicht unschwer durch eine Polarisation des vergorenen Harnes entdeckt werden können. Als einwandfrei kann nach O. Adler der Nachweis der Lävulose im diabetischen Harne erbracht angesehen werden, wenn es gelingt, diese nach einem der später angegebenen Verfahren zu isolieren. Über die Seliwanoffsche Probe siehe diese.

Nach H. Königsfeld[2]) hätte man beim Diabetes auch eine urogene Lävulosurie zu unterscheiden; durch die meist infolge reichlichen Genusses von Alkalien entstehende alkalische Reaktion des Harnes soll ein Teil der ausgeschiedenen Dextrose in Lävulose umgewandelt werden. Wahrscheinlich gibt es auch eine gastroenterogene Lävulosurie, bei der die Assimilationsfähigkeit des Organismus für Lävulose herabgesetzt wird. Weiter soll der Gebrauch alkalischer Wässer die Ausscheidung von Lävulose beim Diabetiker veranlassen können, so daß Königsfeld darauf aufmerksam macht, hier nicht allein die polarimetrische Bestimmung, sondern auch die quantitative Gärungsbestimmung nach Lohnstein vorzunehmen, um Täuschungen durch vermeintliche Verminderung der Traubenzuckerausscheidung auszuschließen. O. Adler kann auf Grund zahlreicher Versuche diese Ansicht nicht bestätigen. Andererseits wird von verschiedenen Forschern [J. Baer[3]), H. Malfatti[4]), J. Ritzema[5])] darauf hingewiesen, daß Lävulosurie im Harne sekundär aus Dextrose beim Einflusse alkalischer Reaktion entstehen kann (siehe bei Probe nach Seliwanoff).

Die im Harne vorgefundene Menge an Fruchtzucker überstieg selten 2%.

Allgemeines über Lävulose enthaltende Harne.

Bei der Ausscheidung von Lävulose (Fructose) allein wird der Harn eine Linksdrehung zeigen, da die Lävulose ein spez. Drehungsvermögen von – 92—92,5° besitzt. Eine Linksdrehung bedingt allerdings auch die Anwesenheit der β-Oxybuttersäure und der gepaarten Glykuronsäuren; das Vorkommen der letzteren kann besonders nach dem Einnehmen verschiedener Arzneimittel veranlaßt werden, worauf man zu achten hat. So wurde durch das Einnehmen von Antipyrin (Bildung von Oxyantipyringlykuronsäure), durch Validol (Menthol mit Baldriansäure) eine durch Traubenzuckergehalt des Harnes bedingte Rechtsdrehung wesentlich beeinflußt. Bei Anwesenheit von Fructose zeigt der Harn natürlich auch Reduktionsvermögen.

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1904. **30**. 696. (Hier gesamte Literatur.)
[2]) Zeitschr. klin. Mediz. 1907. **69**. 291.
[3]) Dissertat. Straßburg. 1899.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **58**. 544.
[5]) Dissertat. Groningen. 1905.

Durch eine Vergärung wird leicht ermittelt werden können, ob Lävulose vorhanden ist oder ob die genannten anderen Stoffe vorliegen; erstens verläuft bei Lävuloseanwesenheit die Gärung positiv (CO_2-Entwicklung) und dann verschwindet die Linksdrehung im vergorenen Harne. Bleibt die letztere bestehen, so ist auf die beiden angegebenen anderen Stoffe zu prüfen.

Bei einer vorhandenen Linksdrehung des Harnes wird man an die Vornahme der Seliwanoffschen Reaktion zu denken haben; ein Eintreten dieser kann die Lävuloseanwesenheit beweisen; im vergorenen Harne tritt die Reaktion nicht mehr auf. Man beobachte aber genau die bei der Ausführung der Probe angeführten Vorsichtsmaßregeln.

Nun kann es vorkommen (was nach obigen Mitteilungen jedoch selten sein soll), daß eine kombinierte Ausscheidung von Dextrose und von Lävulose vorliegen und daß der Harn infolgedessen ein ganz verschiedenes polarimetrisches Verhalten zeigen kann und wird. Je nach dem Verhältnis, in dem die beiden Zucker im Harne enthalten sind, wird das Ergebnis der polarimetrischen Untersuchung ausfallen und eine Berechnung des Zuckergehaltes aus dem Polarisationswerte allein würde zu falschen Resultaten führen, könnte es ja sogar vorkommen, und dieser Fall wurde von Lion beobachtet, daß ein Harn trotz starker Reduktion und Gärung ein optisch inaktives Verhalten zeigen könnte; dies wird eintreten bei einem Mischungsverhältnisse von etwa 1 Teil Dextrose und 1,8 Teilen Lävulose, die Rechtsdrehung der Dextrose wird durch die Linksdrehung der Lävulose gerade aufgehoben.

Man wird deshalb, wenn die Reduktionsproben positiv ausfallen, wenn die Seliwanoffsche Probe eintritt, den Harn quantitativ vergären oder noch eine genaue Zuckerbestimmung auf chemischem Wege ausführen; das Ergebnis der polarimetrischen Prüfung stimmt, wenn beide Zucker vorhanden sind, mit dem bei der Gärung und bei der quantitativen Bestimmung erhaltenen Befunde nicht überein; durch die beiden letzten Bestimmungen wird mehr Zucker erhalten als bei der polarimetrischen. Ein Harn z. B., der außer 2% Glykose 1% Lävulose enthält, würde nach der Titriermethode (Fehling) 2,94% Glykose, nach der Polarisation nur 0,44% enthalten. Zeigt der Gärrückstand weder die Seliwanoffsche Probe, noch eine Linksdrehung, dann kann außer Dextrose Lävulose im Harne vorhanden gewesen sein. Zur weiteren Kennzeichnung wären noch das Neubergsche Verfahren, die Darstellung der Lävulose-Kalkverbindung und die Anreicherung der Lävulose nach dem Benzidinverfahren von O. Adler in Anwendung zu ziehen, denn der gebräuchliche Schluß auf das Vorhandensein von Lävulose aus Differenzbestimmungen zwischen Titration und Gärung oder Polarisation kann trügerisch sein, was von O. Adler, Borchardt hervorgehoben wird; auch bei der Seliwanoffschen Probe können Täuschungen vorkommen (s. S. 336).

Hinweisen möchte ich endlich noch darauf, daß die Prüfungen auf das Vorhandensein von Lävulose nur im frischen, sauren, nicht alkalischen Harne vorgenommen werden müssen, da aus Glykose durch alkalische Reaktion des Harnes (durch die Einwirkung von Hydroxylionen) Fructose gebildet und die Resorcinprobe positiv werden kann.

Darstellung. Isolierung. Nachweis.

1. Darstellung als Methylphenyllävuloseosazon.

Nach C. Neuberg[1]) besitzt man in den sekundären asymmetrischen Hydrazinen, besonders im Methylphenylhydrazin $\begin{matrix}C_6H_5\\CH_3\end{matrix}>N.NH_2$, ein ausgezeichnetes Reagens zur Erkennung und Isolierung der Ketosen; diese geben mit dieser Hydrazinbase ein Methylphenylosazon, während die Aldosen nicht dazu befähigt sind, sie liefern farblose Hydrazone, die leicht von dem intensiv gefärbten Osazon getrennt werden können.

Zur Gewinnung des Methylphenyllävuloseosazons wird nach C. Neuberg und H. Strauss[2]) der Harn zuerst nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zur Entfernung von allenfalls vorhandenem Eiweiß aufgekocht, das Filtrat im Vakuum bei etwa 40° zum dünnen Sirup unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure konzentriert und der Sirup zwei- bis dreimal mit absolutem Alkohol ausgekocht oder mit halb soviel 98%igem Alkohol versetzt, als die angewandte Harnmenge betrug und 5 Minuten auf dem Wasserbade extrahiert; diese Extraktion wird noch 1—2mal wiederholt. Die filtrierten alkoholischen Auszüge werden eingedampft, der Rückstand wird mit Wasser zu einem bestimmten Volumen gelöst, die Lösung filtriert, mit Knochenkohle entfärbt

[1]) Berl. Bericht. 1902. **35**. 959.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36**. 231.

und in einem abgemessenen Teile der Gehalt an reduzierenden Substanzen titrimetrisch bestimmt. (Das Reduktionsvermögen des Traubenzuckers für Kupferoxyd verhält sich zu dem der Lävulose wie 100 : 92,08; nach Sachsse werden 16,67 Traubenzucker vertreten durch 10 Gewichtsteile Lävulose, gegen die Knappsche Lösung verhält sich der Fruchtzucker nahezu gleich dem Traubenzucker.) Dann werden zu der auf etwa 30 ccm eingedampften alkoholischen Zuckerlösung auf 1 Mol. Zucker 3 Mol. Methylphenylhydrazin zugesetzt, worauf man einige Stunden in der Kälte stehen läßt und einen gebildeten Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat oder die ursprüngliche Lösung werden mit einer dem angewandten Phenylhydrazin gleichen Gewichtsmenge 50%iger Essigsäure versetzt; man gibt noch so viel Alkohol zu, daß eine klare Lösung entsteht, die man auf dem kochenden Wasserbade 3—5 Minuten oder besser 24 Stunden im Brutschranke auf 40° erwärmt. Das Methylphenylosazon scheidet sich bei größeren Mengen Fruchtzucker krystallinisch sofort oder nach Zusatz einiger Tropfen Wasser aus; bei geringen Mengen erhält man meist das Osazon als Öl, das beim Reiben oder bei sehr starker Abkühlung (feste Kohlensäure und Äther) erstarrt. Man krystallisiert das Rohprodukt aus Alkohol unter Anwendung von Kältemischung um, löst die Krystalle in heißem Wasser unter Zusatz von etwas Pyridin, kocht mit wenig Tierkohle und engt das Filtrat ein. Das Osazon scheidet sich in gelbroten Nädelchen aus, die aus 10%igem Alkohol umkrystallisiert werden; die Krystalle schmelzen bei 158—160°. Löslich sind sie in heißem Alkohol, in Aceton, Essigsäure, Chloroform, sehr leicht löslich sind sie in Pyridin. Die Substanz ist optisch aktiv; im Pyridin-Alkoholgemisch (4,0 g Pyridin, 6,0 g absol. Alkohol) zeigen 0,2 g Substanz eine Rechtsdrehung von $+1°40'$.

2. Die Darstellung der Lävulose-Kalkverbindung.

Eine solche Verbindung ist zuerst von Dubrunfaut hergestellt worden. Peligót, Ost haben die Methode der Darstellung ausgearbeitet und sie verbessert.

Nach O. Adler[1]) wird der Harn mit konzentriertem neutralem Bleiacetat unter Vermeidung eines größeren Überschusses gefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit und das Schwefelblei abfiltriert. Die Lösung wird im hohen Vakuum konzentriert, wobei durch eine in die Lösung eintauchende Kapillare Wasserstoff, Blase für Blase, zugeführt wird. Wenn leichtflüssige Sirupkonsistenz erreicht ist, wird mehrfach mit Alkohol in der Wärme ausgezogen, die alkoholische Lösung nach völligem Erkalten und mehrstündigem Stehen filtriert, der Alkohol im Vakuum verjagt und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung wird sodann dem Kalkverfahren unterzogen; in die gekühlte Lösung wird frisch bereitetes Kalkhydrat unter Rühren eingetragen, es wird rasch in der Kälte filtriert und das Filtrat in eine Kältemischung eingestellt. Zur raschen

[1]) Archiv Physiol. 1911. **139.** 116; Berl. Bericht. 1909. **42.** 1742.

Kühlung bewährt sich ein Gemisch von Äther und fester Kohlensäure. Nach kurzer Zeit tritt Krystallisation der Lävulose-Kalkverbindung ein, die abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und mit Oxalsäure zerlegt wird.

Auch aus Gemischen mit Dextrose kann die Lävulose isoliert werden; die Ausbeute beträgt im Harne aber kaum mehr als etwa 20% des zugesetzten Zuckers.

3. Das Benzidinverfahren nach O. Adler.[1])

Prinzip.

Bei dreistündigem Kochen einer alkoholischen Lösung von Benzidin mit Glykose entsteht eine krystallisierende Verbindung, Diglykosebenzidid; auch Arabinose und Maltose geben ähnliche Verbindungen, nicht aber Lävulose; in Verbindung mit Glykose kann daher diese in der Benzidinverbindung abgeschieden und angereichert werden.

Der Harn wird gerade so vorbereitet, wie unter 1 angegeben. Der nach dem Entfernen des Alkohols im Vakuum erhaltene Rückstand wird statt in wenig Wasser mit absolutem Alkohol aufgenommen und die alkoholische Lösung des Gemisches von Traubenzucker und Fruchtzucker mit Benzidin behandelt; man erhitzt 3 Stunden am Rückflußkühler (auf 3,8 g Glykose 1,8 g Benzidin in 200 ccm 96%igem Alkohol); es wird dann eingeengt, wodurch der größte Teil der vorhandenen Glykose als Diglykosebenzidid (Schmelzpunkt 127°) ausgefällt wird. Von dieser Ausscheidung wird scharf abgesaugt und im Filtrate das im Überschusse vorhandene Benzidin durch Schwefelsäure quantitativ gefällt. Geringe Mengen etwa noch gelöster Glykosebenzidinverbindung werden hiebei in ihre Komponenten gespalten und das freiwerdende Benzidin gleichzeitig mit gefällt; von dem hiebei entstehenden schwerlöslichen Benzidinsulfat wird abfiltriert; das Filtrat bildet nunmehr eine linksdrehende Lösung von Fructose, die nur eine geringe Beimengung von Dextrose enthält.

Qualitativer Nachweis.

1. Die sogenannte Seliwanoffsche[2]) Probe.

Prinzip.

Die zuerst von Ihl und A. Pechmann[3]) beschriebene Probe beruht darauf, daß alle Ketosen, alle Fruchtzucker enthaltenden Di- und Polysaccharide, beim Erwärmen von Fruchtzucker mit verdünnter Salzsäure und etwas Resorcin eine Rotfärbung geben unter Abscheiden eines in Alkohol mit roter Farbe löslichen Niederschlages. Aldosen und Aldopentosen geben die Reaktion nicht, d. h. wenn nicht zu stark mit der Salzsäure erhitzt wird; bei langem und starkem Erhitzen geben sie, besonders Mannose und Maltose, auch die genannte Färbung.

Die Reaktion beruht nach den Versuchen von A. van Ekenstein und J. J. Blanksma[4]) auf der Bildung von Oxymethylfurfurol, das aus den Aldosen beim Behandeln mit Säuren nur in geringer Menge (etwa zu 1%) entsteht, während aus Lävulose 20% davon sich bilden. Hiebei spielen zwei Punkte eine besondere Rolle, die Konzentration der Säure und die Kochdauer. Aus dem Gesagten wird ersichtlich, daß die Reaktion vorsichtig vorzunehmen und ebenso zu beurteilen ist. Auf weitere störende andere Stoffe wird bei der Beurteilung aufmerksam gemacht.

Ausführung.

Nach Th. Seliwanoff werden 10 ccm Harn mit etwas Resorcin und 2 ccm mäßig verdünnter Salzsäure schnell erwärmt; die Flüssigkeit färbt sich bei Anwesenheit von Fructose rot. Ein sich ab-

[1]) Archiv Physiol. 1911. **139.** 116; Berl. Bericht. 1909. **42.** 1742.
[2]) Berl. Bericht. 1887. **20.** 181.
[3]) Chem. Centralbl. 1885. III. F. **16.** 761.
[4]) Berl. Bericht. 1910. **43.** 2355.

scheidender dunkler Niederschlag löst sich in Alkohol mit prächtig roter Farbe.

Nach K. Miura[1]) erhält man die Reaktion sehr schön, wern man eine Mischung von einem Vol. konz. Salzsäure und zwei Vol. Wasser mit wenig Resorcin und einer Spur Fruchtzucker erwärmt.

A. Tollens[2]) empfiehlt die Probe in folgender Ausführung.

Man gibt 1—2 ccm von einer Mischung von 0,5 g Resorcin, 30 ccm Wasser und 30 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gewicht) zu der zu prüfenden Lösung, die man vorher mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure versetzt hat, und erhitzt sehr langsam über kleiner Flamme; bei Gegenwart von Lävulose tritt bald eine feuerrote Färbung ein.

Am zweckmäßigsten wird man die Reaktion nach dem von O. Adler[3]) angegebenen Verfahren vornehmen.

R. und O. Adler haben gefunden, daß die beim Stehen des Harnes durch Reduktion aus den Nitraten sich bildende salpetrige Säure das Vorhandensein von Lävulose vortäuschen kann; die Genannten erhielten in einer beträchtlichen Anzahl von Harnen positive Reaktionen, während der weitere Gang der Untersuchung keine sicheren Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Lävulose bot; die Ursache war die Anwesenheit von salpetriger Säure. Frische Harne zeigten die Reaktion nicht, nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur gaben aber die gleichen Harne eine deutliche Nitrit- und Resorcinreaktion. Bei der Vergärung verschwindet die salpetrige Säure; man muß daher mit der Beurteilung vorsichtig sein, ein positives Eintreten der Reaktion im Harne direkt und ein negatives im vergorenen Harne darf man nur dann als für Fruchtzucker beweisend ansehen, wenn keine Nitrite vorhanden oder wenn diese entfernt waren.

Zwei Teile Harn werden mit einem Teile 36%iger Salzsäure versetzt. Hierauf wird ohne Zusatz von Resorcin zum Sieden erhitzt und die Lösung durch 20 Sekunden im Kochen erhalten. Von der Flüssigkeit wird etwa die Hälfte gesondert in ein Reagenzglas gegossen; dieser Teil dient als Kontrolle über die durch Salzsäure allein entstandene Färbung. Zum anderen Teile wird eine kleine Messerspitze Resorcin zugefügt; nunmehr werden beide gesonderten Teile gleichzeitig nochmals für einen Moment aufgekocht. Die mit Resorcin versetzte Lösung nimmt bei Gegenwart von Lävulose eine charakteristische Rotfärbung an mit nachfolgender Bildung eines Niederschlages, der in Alkohol leicht löslich sein muß. Der Zusatz von Resorcin erst nach dem Kochen hat den Zweck, die salpetrige Säure vor dem Anstellen der Probe zu entfernen; die Verwendung einer Kontrolle in der angegebenen Weise läßt eine Beurteilung über die durch Salzsäure allein auftretende Rotfärbung zu; der bei Vorhandensein auch geringer Lävulosemengen auftretende charakteristische Farbenton läßt sich bei einiger Übung leicht erkennen.

H. Rosin[4]) läßt gleiche Teile Harn und Salzsäure mit einigen Körnchen Resorcin kochen; bei 90° tritt bereits rote Färbung ein. Nach dem Erkalten neutralisiert man mit

[1]) Zeitschr. Biolog. 1895. 322.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1901. **40.** 559.
[3]) l. c.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **38.** 555; 1904. **41.** 549

Soda und schüttelt mit Amylalkohol aus; dieser färbt sich rot mit grüner Fluorescenz und zeigt im Spektralapparate Doppelstreifen in Blaugrün und Grün.

Eine von E. Pinoff[1]) angegebene Abänderung hat sich nach N. Schoorl und P. C. J. van Kalmthout[2]) nicht bewährt.

L. Borchardt[3]) gibt ein Verfahren an, das einwandfreie Ergebnisse liefern soll. Einige Kubikzentimeter Harn werden in einem Reagenzglas mit der gleichen Menge 25%iger Salzsäure und mit einigen Körnchen Resorcin einmal aufgekocht. (Nach anderer Mitteilung wird 12%ige Salzsäure verwendet und genau 20 Sekunden erhitzt.) Beim Eintreten der Rotfärbung kühlt man mit Wasser, macht mit Soda alkalisch und schüttelt mit Essigäther aus, der sich bei Gegenwart von Lävulose gelb färbt. Nitrite und Indican können die gleiche Reaktion geben; erstere können durch Kochen des Harnes mit Essigsäure, letzteres kann durch Obermeyersches Reagens und Ausschütteln mit Chloroform entfernt werden. Santonin-, rheumhaltige Harne, auch Urorosein geben ähnliche Reaktionen.

Beurteilung.

In erster Linie ist Hauptbedingung für ein einwandfreies Ergebnis, daß nur frischer, eiweißfreier Harn verwendet wird, vor allem kein alkalisch reagierender, da, wie wir gesehen haben, einerseits entstandene Nitrite die Reaktion vortäuschen können, andererseits durch alkalische Reaktion aus Glykose Spuren von Fructose gebildet worden sein können. Jedenfalls ist Vorsicht bei der Bewertung der Probe geboten; man nehme keine zu konzentrierte Säure und koche nur kurz; wenn die Reaktion nach kurzer Erwärmung (einmaliges kurzes Aufkochen) eintritt, dann kann auf die Anwesenheit von Lävulose geschlossen werden.

Zu den einzelnen Abänderungen der Probe ist noch zu bemerken, daß nach W. Voit[4]) die Probe nach Rosin nicht immer eindeutig und einwandfrei ist. H. Malfatti[5]) gibt an, daß sowohl durch starke Säuren, wie durch schwache Alkalien, Carbonate, Acetate, Phosphate usw., also unter Verhältnissen, wie sie im Harne gegeben sind, eine geringe Umwandlung von Dextrose in Lävulose eintreten kann und eintritt. Um die störenden Farbstoffe zu entfernen, säuert man den Harn mit einigen Tropfen konz. Salzsäure an und setzt tropfenweise starke Permanganatlösung hinzu, bis die auftretende Rötung nur mehr sehr langsam verschwindet. Ein so vorbehandelter Harn darf nach Borchardts Methode mit Essigäther keinerlei Rotfärbung zeigen, außerdem muß noch Permanganatlösung zugesetzt werden. Gegenüber positiven Lävulosereaktionen im Harne ist die größte Vorsicht und Zurückhaltung am Platze. Nach Malfatti soll die Säurekonzentration im Gemisch möglichst nur 12,5% Salzsäure betragen, erhitzt soll im Wasserbade 1 Minute lang werden.

Nach W. Voit[6]) sind Harne, die über 2,5% Traubenzucker enthalten, entsprechend zu verdünnen; der Ausfall der Probe nach Borchardt ist nur als positiv anzusehen, wenn eine ziemlich starke Gelbfärbung des Essigäthers aufgetreten ist; auch mit normalem Harne fällt diese Probe zuweilen positiv aus, ebenso zeigten Harne von Diabetikern die Reaktion, so daß auch sie nicht zum Gegenbeweis einer diabetischen Lävulosurie angeführt werden darf. Nach Voit ist die Probe nicht brauchbar.

Nach A. Jolles[7]) soll auch in hochkonzentrierten urobilinreichen und zuckerfreien Harnen eine Rotfärbung eintreten.

2. Kocht man Lävulose mit konz. alkoholischer Lösung von Diphenylamin und etwas Salzsäure, so färbt sich die Flüssigkeit gelbgrün, dann dunkelblau (Ihl und Pechmann).

Nach A. Jolles[8]) werden Harne, die keine Dextrose oder solche bis zu 2,5% enthalten, zehnfach verdünnt. Von dem verdünnten Harne versetzt man 1 ccm mit 8—10 Tropfen einer 20%igen alkoholischen Diphenylaminlösung und 1 ccm konz. Salzsäure und erhält etwa eine Minute im Kochen. Bei Anwesenheit von 0,05% Lävulose tritt nach etwa 40 Sekunden eine blaue Färbung auf. Harne mit höherem Zuckergehalte müssen 20-fach verdünnt werden.

Beurteilung.

Dextrose soll in der angegebenen Zeit keine Färbung geben.

3. J. Bang[9]) verwendet die zum Nachweis der Gallensäuren empfohlene Reaktion umgekehrt zum Nachweis der Fruktose.

---

[1]) Berl. Bericht. 1906. **38.** 3314.
[2]) Ebenda. 1906. **39.** 284.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **55.** 241; 1909. **60.** 411.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **58.** 122; **61.** 92.
[5]) Ebenda. 1909. **58.** 544.
[6]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **58.** 122; 1909. **61.** 92.
[7]) Archiv Pharm. 1906. **244.** 542.
[8]) Ebenda. 1906. **244.** 542; Zeitschr. angew. Chem. 1912. **25.** 2015.
[9]) a. a. O.

In einem Proberöhrchen setzt man 1—2 Tropfen Rindergalle (die nach Zusatz von Toluol lange haltbar ist) oder ein Körnchen krystallisierter Rindergalle zu 1—2 Tropfen Harn (höchstens 0,2—0,3 ccm) und etwa 3 ccm rauchender Salzsäure und kocht $^1/_2$—1 Minute über freier Flamme. Ist Fruktose anwesend, so beobachtet man eine schön violette Färbung, die beim Stehen stärker wird und nach dem Abkühlen sich unverändert hält. Spektroskopisch sieht man das Spektrum wie bei der Pettenkoferschen Reaktion.

Die Probe soll empfindlich sein; mit Rohrzucker tritt sie auch ein, ebenso erhält man mit Traubenzucker beim längeren Kochen eine schwache violette Färbung. Es ist selbstverständlich, daß hier, wie bei der Probe nach Seliwanoff, dieselben Bedenken und die gleiche Vorsicht gerechtfertigt erscheinen.

Zur quantitativen Bestimmung des Fruchtzuckers können, wenn nur dieser vorhanden ist, sowohl die Polarisation, die Gärung und irgendeine der titrimetrischen Methoden in Anwendung kommen. Anders liegt die Sache bei kombinierter Ausscheidung von Dextrose und Lävulose. Geringe Mengen letzterer können schon qualitativ nicht ohne erhebliche Schwierigkeiten mit Sicherheit nachgewiesen werden; der Nachweis der vorhandenen Menge ist, wenn es sich um diese geringen Mengen handelt, unmöglich. Bei dem Vorhandensein größerer Mengen Fructose neben Glykose kann erstere wohl durch den Vergleich der bei der titrimetrischen Methode, der Gärprobe und der Polarisation erhaltenen Ergebnisse berechnet und bestimmt werden. Nach meinen Erfahrungen ist eine genaue Trennung der beiden Zuckerarten im Harne zurzeit mit Sicherheit nicht möglich.

Th. Lohnstein[1]) gibt über die in Frage stehende Ermittelung Folgendes an. Wenn die Polarisationsbestimmung gegenüber der Bestimmung durch Gärung einen erheblich verschiedenen, und zwar kleineren Wert ergibt, so ist dies nur so zu erklären, daß der untersuchte Urin gleichzeitig Dextrose und Lävulose enthält. Mit Hilfe der Drehungskonstanten der Dextrose (52,5) und der Lävulose (92,5) kann man aus der polarimetrischen Ablesung P und der Saccharometerzahl S die Prozentzahlen x der Dextrose und y der Lävulose berechnen.

Gesetzt: Die polarimetrische Prüfung P habe 1%, die durch Gärung vorgenommene (saccharometrische) aber 7% Zuckergehalt ergeben.

Da $92{,}5 : 52{,}5 = 37 : 21$, so hat man folgende beide Gleichungen ersten Grades:

$$x = \frac{37}{21}\, y = P,\quad x + y = S,$$

woraus in bekannter Weise folgt:

$$y = \frac{21}{58}\,(S - P) \text{ und } x = \frac{37}{58}\,S + \frac{21}{58}\,P.$$

Rechnerisch ersetzt man die zweite Gleichung praktischer durch $x = S - y$ und berechnet zuerst y nach der Formel.

Im vorliegenden Falle ergibt sich, wenn zunächst die Saccharometerzahl 7 nach 1 in $\frac{7 \times 10}{13} = 5{,}4$ verbessert wird:

$$y = \frac{21}{58}\,(5{,}4 - 1) = \frac{21}{58} \cdot 4{,}4 = 1{,}6,$$

und daraus:

$$x = 5{,}4 - 1{,}6 = 3{,}8.$$

Der untersuchte Urin enthielt sonach 3,8% Dextrose und 1,6% Lävulose.

Ich mache aber darauf aufmerksam, daß der Gärrückstand ebenfalls polarimetrisch zu prüfen ist, um den Nachweis zu haben, daß gepaarte Glykuronsäuren oder aber linksdrehende Stoffe fehlen.

Eigenschaften.

Die Lävulose krystallisiert nur aus reinen Lösungen in seidenglänzenden Nadeln oder kugeligen Aggregaten; außerdem bleibt sie amorph; Schmelz-

[1]) Pharm. Ztg. 1913. 58. 220.

punkt nicht scharf, zwischen 95 und 105°; in Wasser, Alkohol ist die Lävulose leicht löslich; reichlich löst sie sich in heißem absolutem Alkohol und in heißem Methylalkohol; in Ätheralkohol ist sie viel leichter löslich, als alle anderen Zuckerarten. Sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; die Drehung ist aber keine konstante und besonders von Konzentration, Temperatur und anderen Umständen abhängig; bei 20° dreht z. B. eine 10%ige Lösung $[\alpha]_D = -90{,}716$, eine 20%ige $-93{,}299$, nach Parcus und Tollens $-92{,}25°$. 1 g Lävulose in 100 ccm Wasser gelöst, zeigt im 2 dm-Rohr eine Drehung von $-1{,}84°$ oder 1° Drehung im 2 dm-Rohr $= \frac{1}{1{,}84} = 0{,}543$ g Lävulose. Sonst verhält sich die Lävulose sehr ähnlich der Dextrose, mit Ausnahme der Reaktion nach Seliwanoff und der Eigenschaft, mit den sekundären asymmetrischen Hydrazinen ein Osazon zu bilden. Gegen Alkalien und Säuren ist sie empfindlicher. Bei der Einwirkung von wenig, selbst sehr verdünnter Salzsäure entsteht nach A. Wohl durch Reversion ein dextrinartiges, weniger reduzierendes und schwächer drehendes Produkt (Lävulosin). Durch Hefe wird die Lävulose vergoren; mit salzsaurem Phenylhydrazin gibt sie ein Phenylglykosazon. Durch Ätzkalk kann aus verdünnten Lösungen die Fructose beinahe quantitativ als Calciumverbindung ausgefällt werden. Im Harne ist die Lävulose durch Bleiessig fällbar.

D. Rohrzucker. Saccharose. $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Wegen der hohen Assimilationsgrenze des Rohrzuckers geht dieser selbst nach dem Genuß von großen Mengen nicht unverändert in den Harn über, da im Darmkanal durch das hier vorhandene saccharosespaltende Enzym, Invertin, eine vollständige Hydrolyse des Rohrzuckers erfolgt; es kann unter diesen Umständen Glykose (und Fruktose) im Harne auftreten und nur ausnahmsweise könnte es zu einer alimentären Saccharosurie kommen. Nach subkutaner und intravenöser Injektion geht dagegen die Saccharose nach F. Voit fast quantitativ in den Harn über, da der Organismus den Rohrzucker nicht direkt zu verarbeiten vermag.

Nach einzelnen Autoren (K. Smolenski[1]) fand in einem Harne Rohrzucker, und zwar schied der Patient nach Darreichen von Rohrzucker diesen im Harne reichlich aus) wäre die Cammidgesche Reaktion vielleicht durch Saccharose veranlaßt, was aber wohl unwahrscheinlich ist. Nach R. Bernier[2]) ist das Vorkommen von Saccharose im normalen Harne nicht selten.

Nachweis.

Rohrzucker reduziert Fehlingsche Lösung bekanntlich nur nach der Hydrolyse. Der Nachweis gelingt leicht durch Reduktions- und Polarisationsversuche vor und nach der Hydrolyse. Zur quantitativen Bestimmung können das nach der Behandlung mit Salzsäure (nach der Inversion) auftretende Reduktionsvermögen und die Ermittelung der polarimetrischen Werte vor und nach der Inversion dienen.

Zur Inversion erwärmt man 75 ccm Harn mit 5 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gew.) 5 Minuten im Wasserbade bei 68—70°.

Der Harn, der Saccharose enthält, dreht vor der Inversion rechts, nach der Inversion links. Das spez. Drehungsvermögen des Rohrzuckers beträgt $[\alpha]_D = +66{,}5°$. 1 g Rohrzucker in 100 ccm Lösung bewirkt im 200 mm-Rohr eine Rechtsdrehung von 1,331°; 1° Drehung im 200 mm-Rohr = 0,7513 g Rohrzucker. Nach der Inversion dreht die Lösung (1 g in 100 ccm) = 0,461° links.

Zur quantitativen Bestimmung der Saccharose im Harne neben anderen Zuckerarten, empfiehlt A. Jolles[3]) ein Verfahren, das auf der auch von ihm nachgewiesenen Tatsache beruht,

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **60.** 119.
[2]) Journ. Pharm. et Chim. 1914. [7]. **9.** 493.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1912. **43.** 64; 1913. **57.** 420; Chem. Ztg. 1913. **37.** 1200.

daß mit Ausnahme des nicht direkt reduzierenden Rohrzuckers alle Mono- und Disaccharide (Dextrose, Lävulose, Invertzucker, Maltose, Galaktose, Arabinose, Laktose und Rhamnose) mit entsprechend starker Natronlauge längere Zeit bei 37° behandelt, optisch inaktiv werden; Saccharose bleibt vollkommen unverändert.

Ausführung.

Harne bis zu 5% Dextrose werden im Verhältnisse 1 : 1, Harne mit mehr als 5% Dextrose im Verhältnisse 1 : 2 mit destilliertem Wasser verdünnt.

100 ccm der Lösung werden mit 2,5 ccm einer $^{4n}/_{1}$ Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäße im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen. Hierauf wird abgekühlt und mit Essigsäure schwach angesäuert; 50 ccm werden mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1 : 10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Beobachtet man eine geringe negative Enddrehung, so ist Saccharose nicht vorhanden. Ergibt sich eine positive Polarisation, so ist Saccharose im Harne vorhanden, und zwar entspricht 1° V. = 0,278% (0,26048 g in 100 ccm Lösung) Saccharose, wobei dann noch Rücksicht auf die Verdünnung zu nehmen ist. 1° Drehung in den Polarisationsapparaten von Laurent, Mitscherlich, Wild mit Kreisgradteilung bei 17,5° im 200 mm-Rohr = 0,750 g Rohrzucker.

Die Methode gestattet nach Jolles noch 0,2% Saccharose im Harne mit Sicherheit nachzuweisen.

In Harnen, die β-Oxybuttersäure oder andere optisch aktive Substanzen, von Medikamenten herrührend, enthalten, ferner in Harnen, die in ammoniakalische Gärung übergegangen sind oder einen abnorm hohen Gehalt an Ammoniumsalzen aufweisen, gibt die Methode keine zuverlässigen Resultate.

E. *Milchzucker.* Lactose. Lactobiose. Galactoglucose.

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O.$$

Der Milchzucker kommt nach Untersuchungen von A. de Sinéty, Ch. Porcher, F. Hofmeister und Fehling nur im Harne von Wöchnerinnen vor bei Milchstauung, durch die eine Resorption des Zuckers aus der Drüse in die Säftemasse veranlaßt wird (Lactosurie). Der Milchzuckergehalt des Harnes übersteigt nach F. Blumenthal 1% nie; nach dem gleichen Forscher zeigen etwa 80% der Frauen, die nicht stillen oder das Säugegeschäft unterbrechen oder bei denen überreichliche Milchsekretion vorhanden ist, Lactosurie, und zwar beobachteten Blumenthal wie Pavy bei Frauen nach fünf Monaten nach der Entbindung noch Milchzuckerausscheidung. Man wird deshalb bei der Diagnose in solchen Fällen vorsichtig sein müssen, um diese Ausscheidung nicht mit Diabetes zu verwechseln, denn ein Milchzucker enthaltender Harn reduziert ebenfalls Fehlingsche und Wismutlösung, er dreht genau so stark nach rechts wie ein Traubenzucker enthaltender Harn; hier gibt vor allem die Gärprobe Aufschluß, da Milchzucker mit der gewöhnlichen Hefe der alkoholischen Gärung nicht unterliegt. Zu bedenken ist auch, daß während der Schwangerschaft und im Wochenbette unter Umständen Diabetes sich einstellen könnte, so daß die sichere Ermittelung der Art des ausgeschiedenen Zuckers von wesentlicher Bedeutung ist. Nach anderen Forschern (Naunyn, Porcher) kann die ausgeschiedene Milchzuckermenge bis auf 2—3%, ja sogar bis auf 4% steigen. Es gibt auch hier eine alimentäre Lactosurie.

F. A. Lemaire[1]) fand im Harne der Wöchnerinnen Milchzucker, in dem Harne der gleichen Frauen vor der Entbindung keinen.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895/96. 21. 442.

Nach Groß, Langstein und Steinitz wurden bei magendarmkranken Säuglingen Lactose und d-Galaktose im Harne vorgefunden.

Bei Diabetikern wird nach dem Genuß von Milchzucker Glykose ausgeschieden.

Darstellung.

1. Nach F. Hofmeister[1]) wird der Harn (500—1000 ccm) mit neutralem Bleiacetat versetzt, solange eine Fällung eintritt; es wird filtriert, der Niederschlag wird ausgewaschen, 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 wird durch Durchsaugen eines Luftstromes entfernt, die Flüssigkeit wird 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 so weit ein, daß noch kein sirupartiger Rückstand entsteht, der mit so viel 90%igem Alkohol versetzt wird, bis ein flockiger Niederschlag sich bildet, der aber keine optisch wirkende Substanz enthalten darf.

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

2. Nach F. A. Lemaire kann der Milchzucker aus dem Harne zugleich mit den übrigen Kohlenhydraten durch die Benzoylester (S. 255) gewonnen und isoliert werden. Man verwendet 1—1½ Liter Harn. Der Benzoylester wird mit Natriumäthylat versetzt, Benzoesäure, Natriumsulfat und Alkohol werden entfernt (s. S. 257); die Zuckerlösung, die einen Gehalt von etwa 1—2% enthalten soll, widrigenfalls man einengt, wird mit Phenylhydrazin behandelt (S. 284). Man kocht eine Stunde im Wasserbade und filtriert heiß. Man kann für die Phenylhydrazinprobe auch den Harn nach der Behandlung mit Quecksilberacetat (S. 275) verwenden. Zum Unterschiede von den Phenylglykosazonkrystallen, die in heißem Wasser schwer löslich sind und auf dem Filter zurückbleiben, bleiben das Osazon des Michzuckers und auch das der Isomaltose, die wohl nur in solchen Spuren vorhanden ist, daß sie nicht in Betracht kommen dürfte (s. Isomaltose), im Filtrate und scheiden sich daraus erst beim Abkühlen ab. Am besten kühlt man zur Trennung der Lactose und Glykose die heiße Lösung von der Behandlung mit Phenylhydrazin schnell ab; das Lactosazon scheidet sich aus. Man filtriert und wäscht den Niederschlag auf dem Filter zuerst mit kaltem und dann mit siedendem Wasser aus; das Lactosazon, in heißem Wasser 1 : 80 löslich,

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

befindet sich im Filtrate und scheidet sich beim Erkalten aus; durch Lösen des ausgeschiedenen Lactosazons in einer möglichst kleinen Menge 50%igen Acetons wird es von Spuren Glykosazon gereinigt. Das Glykosazon bleibt auf dem Filter zurück. Das Phenyllactosazon krystallisiert in feinen zu Kugeln vereinigten Krystallnadeln, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser einen Schmelzpunkt von 210° C besitzen.

Nach C. Neuberg zeigt eine Lösung von 0,2 g Osazon in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol bei der Polarisation im 100 mm-Rohr eine Drehung von $\pm 0°$ (S. 286).

Im allgemeinen sichern auch die Zunahme des Drehungs- und Reduktionsvermögens einer Lösung des isolierten Zuckers nach mehrstündigem Kochen mit 2—5%iger Schwefelsäure, das Fehlen der Gärungsfähigkeit innerhalb zwölf Stunden (s. Eigenschaften), der Schmelzpunkt (203,5), das negative Verhalten gegen das Barfoedsche Reagens (Lösung von 0,5 g essigsauren Kupfers in 100 ccm Wasser und 1 g Essigsäure, nach anderer Mitteilung 13,3 g kryst. neutrales Kupferacetat in 200 ccm 1%iger Essigsäure gelöst), sowie die Krystallform für sich, und die des Phenyllactosazons, auch die Polarisation des Osazons den Nachweis des Milchzuckers. Glykose reduziert im Gegensatze zu Lactose Barfoedsches Reagens leicht. Im Harne direkt ist dieses Reagens aber nicht zu verwenden, da es schon von normalem Harne reduziert wird.

Zur Unterscheidung von pentosehaltigem Harne kann man die für Pentose charakteristischen Reaktionen in Anwendung ziehen.

Nachweis.

1. Nach M. Rubner[1]) färbt sich eine Lösung von Milchzucker bei dem drei bis vier Minuten dauernden Kochen mit viel Bleizucker gelb bis gelbbraun; nach Zusatz von Ammoniak tritt ziegelrote Färbung ein, zugleich scheidet sich ein schön kirsch- bis kupferroter Niederschlag ab. Wenn auch Traubenzucker vorhanden ist, ist die Probe unsicher.

   G. Buchner[2]) empfiehlt folgende Ausführung:

   Man versetzt in einem Reagenzglase etwa 10 ccm Harn mit drei Tropfen Ammoniaklösung (0,96 spez. Gewicht) und setzt vier bis fünf Tropfen Bleizuckerlösung zu. Das Reagenzrohr bringt man ins Wasserbad; bei Gegenwart von Glykose färbt sich der anfangs weiße Niederschlag bald fleischfarbig bis ockergelb, während bei Gegenwart von Lactose der Niederschlag reinweiß bleibt.

2. Reaktion nach A. Wöhlk[3])-H. Malfatti.[4])

   Zu 5 ccm Harn fügt man etwa die Hälfte des Volumens starke Ammoniakflüssigkeit, mindestens 10%ig, und etwa 5 Tropfen

[1]) Zeitschr. Biolog. 1884. **20.** 405.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1898. **45.** 749. 788.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1904. **43.** 670.
[4]) Zentralbl. Harn. u. Sexualorg. 1905. **16.** 68.

Kalilauge und erwärmt in einem heißen, aber nicht siedenden Wasserbade; oft schon nach 5 Minuten tritt bei Anwesenheit von Milchzucker eine Rotfärbung auf; bei einem Gehalte von nur 0,2% Milchzucker bemerkt man die Färbung erst nach etwa 10 Minuten.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Traubenzucker entsteht eine bräunlich-rote oder rein braune Färbung, je nach der Menge des Traubenzuckers; wenn diese unter 1% beträgt, wird die Empfindlichkeit der Wöhlk-Malfattischen Probe nur unwesentlich beeinträchtigt.

3. Fränkel empfiehlt die Tollens-Salkowskische Probe.

In 2 ccm reiner rauchender Salzsäure (1,19 spez. Gew.) löst man in der Wärme Phloroglucin, bis etwas ungelöst bleibt. Man kocht und setzt 2 ccm Harn zu; es entsteht eine kirschrote Färbung. Bei größeren Zuckermengen setzt sich ein gefärbter Niederschlag ab, der nach dem Auswaschen in 2 ccm Alkohol gelöst wird.

Die kirschrote Lösung zeigt im Spektroskope keine Absorptionsstreifen zum Unterschiede von Pentosen und von Glykuronsäuren.

4. K. Herzberg[1]) empfiehlt den Nachweis kleinster Milchzuckermengen im Harne durch Bildung von Formaldehyd.

10 ccm eiweißfreier klarer Harn werden mit 0,2 g essigsaurem Phenylhydrazin und 0,4 g Natriumacetat 20 Minuten im siedenden Wasserbade gehalten und langsam abgekühlt; eine nach 24 Stunden entstandene Abscheidung wird auf einem kleinen Filter gesammelt, zweimal mit kaltem Wasser gewaschen und in siedendem Wasser gelöst. 2—5 ccm der Lösung werden mit soviel Oxydationsgemisch (40 ccm 1%ige Kaliumpermanganatlösung, 100 ccm Wasser, 60 ccm verdünnte Schwefelsäure) versetzt, daß nach dem Erhitzen ein Niederschlag von Braunstein bleibt; nach 5 Minuten wird mit 5 Tropfen gesättigter Oxalsäurelösung entfärbt, mit einer Messerspitze Pepton erwärmt, mit 1 Tropfen 3%iger Eisenchloridlösung und $^1/_2$ Vol. konz. Salzsäure versetzt und eine halbe Minute im Sieden gehalten. Bei Milchzuckeranwesenheit — Blaufärbung.

Beurteilung der qualitativen Reaktionen.

Ganz zuverlässig sind die Proben sämtlich nicht, wenn sie mit dem Harne direkt vorgenommen werden; es ist am sichersten, mit dem rein dargestellten Zucker die Reaktionen anzustellen. Unerläßlich für eine Diagnose sind die in der angegebenen Weise (s. Eigenschaften) vorgenommene Gärprobe, also mit sterilisiertem Harne und unter Verwendung von Saccharomyces apiculatus, und die Phenylhydrazinprobe.

Zu bemerken ist, daß sich bei der Gärprobe Pentose wie Milchzucker verhält.

Quantitative Bestimmung.

1. Durch Titration mit der Fehlingschen Lösung. 10 ccm = 0,0676 g Milchzucker (in 1%iger Lösung bei einer Kochdauer von 6 Minuten).
2. Colorimetrische Bestimmung des Milchzuckers im Harne nach W. Autenrieth und A. Funk.[2])

Erfolgt mit dem Colorimeter von Autenrieth-Koenigsberger. Die Ausführungsweise der Bestimmung wird von der das Colorimeter liefernden Firma Hellige & Cie. in Freiburg mit zugesandt.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1921. **119.** 81.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** 1717.

3. R. Bauer[1]) gibt folgendes Verfahren an:

Prinzip.

Milchzucker und galactosehaltiger Harn wird mit Salpetersäure oxydiert und die aus dem Zucker entstandene Schleimsäure ermittelt.

Ausführung.

100 ccm Harn werden mit 20 ccm reiner konz. Salpetersäure (spez. Gew. 1,4) versetzt und in einem breiten, wenig tiefen Becherglase im siedenden Wasserbade eingedampft. Der Harn wird beim Zusatz der Salpetersäure gewöhnlich dunkel, beim Erwärmen aber bald wieder heller und bleibt hell, bis er auf 40—50 ccm eingedampft ist. In diesem Stadium beginnt die Flüssigkeit sich mehr braun zu färben, gerät in gelindes Schäumen und es entweichen, insbesondere beim Schütteln, braune Dämpfe, die Oxydation findet statt. Diese Entwicklung von braunen Dämpfen dauert gewöhnlich so lange, bis der Harn auf ein Volumen von 20 ccm eingedampft ist; dann wird die Flüssigkeit heller, hört auf zu schäumen, und man sieht, daß sich in der gelben, früher klaren Flüssigkeit ein feiner weißer Niederschlag bildet, der rasch an Masse zunimmt. Man nimmt nun das Becherglas aus dem Wasserbade, bringt den Inhalt in ein kleineres Gläschen und wäscht zweimal mit etwas destilliertem Wasser nach. Der Niederschlag nimmt in der Kälte rasch zu, weshalb man am besten die eingedampfte Flüssigkeit über Nacht am kühlen Orte stehen läßt. Nun wird mit Wasser verdünnt und der Niederschlag auf ein Filter gebracht. Nach wiederholtem Waschen mit destilliertem Wasser, auch mit Alkohol und Äther, wird der Niederschlag getrocknet und gewogen. 2 g Schleimsäure entsprechen 2,5 g Galaktose, 0,5 g = 0,62 g.

Zu bemerken wäre noch, daß die Menge der zugesetzten Salpetersäure eine Rolle spielt und daß dieser Zusatz nach der Menge der im Harne enthaltenen oxydierbaren Substanzen, für die das spezifische Gewicht einen genügenden Anhaltspunkt liefert, zu bemessen ist; gewöhnlich hat man zu 100 ccm Harn 20 ccm Salpetersäure zuzusetzen, bei Harn, der ein höheres spezifisches Gewicht als 1,020 hat, ist mehr Salpetersäure, etwa 25 bis 35 ccm, zuzugeben. Das Eindampfen ist bis auf 20 ccm vorzunehmen, die Oxydation, die Entwicklung von braunen Dämpfen muß aber erst stattgefunden haben. Schleimsäure erhält man aus Harn, der mindestens 1% Galaktose enthält; die Ausbeute ist nicht konstant; man erhält nur etwa 70—80% der vorhandenen Galaktose. Auch zum Nachweise des Milchzuckers kann die Methode verwendet werden.

Eigenschaften.

Der wie angegeben erhaltene Milchzucker krystallisiert in vierseitigen Prismen (Schmelzp. 203,5°) und verliert sein Wasser bei 130°, schneller bei 140—145°; er löst sich in Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol und in Äther. Er reduziert Metalloxyde in alkalischer Lösung, dreht die Polarisationsebene nach rechts $[\alpha]_D = +52{,}53°$ für das Hydrat bei 20° C (Hesse & Schmoeger). Frische Lösungen zeigen Multirotation. Mit verdünnten Säuren gekocht (1 T. Laktose und 10 T. 2%ige Schwefelsäure 4 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt) geht er in gleiche Teile Traubenzucker (d-Glukose) und in direkt gärungsfähige d-Galaktose über; das gleiche erfolgt durch Emulsin. Das Drehungsvermögen des „invertierten" Milchzuckers ist +68,5°. Durch Salpetersäure wird der Milchzucker zu schwer löslicher Schleimsäure oxydiert; mit essigsaurem Phenylhydrazin erwärmt gibt er das näher beschriebene, in heißem Wasser lösliche Phenyllactosazon. Er unterliegt der alkoholischen Gärung durch Alkoholhefen zwar nicht, doch ist die Vergärungsprobe nur dann beweisend, wenn eine Reinkultur von Saccharomyces apiculatus (Voit) Anwendung gefunden hat und wenn der Harn vorher durch zweistündiges Erhitzen im strömenden Dampf sterilisiert war; manche Handelshefen sind so unrein, daß sie oft auch den Milchzucker rasch angreifen, wenn auch im allgemeinen die Hefe innerhalb 12 Stunden mit Milchzucker keine Kohlensäure entwickelt. Durch Kefyr

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **51.** 158.

und besondere Hefearten, auch durch Spaltpilze, durch ein Enzym (Lactase) wird der Milchzucker in Gärung versetzt. Nach Tanret tritt auch der Milchzucker in drei Modifikationen auf, was allerdings beim Harne nicht in Betracht kommt.

Galaktose (nicht zu verwechseln mit Laktose oder Milchzucker).

Die, wie oben erwähnt, beobachtete d-Galaktose, eine Aldose $C_6H_{12}O_6$ krystallisiert mit 1 Mol. Krystallwasser aus Wasser in Prismen oder Nadeln und schmilzt bei 118—120°; wasserfrei wird sie aus Methyl- oder Äthylalkohol erhalten und zeigt dann einen Schmelzpunkt von 168 bis 170°. Die für den Harn in Betracht kommende Galaktose besitzt ein Drehungsvermögen von $\alpha[_D] = + 81{,}3°$. Galaktose ist mit Hefe, wenn auch langsam, vergärbar; notwendig ist hiebei der Zusatz von Nährlösungen. Die Reduktionserscheinungen stimmen mit den der Glykose überein, das Reduktionsvermögen ist dem der Lävulose gleich. Zur Orientierung kann das Verhältnis zwischen Polarisation und Titration dienen. Das Galaktosazon unterscheidet sich vom Glukosazon durch den Schmelzpunkt, von dem Laktosazon durch seine schwere Löslichkeit in kaltem und heißem Wasser. Bei an Galaktose reichem Harne kann man diesen in der bekannten Weise mit Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat (Phenylhydrazin und Essigsäure) behandeln, bei Harn, der arm ist an Galaktose, behandelt man den Harn vorher mit Quecksilbernitratlösung (S. 296), engt das Filtrat, aus dem man das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt hat, auf dem Wasserbade ein und erwärmt etwa 1—2 Stunden mit essigsaurem Phenylhydrazin. Das nach dem Abkühlen ausfallende Osazon sammelt man auf einem Filter, bringt etwa beigemengtes Laktosazon durch Waschen mit heißem Wasser in Lösung und krystallisiert zurückbleibendes Galaktosazon aus verdünntem Alkohol um; man wäscht mit Äther und trocknet. Schmelzpunkt 194°. Zum Unterschiede von der Glykose kann man auch die Darstellung der Schleimsäure benützen (S. 343).

Mit Phloroglucin gibt die Galaktose eine ähnliche Reaktion, wie die Pentosen, die Lösung zeigt aber zum Unterschiede keinen Absorptionsstreifen.

Bei gesunden Menschen geht die Galaktose nach dem Genusse von geringen Mengen (20 g) in den Harn über (F Voit); bei Diabetikern wird die Ausscheidung von Traubenzucker erhöht; ein Ausscheiden von Galaktose erfolgt hier nicht.

F. *Maltose, Isomaltose.* $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

Maltose haben nach ihren Angaben C. Le Nobel[1]), F. v. Ackeren[2]), Rosenheim und Flatow, sowie R. Lépine[3]) und Boulud im Harne beobachtet, und zwar in einer 0,1—0,5% betragenden Menge; Kottmann fand Maltose bei Diabetes, ebenso H. Ch. Geelmuyden[4]), letzterer in 4 Fällen. Angeblich hat man Maltose bei mit Glykosurie verbundenen Erkrankungen des Pankreas gefunden.

Die Maltose zeigt in ihren Eigenschaften die meiste Ähnlichkeit mit der Dextrose.

Zum Nachweis und zur Identifizierung stellt man in der aus den abgeschiedenen Benzoylestern gewonnenen Zuckerlösung (S. 257) das Osazon her; der Stickstoffgehalt des Osazons der Maltose beträgt etwa 10%, der des Osazons der Dextrose 15,7%. Weiter zeigt das Maltosazon in Pyridinalkohol (4 ccm Pyridin, 7 ccm abs. Alkohol) eine Ablenkung des polarisierten Lichtes nach rechts, während das Glykosazon eine Linksdrehung bewirkt (C. Neuberg).

Zum Nachweise kleiner Mengen von Maltose neben Glykose wird nach L. Grimbert[5]) die die genannten Zucker enthaltende Lösung (der vorbereitete und wenn nötig konzentrierte Harn) auf je 20 ccm mit 1 ccm Phenylhydrazin und 1 ccm Eisessig versetzt, eine Stunde auf dem siedenden Wasserbade erwärmt und dann abgekühlt. Das gebildete und gesammelte Osazon wird erst mit kaltem Wasser, dann nach dem Trocknen mit Benzol gewaschen und bei 100° getrocknet. Das gereinigte Osazon erhitzt man auf dem siedenden Wasserbade fünf Minuten und filtriert rasch. Im Filtrate scheiden sich dann beim Abkühlen die Maltosazonkrystalle aus. Oder man verreibt das Osazon in einem Glasmörser mit recht wenig Aceton, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, und überläßt das Filtrat der Krystallisation. Maltosazon krystallisiert aus; Schmelzpunkt 205°.

Das Phenylmaltosazon krystallisiert aus heißem Wasser in schönen gelben, jedoch nicht zu Aggregaten vereinigten Nadeln (Unterschied vom Phenyllactosazon); es löst sich in 75 Teilen heißen Wassers. 0,2 g des Maltosazons drehen in dem Pyridinalkoholgemische (s. o.) im 100 mm-Rohr + 1° 30′.

---

[1]) Archiv klin. Mediz. 1888. **43.** 165.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1889. **26.** 293.
[3]) Ebenda. 1898. **35.** 317; Compt. rend. de l'Acad. des Scienc. 1901. **132.** 610.
[4]) Chem. Ztg. 1907. **31.** 160.
[5]) Journ. Pharm. Chim. 1903, 7 Sér. **17.** 225.

Zum weiteren Nachweis können die Eigenschaften benützt werden, daß das Drehungsvermögen der Maltose etwa $2^1/_2$mal größer ist wie das des Traubenzuckers, während das Reduktionsvermögen nur ungefähr $^2/_3$ von dem der Glucose ausmacht. 0,5 g Maltose verbrauchen bei einer Kochdauer von 4 Minuten in 1%iger Lösung 64,2 ccm unverdünnte Fehlingsche Lösung; 1 ccm Fehling = 0,00778 g Maltose. Diese Feststellungen allein können aber niemals beweisend für die Anwesenheit der Maltose sein, da Pentosen, Glucuronsäureverbindungen, Fructose usw. störend einwirken können. Ein sicherer, exakter Nachweis ist nur möglich, wenn der Gehalt an Maltose im Harne ein reichlicherer ist; dazu kommt weiter noch, daß die Gärprobe (s. Eigenschaften), die Darstellung und optische Untersuchung des ja besonders gekennzeichneten Maltoseosazons in den Kreis der Prüfungen einzubeziehen sind.

H. Chr. Geelmuyden[1]) hat sich mit dem Entwurfe einer Methode zur quantitativen Bestimmung mehrerer Zuckerarten nebeneinander in diabetischem Harne, auch von Maltose beschäftigt.

Eigenschaften.

Maltose ist in Wasser leicht, in Weingeist schwerer löslich als Traubenzucker; sie vergärt mit Hefe — eine Reinzucht von Saccharomyces Marxianus greift sie aber nicht an, was zur Trennung von Traubenzucker benützt werden kann —, dreht rechts (spez. Drehung $[\alpha]_D = +137^0$) und reduziert alkalische Kupferlösung; eine schwach essigsaure Lösung von Cupriacetat soll zum Unterschiede von Traubenzucker nicht reduziert werden. Durch verdünnte Mineralsäuren und durch Enzyme (Maltase) wird die Maltose in 2 Mol. Traubenzucker gespalten.

Die Isomaltose wurde von K. Baisch[2]), von A. Lemaire[3]) u. a. im Harne vorgefunden. Da die Isomaltose schon bei der Einwirkung sehr verdünnter Säuren aus dem Traubenzucker entsteht, so ist noch nicht mit aller Sicherheit erwiesen, ob diese nicht erst bei der Isolierung und Darstellung aus dem vorhandenen Traubenzucker entstanden ist.

Die Eigenschaften schwanken je nach dem Entstehen, der Bildung und Darstellung.

Isolierung.

Lemaire ließ die nach S. 257 gewonnene Zucker- oder Kohlenhydratlösung mit Hefe und etwas Wittes Pepton 48 Stunden vergären, vermischte dann die Flüssigkeit mit Alkohol, um Hefe und Pepton durch Filtration trennen zu können, und entfernte aus dem Filtrate den Alkohol. Die Flüssigkeit zeigte Rechtsdrehung und reduzierte Fehlingsche und Wismutlösung.

Bei der Behandlung mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat blieb die Flüssigkeit vollkommen klar, solange sie heiß war. Erst beim Abkühlen bildete sich der aus sehr feinen Krystallen bestehende Niederschlag mit dem Schmelzpunkte von 150—151°.

Nachweis.

1. Das Osazon, zitronengelbe sehr feine Nadeln in kugeligen Drusen, Rosetten, schmilzt bei 150—153° und löst sich zum Unterschiede von Maltosazon in 4 Teilen heißen Wassers. Das Osazon muß aber rein sein und darf nicht durch Maltosazon verunreinigt sein; zum Umkrystallisieren empfiehlt sich die Verwendung feuchten Essigäthers (E. Fischer)[4]).
2. Die Isomaltose gärt nicht mit Bierhefe. Die Unvergärbarkeit ist die sicherste Probe zur Unterscheidung von der Maltose (E. Fischer)[4]).
3. Fehlingsche und Wismut-Lösung werden reduziert.

G. *Tierisches Gummi. Harndextrin* ($C_6H_{10}O_5$) + H_2O.

H. A. Landwehr[5]) war der Erste, der die Anwesenheit eines dextrinartigen Kohlenhydrates im normalen Harne durch Abscheidung der unlöslichen Kupferverbindung nachgewiesen hat. Er nannte dieses Kohlenhydrat, das aus der Lösung der Kupferverbindung in wenig Salzsäure durch absoluten Alkohol als feinflockiger Niederschlag abgeschieden wurde, tierisches Gummi. Weitere Untersuchungen von N. Wedenski[6]) und K. Baisch[7]) haben das Vorkommen eines dextrinartigen Körpers im Harne bestätigen können; die Genannten haben gefunden, daß die von ihnen isolierte Substanz in ihren Eigenschaften mit denen des von Landwehr gefundenen tierischen Gummis übereinstimmt. v. Alfthan[8]) hat ebenfalls dieses tierische Gummi im normalen, wie im diabetischen Harne nachweisen können.

Die Reingewinnung, d. h. auch die Isolierung, ohne daß Veränderungen bei der Herstellung erfolgen können und die Identifizierung der in Frage stehenden Körper sind sehr schwierige;

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1909. **48.** 137.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **19.** 364. **20.** 248.
[3]) Ebenda. 1895. **21.** 446.
[4]) Berl. Bericht. 1890. **23.** 3687; 1895. **28.** 3024.
[5]) Centralbl. med. Wissensch. 1885. **23.** 369; Zeitschr. physiol. Chem. 1881. **5.** 371; 1882 **6.** 74; 1884. **8.** 122; 1895. **9.** 361; Archiv ges. Physiol. 1886. **39.** 193; 1887. **40.** 35.
[6]) Zeitschr. physiol. Chem. 1889. **13.** 122.
[7]) Ebenda. 1894. **19.** 339.
[8]) Centralbl. med. Wissensch. 1900. **28.** 851.

ob die beschriebenen Körper wirklich rein und unverändert aus dem Harne gewonnen worden sind, ist nicht mit absoluter Sicherheit festgestellt; nach den Mitteilungen von F. Müller, Weydemann, O. Folin, I. B. Leathes wird es sich nicht um einen einheitlichen Körper, sondern um Mischungen gehandelt haben. Zur Herstellung des Harndextrins sind verschiedene Verfahren angegeben, wovon jedes wahrscheinlich zu anderen Körpern oder Produkten führt; ein einheitlich zusammengesetzter Körper ist noch nicht bekannt. E. Salkowski hat im Harne von Krebskranken einen dextrinartigen Körper beobachtet, der vielleicht auch mit kolloidalen Kohlenhydraten des Harnes in Beziehung zu bringen ist.

Gewinnung und Isolierung.

Landwehr behandelte den Harn mit Kupfervitriol und Natronlauge, löste den ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag in recht wenig Salzsäure, gab drei Volumen absoluten Alkohols hinzu und erwärmte auf 60°. Der feinflockige Niederschlag wurde nochmals in Wasser gelöst und wieder durch Alkohol gefällt.

Nach Lemaire wird bei der Verseifung des Benzoylesters der Kohlenhydrate mit Natriumäthylat (S. 257) die Flüssigkeit nicht klar; es bildet sich eine flockige Fällung; diese wird abfiltriert, in Wasser gelöst, die Lösung von unlöslichen Bestandteilen getrennt, nochmals in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Schließlich wird die abfiltrierte Fällung mit absolutem Alkohol und mit Äther gewaschen und dann getrocknet.

Nachweis.

1. Mit Kupfersulfat und Natronlauge gibt die wässerige Lösung einen flockigen, blauen, beim Kochen sich nicht schwärzenden Niederschlag; Fehlingsche Lösung wird nicht direkt reduziert.
2. Durch absoluten Alkohol wird die Substanz aus ihrer Lösung gefällt.
3. Nach längerem Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure liefert sie eine Fehlingsche Lösung reduzierende Substanz.
4. Sie reagiert in bekannter Weise mit Benzoylchlorid und Natronlauge.
5. Sie gibt noch in starker Verdünnung die Furfurolreaktion.

Eigenschaften.

Weißes, mehlartiges Pulver, dessen weitere Eigenschaften beim Nachweise erwähnt sind. Die nach Landwehr, Lemaire gewonnenen Substanzen sind stickstoffrei oder enthalten Stickstoff nur in geringen Mengen, wohl als Verunreinigung. Ein nach E. Salkowski[1]) dargestelltes Produkt ist stark stickstoffhaltig; diese dextrinartige Verbindung soll im Harne Carcinomatöser reichlicher vorhanden sein.

H. *Glykogen. Erythrodextrin.*

Im Harne von Diabetikern, besonders nach dem Gebrauche von Karlsbader Wasser, beim Abnehmen und Verschwinden des Zuckers fanden sowohl E. Reichardt wie W. Leube, dann auch Y. Kotake[2]) dextrinartige, mit Jod sich braunrot färbende Substanzen, die alkalische Kupferlösung erst nach längerem Kochen reduzierten. Reichardt hielt diese Substanzen für Dextrin, Erythrodextrin, Leube für Glykogen. v. Alfthan fand im Harne von Diabetikern Glykogen, dessen Vorkommen im diabetischen Harne auch leichter erklärlich wird, wie das von Erythrodextrin.

Am nächstliegenden ist namentlich bei den im Harne auftretenden komplizierten Kohlenhydraten der Gedanke, daß wir es mit dem vollständigen Abbau entgangenen Produkten zu tun haben (Abderhalden).

Nachweis.

Die Substanzen wurden aus Harn durch Fällen mit Alkohol, Lösen der Fällung mit Wasser und Wiederfällen mit Alkohol usw. gewonnen.

Nach O. Simon[3]) werden 90 ccm Harn mit 10 ccm 40%iger Kalilauge versetzt; die vom erhaltenen Phosphatniederschlage abfiltrierte Lösung wird mit 10 g Jodkalium und mit 50 ccm 90%igem Alkohol vermischt; bei Anwesenheit von Glykogen scheidet sich dieses flockig ab. Uratreiche Harne geben krystallinische Niederschläge.

Eigenschaften.

Beide Substanzen sind weiße mehlartige Produkte, das Erythrodextrin ist hygroskopisch und wird bald feucht und klebend. Die spezifische Drehung des Glykogens ist nach H. Huppert $[\alpha]_D = +196{,}6°$, die des Erythrodextrins nach Lintner und Düll + 196°. Mit Jod oder Jodjodkalium (Goldstein) färben sich beide kastanienbraun. Gefällt werden beide durch Barythydrat, Kalkhydrat, Bleiessig, starke Essigsäure, Phosphorwolframsäure (aus salzsaurer Lösung). Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, geben sie reduzierende Zucker.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1905. **42.** Nr. 51 u. 52; 1910. **47.** Nr. 12. 38. 50.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **65.** 414.
[3]) 74. Versammlung deutsch. Naturf. u. Ärzte. Karlsbad 1903. Pharm. Centrlh. 1903. **44.** 478.

24. Reduzierende Substanzen. Reduktionsvermögen des Harnes.

Außer den angegebenen Kohlenhydraten enthält jeder Harn, in vermehrter Menge ein konzentrierter (z. B. Fieberharn), mehr oder weniger reduzierende Bestandteile, die leicht Sauerstoff aufnehmen und binden und deswegen auch reduzierend auf eine alkalische Kupferlösung beim Erwärmen einzuwirken vermögen.

Zu diesen Stoffen zählen die Harnsäure und andere Purine, das Kreatinin, Glykuronsäureverbindungen, Alkaptonsäuren, Harnfarbstoffe, dann auch die nach dem Einverleiben von verschiedenen Medikamenten (S. 280) auftretenden Substanzen.

Man hat der Bestimmung des Reduktionsvermögens im Harne ein größeres Interesse zugewendet, da man durch diese Bestimmung ein Maß für den Grad der sich im Organismus abspielenden Oxydationen zu erhalten glaubte. Die Angaben über die Größe des Reduktionsvermögens des Harnes sind schwankend; es soll 0,0825—0,4% Zucker entsprechen.

C. Funk[1]) fand die Reduktion des normalen Harnes im Durchschnitte nur zu 0,002—0,042%, als Glucose berechnet.

Nach G. Buchner[2]) wird besonders in den Monaten Mai und Juni in zahlreichen Harnen eine Vermehrung der reduzierenden Substanzen beim Fehlen von Zucker vorgefunden; vielleicht hängt diese Erscheinung mit dem in dieser Zeit einsetzenden reichlicheren Genusse von Früchten zusammen, die, wie besonders die Kirschen, Pentosen enthalten.

Verfahren zum Nachweise reduzierender Substanzen und zur Bestimmung des Reduktionsvermögens.

1. Man kann hiezu die Methode nach Pavy, Bang oder Bertrand (s. S. 311—317) einerseits und die Gärprobe andererseits in Anwendung ziehen (S. 282 u. 300). Bestimmt man im Harne direkt — selbstverständlich darf hier der Harn nicht vorher mit Bleiessig oder Quecksilbersalzen behandelt werden, da dadurch ein Teil der reduzierenden Körper entfernt würde — nach einer der bekannten titrimetrischen Methoden aus dem Verbrauche an Kupfer den Traubenzuckergehalt und bringt den durch Gärung gefundenen, wirklich vorhandenen Dextrosegehalt in Abzug, so ist der Rest den im Harne vorhandenen reduzierenden anderen Substanzen zuzuschreiben.

2. Man bestimmt im Harne den Verbrauch an Kupfer, vergärt dann 100 ccm Harn mit einem Stückchen reiner Preßhefe einen Tag lang und wiederholt im Filtrate des vergorenen Harnes die titrimetrische Prüfung. Der für die reduzierenden Stoffe allein verbrauchte Gehalt an Kupfer wird auf Zucker berechnet und vom Ergebnisse im Harne direkt in Abzug gebracht. Doch siehe Beurteilung S. 350.

H. Laveson[3]) bestimmt (natürlich im Harne direkt, nicht im vorbereiteten) die totale Reduktion nach der Methode Bang und zwar 1. vor

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **69.** 72.
[2]) Ärztl. Rundsch. 1910. Nr. 24. 25. Separatabdr.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1907. **4.** 40.

der Gärung, 2. nach der Gärung, dann 3. die Harnsäure nach Hopkins-Folin und 4. das Kreatinin nach Folin. 1 bis 2 gibt die Menge Traubenzucker an, 1 − (2 + 3 + 4) die Restreduktion, die durch Isomaltose, Dextrin, Glykuronsäure und unbekannte Verbindungen bedingt ist. Nach Bang reduzieren 7 T. Kreatinin so stark, wie 4,8 Teile Traubenzucker, 10 Teile Harnsäure so stark, wie 3,47 Teile Zucker. Der totalen Reduktion entsprechen Durchschnittswerte im Urin von Männern 0,238%, von Frauen 0,211%, von Kindern 0,194% Dextrose, doch differieren die Werte stark, bei Männern z. B. von 0,161—0,437, bei Frauen von 0,11—0,40, bei Kindern 0,115 bis 0,298%; Harne mit hohem spezifischem Gewichte zeigen auch eine große Reduktion. Siehe S. 347.

Siehe Beurteilung.

3. Nach H. Hélier.[1])

10 ccm Urin werden mit 10 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und darauf mit Permanganatlösung (6,36 g im Liter) bis zum Eintritte einer bleibenden Rosafärbung titriert. Die Zahl (n) der verbrauchten Kubikzentimeter Permanganatlösung drückt direkt das Reduktionsvermögen (p) des Urins aus, wenn dieser normale Konzentration besitzt, d. h. etwa 20 g Harnstoff im Liter enthält. Finden sich im untersuchten Harne nur m g Harnstoff im Liter vor, so ist $p = 20 \cdot \frac{n}{m}$. Es ist also noch eine Harnstoffbestimmung nötig. Nach H. Hélier gab der Harn gesunder Personen Werte von 12—15 ccm; bei dem größten Teile der chronischen Krankheiten wird dieses Reduktionsvermögen überschritten, bei gewissen akuten ist es niedriger.

4. Hille[2]) bestimmt die Oxydationszahl nach Art der Bestimmung der organischen Substanz im Wasser und berechnet den Permanganatverbrauch auf mg Sauerstoff für 1 g Harn; die Oxydationszahl liegt bei normalen Harnen zwischen 4—11. In Diabetikerharnen fand er in einem Falle eine Zahl 40. 10 ccm Harn verdünnt man zu 100 ccm; hievon werden 10 ccm mit 50 ccm Wasser und 25 ccm Schwefelsäure (1 : 2) versetzt und zum Sieden erhitzt. Man läßt aus einer Bürette $^n/_{10}$ Kaliumpermanganatlösung zufließen, daß die Flüssigkeit nach 10 Minuten langem Sieden noch deutlich rot erscheint. Man setzt dann $^1/_{10}$ n-Oxalsäurelösung bis zur Entfärbung zu und titriert nun mit Permanganat bis zur bleibenden Rötung.

$$1 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ Kaliumpermanganatlösung} = 0{,}00080 \text{ g Sauerstoff.}$$

5. Nach L. Niemilowicz.[3])

a) Oxydation in saurer Lösung.

Prinzip (s. auch S. 239).

Hier werden die reduzierenden Körper des Harnes mit Ausschluß der Zuckergruppe bestimmt, und zwar alle Körper, die leichter als die Harnsäure reduzieren, alle, die diesbezüglich mit der Harnsäure gleichwertig sind, die Harnsäure selbst quantitativ und von den anderen Körpern nur teilweise diejenigen, die der Harnsäure in Beziehung auf die reduzierende Wirkung

[1]) Compt. rend. 1899. **129.** 58.
[2]) Apoth.-Ztg. 1909. **24.** Nr. 19.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 264

am nächsten stehen und quantitativ reichlich vorkommen. Andere Körper, auch die, die durch Chamäleonüberschuß leicht oxydiert werden, kommen nicht in Betracht.

Ausführung (S. 239).

Nach diesem Verfahren bestimmt man die Nettooxydationszahl (S. 240) ($NTO^0/_0$ für 100 ccm Harn). Dann bestimmt man die Purinkörper nach Denigès (S. 237 und 239) und die Xanthinkörper nach der Oxydationsfiltratmethode (S. 239) und ermittelt auf diese Art die Harnsäure. Diese Menge in Milligrammen wird durch 7,4 dividiert; man bekommt auf diese Weise denjenigen Teil der NTO'-Zahl, der der Harnsäure entspricht; diese Harnsäurezahl bezeichnet man mit UTO'; die Differenz zwischen NTO' und UTO' ist die Restoxydationszahl RTO'; diese Restoxydationszahl bezeichnet uns nun diejenige Menge an $^1/_{10}$ Normal-Chamäleonlösung, die für die Oxydation der anderen reduzierenden Körper der Harnsäurestufe notwendig ist.

b) Oxydation in alkalischer Lösung. L. Niemilowicz und Gittelmacher-Wilenko.[1])

Prinzip.

Hier dient auch die Harnsäure als Grenzkörper: als Oxydationsmittel wird $^1/_{50}$ Normal-Ferricyankaliumlösung, als Indicator das Alizarin in 0,1%iger alkoholischer Lösung verwendet.

Ausführung.

Man gibt in einen Evakuierkolben mit Seitentubus 100 ccm Harn und schließt die Flasche mit einem Kautschukstöpsel mit zwei Bohrungen. In einer Bohrung steckt der beinahe kapillar ausgezogene Ablauf einer graduierten Bürette mit $^1/_{50}$ Normal-Ferricyankaliumlösung, in der zweiten ein ebenfalls beinahe capillar ausgezogenes Röhrchen, das an dem Luftende mit Schlauch und Federklemme versehen ist. Man evakuiert den Kolben und setzt durch den Schlauch 5 ccm 30%iger Natronlauge, darauf langsam tropfenweise unter schnellem Umschwenken 15 ccm $^1/_{50}$ Normal-Ferricyankaliumlösung hinzu. (Man schließt hier die Luft auf die leicht oxydierbaren Körper aus.) Dann öffnet man den Kolben, filtriert 100 ccm vollkommen klar ab, gibt diese in ein Becherglas mit 7 ccm lichter Weite, setzt 1 ccm ganz klare 0,1%ige Alizarinlösung hinzu und titriert mit $^1/_{50}$ Ferricyankalium (aus einer anderen Bürette) so lange, bis die zwei Absorptionsstreifen des alkalischen Alizarins in rot und gelb gerade verschwunden sind.

Man setzt wieder 1 ccm Alizarinlösung hinzu und titriert auf dieselbe Art und wiederholt das noch einmal.

Man überzeugt sich, daß bei richtiger Ausführung der Analyse die gleiche Strecke bereits nach der ersten Oxydation erreicht wurde, so daß man die zweite und dritte Teilstrecke, die nur zur Kontrolle der ersten dienen, und nicht mehr als um 0,1 ccm differieren dürfen, nicht der Bruttooxydationszahl zuzählen darf.

Man wiederholt, wenn ein Harn bei der Nachoxydation etwa 12 ccm $^1/_{50}$ n-Ferricyankaliumlösung braucht, nach der entsprechenden Verdünnung des Harnes diese Bestimmung und nimmt diese Zahl zur Basis der Berechnung. (Braucht der Harn zur Nachoxydation unter 5 ccm, so setzt man zur Oxydation im Vakuum nur 12 oder 9 ccm der Ferricyankaliumlösung zu, noch 3 oder 6 ccm Wasser und zieht im Filtrate nur 10 oder 7,5 ccm der Ferricyankaliumlösung in Rechnung.) Die Berechnung der Nettooxydationszahl (NTO')[2]) nimmt man in folgender Weise vor.

Von den 15 ccm der zuerst zugesetzten Ferricyankaliumlösung sind im Filtrate 12,5 ccm vorhanden, dazu kommt die zum zweiten Male zugesetzte Menge. Summa der beiden = Bruttooxydationszahl (BTO'). Hievon zieht man die Alizarinoxydationszahl (0,8) ab und dann ist

$$BTO' - 0{,}8 \cdot \frac{6}{5} = \frac{NTO'^0/_0}{5}.$$

$NTO'^0/_0$ ist diejenige Menge $^1/_{10}$ n-Ferricyankaliumlösung, die nötig ist, um 100 ccm Harn mit Alizarin als Indicator auf gleiche Strecke zu oxydieren und NTO' ist dieselbe Zahl auf die ganze Harnmenge bezogen.

Um Harnsäurezahl (UTO') und Restzahl RTO') zu bestimmen, muß man das Verhältnis zwischen Harnsäure und dem Ferricyankalium kennen. 1 ccm $^1/_{10}$ n-Ferricyankalium = 9,5 mg-Harnsäure. Die Harnsäuremenge in Milligrammen wird mit 9,5 dividiert; der Quotient ist UTO', die Differenz $NTO' - UTO' = RTO'$.

Zur Bestimmung der in folgender Übersicht angegebenen Zahlen sind fünf Analysen nötig, die Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl, der Xanthinkörper nach der Oxydationsfiltratmethode, der Harnsäure durch Kombination der letzten mit der Methode nach Denigès, der sauren NTO' Zahl und der alkalischen NTO'. Das übrige ist Berechnung.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36**. 165.

[2]) Diese Zahlen aus saurer Lösung bezeichnet man mit ', die aus alkalischer mit '.

1. V = Harnvolumen;
2. H = Harnsäure in Grammen;
3. X = Xanthinkörper in Grammen;
4. N = Stickstoff in Grammen;
5. NTO' = Nettooxydationszahl in saurer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Chamäleon;
6. UTO' = Harnsäureoxydationszahl in saurer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Chamäleon;
7. RTO' = Restkörperoxydationszahl in saurer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Chamäleon;
8. $NTO\cdot$ = Nettooxydationszahl in alkalischer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Ferricyankalium;
9. $UTO\cdot$ = Harnsäureoxydationszahl in alkalischer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Ferricyankalium;
10. $RTO\cdot$ = Restkörperoxydationszahl in alkalischer Lösung in Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Ferricyankalium;
11. auf 100 NTO' entfallen UTO' und RTO';
12. auf 100 $NTO\cdot$ entfallen $UTO\cdot$ und RTO';
13. $\frac{NTO'}{N}$
14. $\frac{NTO\cdot}{N}$

Diese Werte bezeichnet man als den kalorischen Verlust an sauren oder alkalischen Restkörpern samt Harnsäure im Vergleiche mit dem Gesamtstickstoffe des Harnes.

Beurteilung.

Das unter I erwähnte Verfahren kann im wesentlichen seinen Zweck erfüllen. Die Methoden, bei denen die Prüfung des Rückstandes des vergorenen Harnes auf reduzierende Nichtzuckerstoffe empfohlen wird, sind fehlerhaft; durch die Hefe können störende und verunreinigende und reduzierende Stoffe in den Harn gelangen. Auch andere empfohlene Reagentien, Methylenblau usw. erfüllen hier nicht ihren Zweck.

Das von Niemilowicz und Gittelmacher-Wilenko angegebene Verfahren wird wohl kaum praktische Verwendung finden.

25. Inosit. (Cyclose. Dambose.) $C_6H_{12}O_6 + 2\,H_2O$ oder $C_6H_6(OH)_6$.

Der von Scherer entdeckte Inosit ist als Hexaoxyhexahydrobenzol aufzufassen und ist kein Zucker. Im normalen Harne soll er nach F. Hoppe-Seyler und nach E. Starkenstein in Spuren vorhanden sein, etwas reichlicher nach ganz übermäßigem Trinken. F. Rosenberger fand ihn im normalen Menschenharn. Er kommt ferner vor bei Albuminurie, bei Diabetes insipidus und mellitus, bei pathologischen Zuständen, bei denen eine vermehrte Harnausscheidung vorhanden ist. Man spricht dann auch von einer Inositurie. Nach Starkenstein ist die Inositurie aber als keine besondere Stoffwechselstörung anzusehen. Starkenstein fand im Liter des normalen Harnes etwa 0,8 g. Chemische Beziehungen zu den Kohlenhydraten (Hexosen) sind zurzeit nicht als sicher, vielleicht als wahrscheinlich zu betrachten, nach E. Starkenstein hätte der Inosit solche zum Phosphorstoffwechsel. Inosit ist im Pflanzenreiche in den Vegetabilien als Phytin (Inosithexaphosphorsäureester) weit verbreitet, das durch Fermente der tierischen Gewebe in Phosphorsäure und Inosit gespalten wird.

Darstellung.

Der Inosit muß aus dem Harne abgeschieden werden, wenn er erkannt werden soll.

Man konzentriert nach Boedeker und Cooper-Lane[1]) mehrere Liter Harn, nachdem zuerst vorhandenes Albumin abgeschieden ist, bis auf den

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1861. **117.** 118.

vierten Teil, fällt dann mit Barytwasser aus, filtriert und versetzt das Filtrat mit so viel Bleiessig, als noch ein Niederschlag entsteht. Den Bleiessigniederschlag läßt man zwei Tage stehen, filtriert ihn, wäscht ihn mit wenig Wasser aus, suspendiert den Niederschlag in Wasser und zerlegt ihn durch Schwefelwasserstoff. Man filtriert das Schwefelblei ab, wäscht es aus, dampft das Filtrat bis auf ein kleines Volumen ein und läßt an einem kühlen Orte stehen. Die nach einiger Zeit abgeschiedenen Harnsäurekrystalle werden abfiltriert, das Filtrat wird möglichst konzentriert und kochend mit 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 die heiße Lösung durch einen erwärmten Trichter und läßt das Filtrat erkalten.

Sind nach 24 Stunden Inositkrystalle 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. Wenn Äther in hinreichender Menge zugesetzt worden ist (zuviel Äther schadet nicht), ist aller Inosit in Form schöner perlmutterglänzender Blättchen abgeschieden.

Ähnlich verfahren auch P. Mayer[1]) und E. Starkenstein.[2])

Nach letzterem wird der von Eiweiß befreite Harn erst mit Bariumnitrat, dann mit Silbernitrat ausgefällt und das Filtrat durch Zusatz von Natriumphosphat und Natronlauge vom Silber, von den alkalischen Erden usw. befreit; dann wird das gewonnene Filtrat nach dem schwachen Ansäuern mit Essigsäure mit neutralem Bleiacetat behandelt; das Filtrat wird mit Bleiessig und Ammoniak gefällt und der mit Wasser angeschüttelte Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Bleisulfidniederschlage verdampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, nimmt den Rückstand mit wenig Wasser auf, kocht die Lösung mit guter Blutkohle und verdampft das farblose und klare Filtrat nach Zusatz von Eisessig fast zur Trockne. Man löst den Rückstand nochmals in wenig konzentrierter Essigsäure und fügt absoluten Alkohol oder besser Methylalkohol hinzu. Den nach einiger Zeit ausgeschiedenen Inosit kann man auf einem gewogenen Filter sammeln, mit Äther auswaschen, trocknen und wägen.

Nachweis.

1. Dampft man eine kleine Menge Inosit in einer kleinen Porzellanschale mit etwas Salpetersäure bis fast zur Trockene ein, bringt vor-

[1]) Biochem. Zeitschr. 1907. **2.** 398.
[2]) Zeitschr. exp. Pathol. Therap. 1909. **5.** 378; Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **58.** 162; Biochem. Zeitschr. 1910. **30.** 56.

Nachweis, Unterscheidung und Trennung der verschiedenen im Harne vorkommenden Zuckerarten und der durch verschiedene chemische und physikalische Reaktionen und Eigenschaften das Vorhandensein von Zucker vortäuschenden Stoffe.

Der zu prüfende eiweißfreie Harn reduziert Fehlingsche und Wismutlösung; es können vorhanden sein:	
Von Zuckerarten: Harnzucker (Glykose, Dextrose), Lävulose, Lactose, Maltose	Von anderen Stoffen: Pentosen, Glykuronsäureverbindungen, Alkaptonsäuren, die verschiedenen S. 280 genannten normalen[1]) und anormalen Harnbestandteile, Stoffe nach dem Einnehmen von Medikamenten

Es wird in der Seite 282 u. 330 angegebenen Weise vergoren:

a) Die Gärung verläuft positiv, der Gärrückstand reduziert nicht mehr	b) Die Gärung verläuft positiv, der Gärrückstand reduziert		c) Die Gärung verläuft negativ, der Gärrückstand reduziert
Es können vorhanden sein:	Es sind vorhanden:	Es können vorhanden sein:	Es können vorhanden sein:
Dextrose oder Lävulose oder Maltose. Probe von Seliwanoff im Harne direkt vorgenommen positiv, im vergorenen Harne negativ = Lävulose.	Dextrose oder Lävulose oder Maltose.	Lactose, Pentosen, Glykuronsäureverbindungen, Alkaptonsäuren usw.	Lactose, Pentosen, Glykuronsäureverbindungen, Alkaptonsäuren, die verschiedenen normalen[1]) und abnormalen Bestandteile, Stoffe nach dem Einnehmen von Medikamenten

Probe von Seliwanoff im Harne direkt negativ = Dextrose oder Maltose. Trennung dieser beiden:	*Polarisation des Gärrückstandes*	*Polarisation des Gärrückstandes*		
		Es ergibt sich Rechtsdrehung	Es ergibt sich Linksdrehung	Es ergibt sich keine Änderung der Polarisationsebene
N-Gehalt des Osazons der Dextrose = 15,7%. N-Gehalt des Osazons der Maltose = etwa 10,0%. Polarisation des Maltosazons in Pyridinalkohol = Rechtsdrehung. Polarisation des Glykosazons in Pyridinalkohol = Linksdrehung. Maltose soll Barfoedesches Reagens nicht reduzieren. Lävulose könnte neben Dextrose vorhanden sein; das kann der Fall sein, wenn die durch die titrimetrische oder gewichtsanalytische Bestimmung gefundenen Zuckerwerte mit den durch die Polarisation gefundenen nicht übereinstimmen, da die Linksdrehung der Lävulose die Rechtsdrehung der Dextrose beeinflußt, doch s. S. 232. Dies kann auch durch Glykuronsäuren und β-Oxybuttersäure erfolgen; der Gärrückstand wird dann Linksdrehung zeigen; s. bei = Trennung der Glykuronsäureverbindungen und der β-Oxybuttersäure.	Es ergibt sich eine Rechtsdrehung = Lactose (nur im Frauenharne s. c). Es ergibt sich eine Linksdrehung = Glykuronsäureverbindungen, β-Oxybuttersäure. (Nachweis s. c). Pentosen, Alkapton (s. c).	Anwesenheit von Lactose (nur im Frauenharne). Verhalten gegen Barfoeds Reagens = negativ. Mehrstündiges Kochen mit 2 bis 5%iger Schwefelsäure = Zunahme des Drehungs- und Reduktionsvermögens.	Anwesenheit von Glykuronsäureverbindungen, von β-Oxybuttersäure. Gärrückstand reduziert nicht = β-Oxybuttersäure. Gärrückstand reduziert direkt, beim Kochen desselben mit Säuren Rechtsdrehung, Orcinprobe vor der Spaltung negativ, nach der Spaltung positiv = Glykuronsäureverbindungen.	Anwesenheit von Pentosen, Alkaptonsäuren usw. Im Gärrückstande u. im Harne direkt Bialsche Probe positiv, Reduktion von Fehlingscher Lösung erfolgt sprungweise = Pentosen. Harn reduziert Fehlingsche Lösung, Ammoniakalische Silberlösung, schwärzt sich beim Stehen an der Luft von obenher = Alkaptonharn.

[1]) Harn mit hohem Harnsäuregehalt kann stark reduzieren; ein 0,15%ige Harnsäure enthaltender Harn z. B. ebenso stark, wie einer mit 0,2% Glykose.

Nimmt man unmittelbar nach der Erledigung der Reduktionsproben die Polarisation des Harnes vor, so ist folgendes zu beachten:

Polarisationswerte der in Betracht kommenden Zucker.

1. Dextrose, Glykose.

Spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +52{,}74°$.
1 g Glykose in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr $= +1{,}0548°$.
1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0{,}9434$ g Dextrose $\left(\frac{1}{1{,}0548}\right)$.

2. Lävulose.

Spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -92°$.
1 g Lävulose in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr $= -1{,}84°$.
1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0{,}543$ g Lävulose $\left(\frac{1}{1{,}84}\right)$.

3. Saccharose.

Spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +66{,}5°$.
1 g Saccharose in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr $= +1{,}33°$.
1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0{,}7518$ Rohrzucker $\left(\frac{1}{1{,}33}\right)$.
Nach der Inversion dreht die Lösung (1 g in 100 ccm) $= -0{,}461°$.

Der Harn zeigt Rechtsdrehung. Es können vorhanden sein:	Der Harn zeigt Linksdrehung. Es können vorhanden sein:
Dextrose, Maltose, Lactose	Lävulose, Glykuronsäureverbindungen, β-Oxybuttersäure

NB! Durch gleichzeitige Anwesenheit von Dextrose und Lävulose, oder von Glykuronsäureverbindungen, von β-Oxybuttersäure wird die Polarisation beeinflußt; die abgelesene Drehung entspricht dann nicht dem wahren Gehalte an Zucker.

Man muß vergären:

Die Vergärung fällt im rechtsdrehend. Harne		Die Vergärung fällt im linksdrehend. Harne	
positiv aus	negativ aus	positiv aus	negativ aus
Dextrose, Maltose. Trennung wie oben.	Der Gärrückstand zeigt Rechtsdrehung = Lactose. Nachweis dieser siehe oben.	Es kann vorhanden sein Lävulose. Seliwanoffsche Probe im Harne direkt tritt ein; im vergorenen bleibt sie aus.	Keine Lävulose. Der vergorene Harn dreht links = Glykuronsäureverbindungen, β-Oxybuttersäure. Trennung siehe oben.

NB! Lävulose neben Dextrose (bei 1 Teil Dextrose und 1,8 Teil Lävulose würde sogar die Polarisation ± 0 sein) ist nachgewiesen, wenn die quantitative Bestimmung des Zuckers einen höheren Wert ergibt, als die polarimetrische und wenn die Isolierung der Lävulose durch eines der angegebenen Verfahren erfolgen kann (S. 332). Dextrose neben Glykuronsäureverbindungen oder β-Oxybuttersäure ist vorhanden, wenn die Gärprobe einen höheren Wert ergibt, als die polarimetrische Bestimmung und wenn der Gärrückstand links dreht.

Polarisationswerte der in Betracht kommenden Zucker.

4. Lactose, Milchzucker.

Spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +52{,}53°$.
1 g Lactose in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr $= +1{,}0506°$.
1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0{,}9518$ g Lactose $\left(\frac{1}{1{,}0506}\right)$.

5. Maltose (Anhydrid).

Spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_D = +136{,}5°$.
1 g Maltose in 100 ccm Wasser im 200 mm-Rohr $= +2{,}73°$.
1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0{,}366$ g Maltose $\left(\frac{1}{2{,}730}\right)$.

Optisches Verhalten der Osazone nach C. Neuberg.[1])

0,2 g Osazon in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol im 100 mm-Rohr polarisiert:

Glykose-Phenylosazon	$= -1° 30'$	Maltose-Phenylosazon	$= +1° 30'$	Methylphenyl-Lävuloseosazon	$= +1° 40'$
Lactose- „	$= \pm 0°$	δ-Galaktose- „	$= +0° 48'$		

[1]) Berl. Bericht. 1899. **32**. 3384.

sichtig Spuren Ammoniak hinzu und befeuchtet mit Chlorcalciumlösung, so entsteht beim vorsichtigen Verdunsten des Schaleninhaltes bis zur Trockene eine rosenrote Färbung. Bildung von rhodizonsaurem Kalk, von Salzen des Tetraoxychinons und der Rhodizonsäure (J. Scherer)[1]), L. Maquenne.[1])

Nach E. Salkowski[2]) bringt man je einen Tropfen der Inositlösung, der Salpetersäure (1,2 spez. Gew.), der Chlorcalciumlösung in einem Porzellanschälchen zusammen, gibt einen Tropfen einer 1%igen Platinchloridlösung hinzu und verdampft zur Trockne; es tritt die rosarote Färbung ein, die an der Luft orange wird.

Beurteilung.

Kohlenhydrate geben diese Reaktion nicht. Nach Boedecker soll man den Ammoniakzusatz überhaupt unterlassen, da leicht Mißfärbung eintreten kann. Löst man den Rückstand nach der Behandlung mit Salpetersäure in wenig Wasser und gibt Strontiumacetat hinzu, so entsteht nach Seidel[3]) Violettfärbung des festen Beschlages.
Die Probe nach Salkowski soll viel sicherer sein.

2. Fügt man zu einer konz. Lösung von Inosit in einer Porzellanschale — man verdunstet die Lösung bis fast zur Trockene — einen Tropfen neutraler Quecksilbernitratlösung, so entsteht ein gelblicher Niederschlag, der bei vorsichtigem Erwärmen rot wird; die Farbe verschwindet beim Erkalten, kommt aber beim gelinden Erwärmen wieder (Gallois).[4])

Beurteilung.

Zucker und Eiweiß müssen entfernt, Mercurinitrat darf nicht im Überschusse vorhanden sein; die Probe ist dann eine sichere.

Eigenschaften.

Der Inosit bildet meist blumenkohlartig gruppierte rhomboedrische, durchsichtige Krystalle, die an trockener Luft schnell verwittern; er löst sich in Wasser mit süßem Geschmacke und ist in starkem Alkohol und Äther unlöslich; in Essigsäure löst er sich leicht und krystallisiert daraus besonders schön. Seine Lösungen sind optisch inaktiv; er gibt mit Phenylhydrazin keine Verbindung und gärt mit Bierhefe nicht. Alkalische Kupfer- und Wismutlösung, auch Knappsche Lösung, werden nicht reduziert. Aus wässeriger Lösung wird er nicht durch neutrales, wohl aber durch basisches Bleiacetat gefällt. Er schmilzt bei 217°, nach anderer Mitteilung bei 225°.

26. Chondroitinschwefelsäure. $C_{18}H_{26}NO_{13} . SO_3 . OH$.

Die Chondroitinschwefelsäure, eine Ätherschwefelsäure, ist nach K. A. H. Moerner[5]) in nur kleinen Mengen, nach Ch. Pons zu 0,08—0,09 g in der Tagesmenge, im Harne vorhanden. Von ersterem wurde sie als normaler Bestandteil des Harnes zuerst nachgewiesen. Ihr kommt eine gewisse

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1852. **81.** 375; Maquenne, Compt. rend. 1887. **104.** 225. 297. 1719; Bull. d. la Soc. chim. 1887. **47.** 290; 1887. **48.** 58.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **69.** 479.
[3]) Dissertat. Dorpat. 1884.
[4]) Zeitschr. analyt. Chem. 1865. **4.** 264.
[5]) Skand. Archiv Physiol. 1895. **6.** 378

Bedeutung insoferne zu, weil sie in angesäuerten eiweißhaltigen Flüssigkeiten mit dem Eiweiß Niederschläge erzeugt. Nach K. A. H. Moerner enthält jeder Harn, wenn auch nur Spuren, Serumalbumin, das nach Zusatz von Essigsäure mit der Chondroitinschwefelsäure die bekannte Fällung erzeugt, die wir als sogenanntes Nucleoalbumin bezeichnen (s. Nucleoalbumin).

Die im normalen Harne vorkommende Menge ist größer, als vom gleichzeitig vorhandenen Eiweiß gebunden werden kann. Man gibt deswegen bei ihrer Isolierung etwas Serum zum Harne.

Nachweis und Darstellung nach K. A. H. Moerner.

Zum Nachweis und zur Gewinnung der nicht dialysabeln Chondroitinschwefelsäure wird der Harn, der normale oder eiweißhaltige, dialysiert, um die die Fällung hindernden Salze zu entfernen und zwar solange gegen fließendes Wasser, bis er nur noch geringe Mengen Chloride enthält. Der Rückstand von der Dialyse wird mit einer geringen Menge Blutserum (1,5 ccm auf 1 Liter Harn) oder mit Serumalbumin (0,25 g) und mit wenig Essigsäure bis zu 0,1—0,2% versetzt. Man läßt zum Abscheiden der Verbindung der Chondroitinschwefelsäure mit dem Eiweiß stehen oder man schüttelt zum Erreichen dieses Zweckes die Flüssigkeit mit Chloroform und sammelt den nach 1—2tägigem Stehen abgeschiedenen Niederschlag auf einem Filter. Den Niederschlag löst man in schwachem Ammoniak und untersucht die Lösung, ob sie beim Erwärmen mit Salzsäure Schwefelsäure und Chondrosin liefert. Man prüft die Lösung durch Zusatz von wenig Chlorbarium auf Schwefelsäure, bringt die klar gebliebene oder die trüb gewordene Flüssigkeit nach dem Filtrieren auf einen Salzsäuregehalt von 2,5—5% und erwärmt einige Stunden auf dem Wasserbade. Die freigewordene Schwefelsäure hat sich in der braun gewordenen Flüssigkeit als Bariumsulfat abgeschieden. Das Chondrosin wird dadurch erkannt, daß das vom Bariumsulfat abgeschiedene Filtrat nach dem Zusatze von stark alkalischer Fehlingscher Lösung bis zur alkalischen Reaktion beim Erwärmen Kupferoxydul abscheidet. Es muß neben dem positiven Ausfall der Reduktion auch die Anwesenheit von Schwefelsäure nachgewiesen sein, wenn auf die Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure geschlossen werden will, da das in gleicher Weise aus dem Harne zu gewinnende Mucoid auch Kupferlösung reduziert, jedoch keine Schwefelsäure enthält.

Um ausgefallenes Bariumsulfat nicht zu übersehen, zumal bei ausgeschiedenem Eiweiß, empfiehlt es sich in zweifelhaften Fällen, die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch zu machen, wodurch das Eiweiß in Lösung gebracht und gelöstes Bariumsulfat abgeschieden wird. Schwefelsäure und ausgeschiedenes Kupferoxydul ermittelt man unter Umständen quantitativ.

Ch. Pons[1]) hat ein ähnliches Verfahren angegeben.

Den Gehalt der Chondroitinschwefelsäure an Schwefel kann man nach Schmiedeberg zu 5,7% annehmen.

[1]) Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog. 1907. 9. 393.

Eigenschaften.

Die freie Säure ist leicht zersetzlich und läßt sich schwer oder nicht in reinem Zustande darstellen; sie zeigt in wässeriger Lösung Linksdrehung; in solcher wird sie nur durch Bleiessig, Zinnchlorür, Quecksilberoxydulnitrat (nicht durch andere Metallsalze), gefällt. Verdünnte Essigsäure, wie Mineralsäuren geben keine Fällung; nur durch Zusatz von einem größeren Volumen Eisessig fällt die Säure in Flocken aus, die sich bei Wasserzusatz sofort wieder lösen. Aus Lösungen, die Eiweiß oder Leim enthalten, wird durch die Essigsäure (kein Überschuß) die oben erwähnte Verbindung ausgefällt.

Bei Gegenwart von Salzsäure zerfällt die Chondroitinschwefelsäure wie eine Ätherschwefelsäure in Schwefelsäure und in Chondroitin, eine einbasische Säure, das bei weiterem Erhitzen mit verdünnter Säure in Chondrosin gespalten wird, eine Fehlingsche Lösung stark reduzierende Substanz vom Charakter einer Aminosäure, die rechtsdrehend ist.

27. Nucleinsäure.

Nach K. A. H. Moerner findet sich Nucleinsäure ebenfalls in sehr kleinen Mengen im Harne; sie enthält etwa 10% Phosphor und ist frei von Schwefel. Sie läßt sich in ähnlicher Weise, wie die Chondroitinschwefelsäure abscheiden. Auch diese Säure gibt mit Eiweißkörpern bei dem Ansäuern mit Essigsäure Fällungen. Zum weiteren Nachweis der Nucleinsäure dient ihre Eigenschaft, durch Hydrolyse mit Mineralsäuren Phosphorsäure und Purinbasen abzuspalten.

Einen Teil der abgeschiedenen Nucleinsäure-Eiweißverbindung schmilzt man mit Soda und Salpeter und prüft in der salpetersauren Lösung mit molybdänsaurem Ammonium auf Phosphorsäure.

Zum Nachweis der Purinbasen wird nach Moerner der in der angegebenen Weise aus Harn erhaltene Niederschlag, die Eiweißverbindungen der Chondroitinschwefelsäure und der Nucleinsäure enthaltend, mit 0,1 normaler Schwefelsäure erhitzt, die neutralisierte Lösung mit Bleiessig gefällt, das im Überschusse zugesetzte Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat eingedampft. In diesem wird mit ammoniakalischer Silberlösung auf Purinbasen geprüft; ein entstandener Niederschlag wird nach dem Auswaschen in wenig Salpetersäure (D = 1,1) gelöst; beim Erkalten scheiden sich Nadeln aus. Außer der Phosphorsäure muß der Nachweis der Purinbasen erbracht sein, wenn man Nucleinsäure als vorhanden ansehen will.

28. Phenole. (Oxybenzole.)

Im Harne kommen regelmäßig aromatische Substanzen vor, die entweder unter normalen Verhältnissen bei der Darmfäulnis aus den Eiweißstoffen (durch bakterielle Zersetzung dieser) 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 usw.). Diese durch die geschilderten Prozesse gebildeten Stoffe, Phenol, Kresol (die drei isomeren Kresole), Brenzkatechin, Indol (Skatol), kommen nicht als solche im Harne vor, weil sonst der Organismus sehr bald großen Schaden nehmen müßte, da diese Stoffe für ihn Gifte sind. Die genannten Substanzen werden vielmehr vor ihrem Eintritte in den Organismus in der Leber (und

Niere) unschädlich gemacht, entgiftet, indem sie sich mit Schwefelsäure zu esterartigen Verbindungen zusammenschließen und als Phenyl-, Kresyl-, Brenzkatechin-, Indoxyl- und (Skatoxylschwefelsäure) den Organismus verlassen. Auch dem Körper direkt zugeführte Phenole erscheinen im Harne als Ätherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser auf Kosten der Sulfatschwefelsäure. (S. 86.)

Wie die Schwefelsäure wirkt auch noch die Glykuronsäure; im Gegensatze zum Indol soll sich nach A. Falk, E. Salkowski, C. Tollens Phenol vorzugsweise mit Glykuronsäure paaren; das Glykokoll verbindet sich dagegen mit nicht hydrolysierten aromatischen Säuren (Phenylessigsäure).

Reicht die vorhandene Schwefelsäure nicht aus, um eine dem Körper zugeführte größere Menge Phenol in Phenolschwefelsäure zu verwandeln, so tritt ein Teil als freies Phenol, ein Teil in Form der Phenolglykuronsäure aus. Ein weiterer Teil des resorbierten Phenols kann auch zu Brenzkatechin und Hydrochinon verwandelt werden, die als ätherschwefelsaure Kalisalze den Organismus verlassen.

Diese Phenolschwefelsäuren sind nicht flüchtig und werden von Mineralsäuren in ihre betreffenden Phenole und in Schwefelsäure zerlegt. Die Bestimmung des Phenols läuft nach diesem Gesagten also mit der Bestimmung der sogenannten gepaarten Schwefelsäure parallel, so daß die Ermittelung dieser beiden zu demselben Ergebnis führen wird.

Nach F. Sterns[1]) Versuchen gibt die Menge der Ätherschwefelsäure ein sicheres Maß für die Ausscheidung von aromatischen Substanzen, wenn es sich nicht um sehr große Mengen von solchen handelt, da sie nicht so unberechenbaren Schwankungen wie die Glykuronsäure unterliegt. Zur Beurteilung des Gesamtwertes der Ausscheidung aromatischer Substanzen im Urin muß man aber neben der Ätherschwefelsäure auch die Glykuronsäure bestimmen und die Summe beider Werte berücksichtigen, besonders wenn sehr viel aromatische Stoffe im Urin den Körper verlassen. Doch siehe S. 86.

A. Das Phenol. $C_6H_5 . OH$.

Mit der Bezeichnung „Phenol" ist im allgemeinen nicht das eigentliche Phenol gemeint, man versteht darunter eben die Gruppe der Phenole, die zusammen vorkommen, also das Parakresol, das Brenzkatechin, das Hydrochinon, das Phenol, von denen das erstere vorherrscht. Die Muttersubstanz der Phenole ist das Tyrosin.

Im Menschenharne sind nur geringe Mengen Phenol (in der Tagesmenge 0,017—0,051 g nach J. Munk, 0,06—0,08 g nach Strasser, 0,033 g im Durchschnitte nach C. Neuberg, 0,081—0,122 g nach Koßler-Penny), reichlichere nach Pflanzennahrung vorhanden. O. Folin und W. Denis fanden höhere Werte, bei Gesunden bis zu 0,3 g, bei Kranken bis zu 0,66 g Gesamtphenol in 24 Stunden im Harne, Siegfried und Zimmermann im Harne gesunder

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **68**. 52.

Studenten als Mittel in 9 Fällen 0,0446 g Phenole, davon 0,026 g Kresol und 0,0186 g Phenol in 1500 ccm. Das Phenol stammt aus dem Darme infolge von Eiweißfäulnis; vermehrt ist deshalb das Phenol bei Stauungen des Darminhaltes, namentlich in den unteren Teilen des Dünndarmes und des Dickdarmes, bei Diabetes (hier werden oft große Mengen beobachtet), überhaupt bei Krankheiten, die auf vermehrter Darmfäulnis beruhen, so bei Ileus, bei jauchiger Peritonitis, bei Magencarcinom, bei Darmtuberkulose, bei septischen Prozessen (Eiterungen), bei Empyem, auch nach Phosphorvergiftung (Blendermann).

Indicanreicher Harn enthält stets auch viel Phenol, phenolreicher ist aber nicht immer reich an Indican; es werden eben nicht alle Bakterien, die bei der Zersetzung von Eiweiß Indol bilden, auch Phenol geben.

Über den Abbau des Tyrosins durch Bact. coli phenologenes berichtet M. Rhein.[1])

Darstellung.

Das Phenol kann nicht direkt im Harne nachgewiesen, sondern muß erst aus der Phenolschwefelsäure (Phenolglykuronsäure) isoliert werden. Man destilliert Harn nach Zusatz von Schwefelsäure (der Harn soll 5% davon enthalten) oder Phosphorsäure so lange, bis das aus der Ätherschwefelsäure oder der Glykuronsäureverbindung abgespaltene Phenol überdestilliert ist und stellt mit dem Destillate, das man zweckmäßig zur Entfernung von Benzoesäure und Salicylsäure mit reinem kohlensaurem Natron neutralisiert und nochmals destilliert, die Reaktionen auf Phenol an. Um die gewonnenen Phenole (Kresole) von den genannten Säuren, die die Reaktionen stören würden, zu befreien und die Phenole in konzentrierterer Form zu erhalten, kann man auch das Destillat in der Kälte mit kohlensaurem Natron sättigen und dann wiederholt mit Äther ausschütteln; die Ätherlösungen läßt man bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten.

Daß Harne, die auf Phenole geprüft werden sollen, nicht mit Thymol und dergl. konserviert sein dürfen, ist wohl selbstverständlich.

Eigenschaften.

Reines Phenol, eine schwache Säure, krystallisiert in Nadeln, die bei 42,5—43° schmelzen, ist in heißem Wasser, Alkohol, Äther löslich, schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Lösungen der Alkalihydroxyde; Phenol verbindet sich in der Siedehitze mit kohlensauren Alkalien unter Bildung der entsprechenden Phenolate.

Qualitativer Nachweis.

1. Neutrale Eisenchloridlösung (nicht zu großer Überschuß, vorsichtig zusetzen!) gibt mit wässerigen Phenollösungen eine blauviolette Färbung. Es handelt sich um eine einfache Ferrisalzbildung.

[1]) Biochem. Zeitschr. 1918. 87. 123.

Beurteilung.

Ein größerer Überschuß an Eisenchlorid, das Vorhandensein von Salzsäure, Alkalien, viel Alkohol, Äther beeinträchtigen die Reaktion.

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 (H. Landolt).[1])

In Kresollösungen entstehen die Trübung und die Fällung langsamer.

3. Phenol gibt die Millonsche Reaktion, die man in verschiedener Weise vornehmen kann:

a) 5—10 Tropfen vom Millonschen Reagens (s. d.) werden mit 5—10 ccm der Phenollösung (Destillat) gekocht; zu der heißen Flüssigkeit wird vorsichtig so lange Salpetersäure tropfenweise zugesetzt, bis der beim Kochen entstandene Niederschlag verschwunden ist. Die Flüssigkeit wird dabei sehr schön rot gefärbt (A. Almén).[2])

Die rote Färbung scheint nach O. Dimroth[3]) ein Derivat des o-Phenylenquecksilberoxyds darzustellen.

b) Man kocht eine verdünnte Phenollösung mit einer möglichst neutralen Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd im Überschuß und gibt eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzu; es entsteht eine schön dunkelrote Färbung und ein ebensolcher Niederschlag.

c) Mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul, die eine Spur salpetriger Säure enthält, zum Kochen erhitzte Phenollösung färbt sich intensiv rot (Plugge).[4])

Beurteilung.

Die Phenollösung darf nicht alkalisch reagieren, auch ist ein größerer Überschuß von Salpetersäure bei Probe a) zu vermeiden. Das Vorhandensein von viel Chlorionen schwächt die Reaktion.

4. Eine ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf vorsichtigen Zusatz von unterchlorigsaurem Salz (Lösung von 1 Teil Chlorkalk : 20 Teilen Wasser) oder von Bromwasser grün, dann schön blau (Indophenol) (M. Berthelot).[5])

Beurteilung.

Man sei mit dem Zusatze der Reagentien vorsichtig; die Flüssigkeit wird anfangs grün, dann schnell blau; durch gelindes Erwärmen wird die Reaktion beschleunigt. Bromwasser ist besser. Es muß noch unzersetztes Ammoniak vorhanden sein.

5. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol Stickstoff (U. Kreusler).

---

[1]) Berl. Bericht. 1871. **4.** 770.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1878. **17.** 107.
[3]) Berl. Bericht. 1899. **32.** 764; 1902. **35.** 2856.
[4]) Zeitschr. analyt. Chem. 1872. **11.** 173.
[5]) Chem. Centralbl. 1859. 463.

6. Eine Phenollösung gibt mit etwas Anilin und darauf mit unterchlorigsaurem Natrium oder Chlorkalklösung vermischt eine Blaufärbung (erythrocarbolsaures Natrium), die durch Säuren rot, durch Alkalien wieder blau wird (Polacci, E. Jacquemin).[1])
7. Man versetzt die wässerige Phenollösung mit einigen Körnchen Paroxybenzaldehyd (oder Salicylaldehyd) und dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure; es entsteht eine gelbe Lösung (Bildung von Aurin), die beim Übersättigen mit Alkali schön rosa gefärbt wird (Nencki und Sieber).[2])
8. Mit Diazobenzolsulfosäure färbt sich das phenolhaltige Destillat in stark alkalischer Lösung orangegelb bis rot (F. Penzoldt u. E. Fischer[3]).

Wahl der Methode.

Sämtliche Proben, besonders 2, sind empfindlich. Die Probe 2 wird man am besten zuerst anwenden, den positiven Ausfall aber noch durch eine der anderen Proben sicherstellen.

Man denke daran, daß nach Einnehmen von Guajacol, von Salicylsäurederivaten usw. die Proben positiv ausfallen können.

Quantitative Bestimmung.

Bei der Bestimmung von Phenol wird man sowohl Phenol, wie auch Parakresol zusammen bestimmen. Getrennte Bestimmungen von dem isolierten Phenol und Kresol haben M. Siegfried und R. Zimmermann (s. S. 365) vorgenommen.

1. Nach A. Koßler und E. Penny.[4])

A. Koßler und E. Penny haben gefunden, daß die gewichtsanalytische Bestimmung des Phenols, besonders des Parakresols zu unrichtigen Ergebnissen führt, daß aber auch nach der ursprünglichen Methode von Koppeschaar das Phenol in Gegenwart von Kresol nicht mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden kann. Die Methode von J. Messinger und G. Vortmann[5]) läßt sich mit gutem Erfolge benutzen.

Prinzip.

Die isolierten, von störenden Stoffen befreiten Phenole, Phenol und Parakresol, werden durch unterjodigsaures Natrium unter bestimmten Bedingungen in Trijodkresol oder Trijodphenol übergeführt; für die vollständige Überführung des Phenols in Trijodphenol ergibt sich die Gegenwart von etwas über drei Molekülen unterjodigsaurem Natron auf ein Molekül Phenol und die Gegenwart von freiem Jod (5 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung); bei der titrimetrischen Bestimmung des Kresols erhält man gleiche Werte, wenn auf ein Molekül Kresol mehr als sieben Moleküle Hypojodit und mindestens 15 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung als freies Jod angewendet werden.

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{10}$ n-Jodlösung. S. 119.
2. $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung.
3. Nitritfreie $^1/_{10}$ n-Natronlauge. S. 53.
4. Stärkelösung.

---

[1]) Compt. rend. **76.** 1605; Zeitschr. analyt. Chem. 1876. **15.** 367.
[2]) Journ. prakt. Chem. 1882. **26.** 25.
[3]) Berl. Bericht. 1883. **16.** 657.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1893. **17.** 115.
[5]) Berl. Bericht. 1890. **23.** 2753.

Ausführung.

500 ccm Harn oder mehr werden bei schwach alkalischer Reaktion (Zusatz von Kalilauge) auf dem Wasserbade auf etwa 100 ccm eingedampft, um auf diese Weise etwa vorhandenes Aceton, Acetessigsäure, auch Ammoniak zu entfernen, da diese Stoffe ebenfalls Jod binden. Der konzentrierte Harn wird in einen passenden Destillationskolben übergeführt und mit so viel Schwefelsäure versetzt, daß die Flüssigkeit etwa 5% der ursprünglichen Harnmenge davon enthält; zur Verhinderung des Stoßens beim Kochen werden eine Platinspirale oder Siedesteinchen zugegeben; der Kolben wird mit einem absteigenden Kühler verbunden, hierauf wird destilliert. Wenn von dem Kolbeninhalte etwa die Hälfte abdestilliert ist (man hat noch Wasser dazugegeben, so daß der Inhalt ungefähr 400 ccm beträgt), verdünnt man den Rückstand im Kolben mit Wasser, indem man dieses einfach durch einen im Verschlußstopfen des Kolbens befindlichen Tropftrichter einfließen läßt, und destilliert unter guter Kühlung von neuem; diese Destillation wiederholt man, immer unter Ergänzung des Rückstandes mit Wasser, noch einige Male.

Um salpetrige Säure und Ameisensäure aus den Destillaten zu entfernen, werden die 2—3 ersten Destillate gemeinsam, die anderen Portionen getrennt für sich mit Calcium- oder Magnesiumcarbonat versetzt, ordentlich durchgeschüttelt, bis die saure Reaktion verschwunden ist und abermals destilliert. Die einzelnen Destillate, besonders das zuerst aus den vereinigten Destillaten gewonnene, füllt man am besten, aber erst nach der im Nachstehenden von Neuberg empfohlenen noch weiteren Reinigung, zu einem bestimmten Volumen auf und verwendet einen abgemessenen Teil zur folgenden Bestimmung; diesen bringt man in eine mit einem gut eingeschliffenen Glasstöpsel verschließbare Flasche, setzt nitritfreie $^1/_{10}$ n-Natronlauge (20 ccm) bis zur ziemlich stark alkalischen Reaktion hinzu und taucht hierauf die Flasche in ein heißes Wasserbad, in dem man sie einige Zeit beläßt, so daß der Flascheninhalt etwa 60° warm ist. Zur warmen Flüssigkeit läßt man rasch $^1/_{10}$ n-Jodlösung zufließen und zwar 15—25 ccm mehr von dieser Lösung, als man vorher $^1/_{10}$ n-Natronlauge zugesetzt hat, verschließt das Gefäß sofort und schüttelt um. (Die Flüssigkeit muß nach dem Jodzusatz stark braun gefärbt sein.) Nach dem völligen Erkalten wird mit Schwefelsäure angesäuert und das freigewordene Jod in der Flasche selbst mit $^1/_{10}$ n-Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Ebenso wird bei allen folgenden Anteilen des Destillates verfahren, solange diese noch Jod in nennenswerter Weise binden. Wenn dies nicht mehr der Fall ist, kann die Destillation als beendet angesehen werden. Die von den einzelnen Destillaten gebundenen Jodmengen werden addiert; die Summe gibt das von beiden Phenolen zur Bildung des Trijodsubstitutionsderivates verbrauchte Jod an.

1 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung = 0,001567 g Phenol oder
= 0,0018018 g Kresol.

Es wird sich empfehlen, die verbrauchte Jodmenge auf Kresol zu berechnen, da unter den Harnphenolen das Parakresol vorwalten soll. Nach den Versuchen von E. Baumann[1]) beständen 85% der Gesamtphenole aus p-Kresol. Nach M. Siegfried und R. Zimmermann[2]) sollen nur etwa 58% davon p-Kresol sein.

Beurteilung.

E. Salkowski[3]) hat gefunden, daß Traubenzucker, Fruchtzucker bei der Destillation mit verdünnten Säuren Substanzen von aldehyd- oder ketonartiger Natur (Furfurol u. a.) geben, die mit Jodlösung unter Bildung von Jodoform reagieren, wodurch zu hohe Phenolwerte gefunden werden. Diese Stoffe entfernt man nach Neuberg[4]) in folgender Weise. In einem zwei Liter fassenden Kolben wird das Destillat von der Behandlung mit Calcium- oder Magnesiumcarbonat mit einer Auflösung von 1 g Ätznatron und 6 g festem Bleizucker versetzt und nach dem Umschütteln etwa 15 Minuten auf einem lebhaft siedenden Wasserbade erhitzt. Die leicht flüchtigen Aldehyde entweichen, ein Teil des Bleioxyds gibt mit Phenol basisches Bleiphenolat. Zur vollkommenen Entfernung der Aldehyde erhitzt man den Kolbeninhalt am absteigenden Kühler auf freier Flamme, bis das übergehende Destillat ammoniakalische Silberlösung nicht mehr reduziert, was nach etwa fünf Minuten der Fall ist. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden, um die Bleiphenolate nicht zu trennen. Man säuert dann den Kolbeninhalt stark mit verdünnter Schwefelsäure an und destilliert die Phenole unter zweimaliger Ergänzung der Flüssigkeitsmenge durch Wasser ab. Im Destillate nimmt man die titrimetrische Bestimmung der Phenole nach Koßler-Penny wie angegeben vor.

W. Mooser[5]) glaubt, im Harne einen Körper, Urogon genannt, nachgewiesen zu haben, der mit den Phenolen zur Titration gebracht mit Jod reagiert; ob es sich um ein verunreinigtes Kresol handelt oder in welchen Beziehungen der Stoff zum Kresol steht, bedarf noch der weiteren Prüfung. Nach C. Neuberg und L. Czapski[6]) wären Urogon und Urogol lediglich verunreinigtes Kresol. Nach dem Stehen von Harn soll eine Vermehrung der Phenole eintreten.

Mooser verfährt, um die angegebenen Fehler bei der Destillation auszuschließen, zur Phenolbestimmung in folgender Weise: 250—500 g schwach alkalisch gemachten Harnes werden auf dem Wasserbade auf etwa ein Drittel bis ein Fünftel eingedampft und dann in einen mit Destillationsaufsatz und mit Kühler versehenen Destillationskolben gebracht. Durch einen im Destillationsaufsatz angebrachten Hahntrichter läßt man unter zeitweiligem Umschütteln sirupöse Phosphorsäure (1,7 D = 84,7% H_3PO_4) zufließen, daß deren Menge etwa 5% der ursprünglichen Harnmenge ausmacht. Man destilliert unter guter Kühlung bis auf etwa 100 ccm ab und wiederholt nach jeweiligem Nachfüllen von 50 ccm Wasser solange die Destillation, bis das Destillat mit Millons Reagens nicht mehr reagiert. Die aufgefangenen Destillate werden nach dem Übersättigen mit Kalkkarbonat erneut destilliert, bis alle Phenole übergegangen sind; das Destillat wird nach Koßler-Penny titriert.

M. Hensel[7]) schüttelt das nach Moosers Verfahren hergestellte Destillat mit $^1/_5$—$^1/_4$ seines Volumens reinem — vorher 4—5mal mit Natronlauge geschütteltem — Äther aus. Der Äther wird dann 4mal mit 4%iger Natriumbikarbonatlösung und darauf ebenso oft mit n-Natronlauge ausgeschüttelt; in dieser Lösung werden nach dem Neutralisieren der Hauptmenge Natronlauge die Phenole nach Koßler-Penny bestimmt.

Im Rückstande von der Destillation, also in dem bei der Destillation im Kolben gebliebenen sauren Rückstande, befinden sich noch das Brenzkatechin und das Hydrochinon, die durch Ausschütteln mit Äther dem Rückstande entzogen und, wie bei Brenzkatechin angegeben, getrennt werden können.

2. Nach W. F. Koppeschaar.[8])

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1882. **6.** 183.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1911. **34.** 472.
[3]) Archiv Physiol. 1894. **56.** 339.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **27.** 123.
[5]) Ebenda. 1909. **63.** 183. 185.
[6]) Biochem. Zeitschr. 1914. **67.** 28.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **78.** 373.
[8]) Zeitschr. analyt. Chem. 1876. **15.** 233.

Prinzip.

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

$$\underset{595,5}{5\,KBr} + \underset{167,1}{KBrO_3} + 6\,HCl = \underset{479,8}{6\,Br} + 6\,KCl + 3\,H_2O.$$

$$C_6H_5.OH + 6\,Br = C_6H_2Br_3.OH + 3\,HBr.$$

$$2\,Br + 2\,KJ = 2\,KBr + 2\,J.$$

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung S. 119.

2. Lösung von bromsaurem Natrium und Bromnatrium. 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 Brom im Überschusse zur Trockne eindampft und den Rückstand durch Zerreiben gut mischt.

$$6\,NaOH + 6\,Br = NaBrO_3 + 5\,NaBr + 3\,H_2O.$$

3. Eine Lösung von Jodkalium, 83 g im Liter, ungefähr $^1/_2$-normal.

4. Stärkelösung (S. 58).

Titerstellung der Bromatlösung.

Man mißt mit einer Meßpipette oder noch besser mit der Bürette genau 10 ccm der Bromatlösung in ein Becherglas oder in einen Erlenmeyerkolben und gibt 15 ccm Jodkaliumlösung und einige Kubikzentimeter konz. Salzsäure hinzu. Die braune Lösung von ausgeschiedenem Jod titriert man mit $^1/_{10}$n-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 Kubikzentimeter werden notiert.

Ausführung.

Das Destillat oder einen genau abgemessenen Teil des zu einem bestimmten Volumen aufgefüllten Destillates gibt man in eine mit einem gut eingeriebenen Glasstopfen versehene Flasche, läßt ein bestimmtes Volumen der Bromatlösung zufließen, setzt einige Kubikzentimeter Salzsäure hinzu und schüttelt gut durch; die Flüssigkeit darf sich nicht entfärben, sonst muß mehr Bromatlösung zugesetzt werden.

Nach $^1/_4$stündigem Stehen der Flasche mit Inhalt titriert man, wie angegeben, das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfatlösung zurück.

Zieht man die verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfatlösung von den bei der Titerstellung für die gleiche Menge der Bromatlösung verbrauchten ab, dann zeigt vom Reste jeder Kubikzentimeter der $^1/_{10}$n-Thiosulfatlösung = 0,001567 g Phenol an.

Wahl der Methode.

Die Methode 1 wäre nach den gewonnenen Erfahrungen vorzuziehen, obwohl auch die Methode 2 brauchbare Ergebnisse liefert.

Es sind noch weitere Bestimmungsmethoden ausgearbeitet worden; die beiden angegebenen sind die zuverlässigsten.

W. Autenrieth und F. Beuttel[1]) haben eine Fällung der Phenole als Tribromphenolbrom durch im Überschusse zugesetztes Bromwasser empfohlen; das Gemisch muß man am besten im Eisschranke 1—$1^1/_2$ Tag stehen lassen; der Niederschlag wird gesammelt und im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

F. Bordas und L. Robin[2]), K. Kiesel[3]) geben kolorimetrische Methoden an; nach ersteren wird die mit Ammoniumpikrat oder die bei Einwirkung von Stickstoffdioxyd auf wässrige Phenollösung eintretende Färbung mit der von Vergleichslösungen gemessen; nach letzterem wird die durch Millons Reagens hervorgerufene Reaktion mit Normallösungen verglichen.

[1]) Archiv Pharm. 1910. **248.** 112.
[2]) Compt. rend. 1898. **50.** 87.
[3]) Monatsheft. prakt. Tierheilk. 1904. **15.** 84

A. Bonanni benutzt zur Bestimmung das Spektrophotometer, E. Riegler ein gravimetrisches Verfahren.

B. Das Kresol. $C_6H_4 . CH_3 . OH$.

Das Kresol 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 müßten größere Harnmengen verarbeitet werden; erkannt wird das Kresol neben dem Phenol durch Umwandlung in die Sulfosäuren; dies wird durch Erwärmen der Phenole mit dem gleichen Gewichte konz. Schwefelsäure während einer Stunde auf dem Wasserbade erreicht. Werden die gebildeten Sulfosäuren mit Baryt neutralisiert, so bleibt das Barytsalz der Parasäure — der parakresolsulfosaure Baryt — in Barytwasser unlöslich, während das Barytsalz des Phenols in Barytwasser löslich ist (Baumann).

Das Parakresol färbt sich in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid schön blau; mit Bromwasser im Überschusse versetzt tritt die Trübung langsamer ein, wie in einer Phenollösung.

Beim Schmelzen mit Kalihydrat liefert p-Kresol, das in Prismen krystallisiert und bei 36° schmilzt, die p-Oxybenzoesäure.

Nach v. Jaksch wird eine wässerige Lösung von p-Kresol durch Kalilauge und Nitroprussidnatrium rotgelb und dann nach dem Ansäuern mit Essigsäure rosarot gefärbt.

Die Probe nach Jacquemin (s. Phenol S. 361) tritt mit Parakresol nicht ein.

Eine von C. Arnold und G. Werner[1]) angegebene Reaktion zur Unterscheidung von Phenol und Kresol ist wenig scharf und versagt leicht.

Brieger hat eine Trennung durch fraktionierte Destillation des durch Destillation gewonnenen Phenolgemisches durchgeführt.

Getrennte Bestimmung von Phenol und Kresol (p-Kresol) im gewonnenen Harndestillate nach dem Verfahren von M. Siegfried und R. Zimmermann.[2])

Prinzip.

Es werden mit der gleichen Phenolkresollösung — man verwendet wohl zweckmäßig das nach Moosers Verfahren gewonnene Destillat, das man mit einem Überschusse an Natronlauge auf dem Wasserbade eingeengt und auf 200 ccm in einem Meßkolben aufgefüllt hat oder das von den Verfassern zu diesem Zweck hergestellte (am Schlusse des Abschnittes) — zwei Bestimmungen ausgeführt:

I. wird die Menge Brom ermittelt, die das Phenol und das Kresol zusammen verbrauchen, indem aus ersterem Tribromphenol, aus letzterem Tribromkresol entsteht (b_1); hiezu läßt sich die Methode Messinger-Vortmann-Koßler-Penny oder eine von den Verf. modifizierte von Koppeschaar-Keppler verwenden. In ersterem Falle wird das Brom aus der verbrauchten Jodlösung berechnet, im zweiten erhält man direkt die gesuchte Brommenge und hat nicht zweierlei Lösungen nötig;

II. gelingt es unter den beschriebenen, genau einzuhaltenden Bedingungen, durch Brom und nachherigen Zusatz von Jodkalium zur sauren Lösung quantitativ Tribromphenol und Tribromparakresol zu erzeugen und bei der zweiten Bestimmung die Menge Brom (b_2) zu ermitteln, die bei der Überführung des Phenols in Tribromphenol und des Kresols in Dibromkresol verbraucht wird.

---

[1]) Apoth.-Ztg. 1905. **20.** 925.

[2]) Biochem. Zeitschr. 1910. **29.** 368; 1911. **34.** 462; 1915. **70.** 124.

Man berechnet in folgender Weise:

Die nach I. gefundenen Gewichtsmengen Br. $= b_1$
„ „ II. „ „ „ $= b_2$
„ gesuchten Gewichtsmengen Kresol. . . . $= x$
„ „ „ Phenol . . . $= y$.
Molekulargewicht des Kresols = 108,06
„ „ Phenols = 94,05
„ „ Broms = 79,92.

$(b_1 - b_2)$ ist die Menge Brom, die von dem vorhandenen Kresol nach der Bestimmung II weniger verbraucht wird als nach der Bestimmung I. Da diese Menge für 1 Mol. Kresol 2 Atome Brom beträgt, ist:

$$C_7H_8O + 3\,Br_2 = C_7H_5Br_3O + 3\,HBr$$
$$C_7H_8O + 2\,Br_2 = C_7H_6Br_2O + 2\,HBr$$

$$\text{I.}\quad \frac{x}{108{,}06} = \frac{b_1 - b_2}{159{,}84} \quad \text{oder} \quad x = \frac{108{,}06\,(b_1 - b_2)}{159{,}84} = 0{,}67605\,(b_1 - b_2).$$

Die Brommenge, die der unbekannten Menge Phenol entspricht, wird durch die Differenz der in der ersten Bestimmung erhaltenen Brommenge b_1 und der dem Kresol entsprechenden Menge Brom erhalten. Ferner verhält sich die gesuchte Menge Phenol zu dieser Brommenge wie das Molekulargewicht des Phenols zu dem Molekulargewicht von 6 Atomen Brom.

$$C_6H_6O + 3\,Br_2 = C_6H_3Br_3O + 3\,HBr$$

$$\text{Also: II.}\quad \frac{y}{b_1 - x \cdot \frac{479{,}52}{108{,}06}} = \frac{94{,}05}{479{,}52};\quad x \text{ aus I.}$$

$$y = \left(b_1 - \frac{0{,}67605 \cdot (b_1 - b_2) \cdot 479{,}52}{108{,}06}\right) \cdot \frac{94{,}05}{479{,}52}$$

$$y = b_1 \cdot 0{,}19613 - (b_1 - b_2)\,0{,}5884$$
$$y = b_2 \cdot 0{,}5884 - b_1 \cdot 0{,}3923.$$

Erforderliche Lösungen:

1. $^n/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung.
2. Kaliumbromatbromidlösung, im Liter 0,834 g Kaliumbromat und 2,97 g Kaliumbromid enthaltend.
3. 5%ige Jodkaliumlösung, die nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure Stärkelösung nicht bläuen darf.
4. Stärkelösung, aus löslicher Stärke bereitet.
5. Schwefelsäure, aus gleichem Volumen Wasser und konz. Schwefelsäure bereitet.
6. Etwa 25%ige Salzsäure.

(Den Titer der Bromatbromidlösung bestimmt man in folgender Weise: In einer verschließbaren Flasche von etwa 250 ccm Inhalt werden 100 ccm Bromatbromidlösung mit 10 ccm 25%iger Salzsäure und mit 15 ccm 5%iger Jodkaliumlösung vermischt. Das freie Jod wird mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung titriert, wobei die Stärkelösung erst gegen das Ende der Reaktion zugefügt wird, d. h. wenn die Flüssigkeit nur noch gelb gefärbt ist. 1 ccm Thiosulfatlösung = 0,007992 g Br.)

Ausführung der Methode. A. Bestimmung von b_1.

In einer etwa 500 ccm fassenden, mit Glasstopfen versehenen enghalsigen Flasche versetzt man die genau gemessene Menge der wässerigen Lösung des Phenolgemisches (etwa 0,02—0,04 g der Phenole), die man auf 100 ccm verdünnt hat, mit 20—30 ccm Schwefelsäure (1 : 1), schüttelt um, läßt mindestens eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen und fügt aus einer Bürette unter Umschwenken zunächst soviel der Kaliumbromidbromatlösung hinzu, bis sich beim Schütteln der Niederschlag zusammenballt und die Flüssigkeit deutlich gelb gefärbt ist. Dann läßt man noch den 8. Teil der angewandten Menge Bromlauge hinzufließen und die Mischung gut verschlossen unter öfterem kräftigem Umschütteln 1 Stunde lang in Eiswasser stehen. Hierauf wird unter Vermeidung von Bromverlust durch Glaswolle in 25—30 ccm 5%iger Jodkaliumlösung filtriert, die erste Flasche mit Wasser gut nachgespült, mit diesem zur Absorption freier Bromdämpfe gut durchgeschüttelt und mit diesem Wasser der Niederschlag ausgewaschen. Im Filtrate wird mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung das Jod titriert.

B. Bestimmung von b_2.

Die gleiche Menge der Lösung des Phenolgemisches wie in A. versetzt man in einer mit Glasstopfen versehenen Literflasche mit etwa 30 ccm 25%iger Salzsäure, verdünnt bis auf 500 ccm mit Wasser und kühlt auf 5° ab. Dann fügt man unter gleichmäßigem langsamem Umschwenken die Menge Bromatbromidlösung hinzu, die nach der b_1-Methode bis zur Gelbfärbung der Flüssigkeit verbraucht wurde und noch 1% mehr und läßt die Mischung, ohne zu schütteln, gut ver-

schlossen, 15 Minuten in Eiswasser stehen. Es kommt hiebei hauptsächlich darauf an, daß der entstehende Niederschlag sehr feinflockig ausfällt, was man nur durch ganz vorsichtiges Umschwenken erzielt.

Nach 15 Minuten versetzt man die Mischung mit 25—30 ccm 5%iger Jodkaliumlösung, schüttelt allmählich um, bis die Flüssigkeit gleichmäßig gefärbt ist und läßt die Mischung 1 Stunde vor Licht geschützt stehen. Darauf schüttelt man mehrere Male kräftig durch und titriert das freie Jod mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung.

Berechnung siehe bei Prinzip.

b_1 = die nach A. gefundene Menge gebundenen Broms,
b_2 = „ „ B. „ „ „ „ „ ,
x = die gesuchten Mengen Parakresol,
y = die gesuchten Mengen Phenol.

$$x = 0{,}67605\ (b_1 - b_2)$$
$$y = 0{,}5884 \cdot b_2 - 0{,}3923 \cdot b_1.$$

Nach verschiedenen Versuchen haben die Verfasser für die Bestimmung des Phenols und des p-Kresols im Harne die folgende Methode ausgearbeitet.

3 Liter mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzten Harnes werden in einer Schale auf dem Wasserbade bis zu etwa $^1/_5$ des ursprünglichen Volumens eingeengt und in den Destillationskolben übergeführt. Dieser ist durch einen dreifach durchbohrten Gummistopfen außer mit dem Destillationsrohre (Kühler) und dem den Wasserdampf zuleitenden Rohre mit einem Hahntrichter versehen, durch den bei den folgenden Manipulationen sowohl die Schwefelsäure, als das in Wasser aufgeschwemmte Natriumbicarbonat (an Stelle von Calcium- oder Magnesiumcarbonat s. S. 362) eingefüllt werden. Durch den Hahntrichter wird die abgekühlte Mischung von 150 g konzentrierter Schwefelsäure und 150 ccm Wasser gegeben; es wird mit Wasserdämpfen unter gleichzeitigem Erhitzen des Destillationskolbens bis zum Sieden der Flüssigkeit so lange, gegebenenfalls länger destilliert, bis das Destillat die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt. Man prüft erst dann mit dem Reagens, wenn das Volumen des Destillates etwa 1 Liter beträgt.

Dieses Destillat wird im Kolben mit 30—40 g im Wasser aufgeschwemmten Natriumbicarbonates durch den Hahntrichter vermischt und unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes, den man vorteilhaft schon durch den Wasserdampfentwickler führt, wieder bis zum Versagen der Millonschen Reaktion oder länger destilliert. Das Destillat wird nach Neuberg (S. 363) mit der Mischung der wässerigen Lösungen von 3 g Natriumhydrat und 18 g Bleiacetat im Kolben versetzt, auf einem siedenden Wasserbade 15 Minuten stehen gelassen, dann, bis alkalisch-ammoniakalische Silbernitratlösung nicht mehr reduziert wird, abdestilliert. Hierauf wird mit Schwefelsäure (1 : 1), die durch den Hahntrichter zugegeben wird, stark angesäuert und die Destillation mit Wasserdämpfen bis zum Versagen der Millonschen Reaktion fortgesetzt. Das Destillat wird mit einem großen Überschusse von Natronlauge in einer Schale auf dem Wasserbade eingeengt und im Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt; damit werden die Bestimmungen nach der Methode b_1 und b_2 vorgenommen.

Beurteilung.

Die Verfasser empfehlen diese Methode als brauchbar und genau. A. Ellinger[1]) schlägt vor, das nach Moosers Vorschrift gewonnene Destillat für die Trennung der Phenole zu verwenden.

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

Das Brenzkatechin findet sich in sehr geringen Mengen im Harne regelmäßig und kommt aus der im Pflanzenreiche weitverbreiteten Protokatechusäure, Brenzkatechincarbonsäure; brenzkatechinreicher Harn färbt sich beim Stehen, besonders bei alkalischer Reaktion, dunkel.

Reichlicher kommt Brenzkatechin nach dem Genusse von Phenol und Benzol als Brenzkatechinschwefelsäure oder als gepaarte Glykuronsäure vor. Das Benzol und Phenol gehen also zum Teil in Diphenole über.

Darstellung.

Stark mit Salzsäure angesäuerter Harn wird nach Baumann[2]) kurze Zeit zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten einige Male mit Äther im

[1]) Neubauer-Huppert, Analyse d. Harns. C. W. Kreidel, Wiesbaden. 1913. 2. Teil. 791.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1883/84. 8. 188.

Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge befreit man durch Abdestillieren zum Teil von Äther, schüttelt sie wiederholt mit einer wässerigen Sodalösung und verdunstet den Äther. Den Ätherrückstand nimmt man mit etwa 20 ccm gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung auf, filtriert und destilliert die Salzlösung nach dem Verdünnen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdampf so lange, als flüchtige Phenole übergehen. Der Destillationsrückstand wird mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verdunstet, der zurückbleibende Sirup im Wasser gelöst und durch Bleizucker gefällt (Vermeidung eines Überschusses). Im Niederschlage ist Brenzkatechin, im Filtrate 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. Die wässerige Lösung des Brenzkatechins gibt mit verdünnter Eisenchloridlösung versetzt eine Grünfärbung, die nach Zusatz von verdünnter Ammoniumcarbonatlösung violett, nach Zusatz von Essigsäure wieder grün wird (Brieger).
2. Alkalische Kupferlösung (Fehlingsche Lösung) und ammoniakalische Silberlösung werden reduziert.
3. Natriumbichromat in 2%iger Lösung und Sulfanilsäure geben mit einer wässerigen Brenzkatechinlösung eine weinrote bis rosarote Färbung (G. Bayer).

Eigenschaften.

Das Brenzkatechin krystallisiert aus Wasser und Äther in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln (Schmelzpunkt 104°); es sublimiert in glänzenden Blättchen und ist löslich in Wasser, Äther, Alkohol, in heißem Toluol und in kaltem Benzol (Unterschied von Hydrochinon). Durch essigsaures Blei wird es gefällt. Die Lösungen edler Metalle werden reduziert; Alkalien rufen Zersetzung unter Braunfärbung hervor.

D. Hydrochinon. Paradioxybenzol. $C_4H_4(OH)_2$ 1,4.

Das Hydrochinon ist nach seinem Gebrauche, sowie nach Verabreichung von Phenol und Benzol im Harne als Ätherschwefelsäure (Hydrochinonglykuronsäure) vorhanden.

Darstellung.

Siehe Brenzkatechin. Im Filtrate vom Brenzkatechinniederschlage ist das Hydrochinon, das durch Blei nicht gefällt wird, vorhanden; das Filtrat wird mit Schwefelsäure zersetzt, nach Zusatz von kohlensaurem Baryt erwärmt, filtriert und das Filtrat mit Äther ausgeschüttelt; dieser wird verdunstet. Der krystallinisch erstarrende gelbe bis braune Rückstand wird aus siedendem Benzol oder Toluol umkrystallisiert.

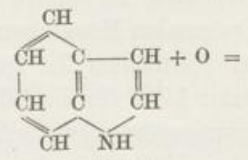
Nachweis.

1. Das Hydrochinon entwickelt beim schnellen Erhitzen im offenen Reagenzglase violette Dämpfe und bildet ein indigoblaues Sublimat; die Farbe verschwindet beim Befeuchten.
2. Mit Eisenchlorid entsteht nur eine vorübergehende Blaufärbung.
3. Beim Unterschichten einer Lösung von 0,15—0,20 g Hydrochinon in 3—4 ccm Alkohol mit Natronlauge entsteht ein grünlicher Ring.

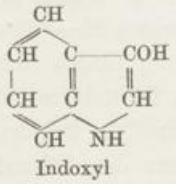
Eigenschaften.

Es krystallisiert in rhombischen, bei 169° schmelzenden Säulen oder Tafeln und ist löslich in heißem Wasser, Alkohol, Äther, in heißem Toluol, sehr schwer ist es löslich in kaltem Benzol (Unterschied vom Brenzkatechin); beim Erwärmen der wässerigen Lösung mit Eisenchlorid entsteht Chinon (penetranter Geruch). Durch essigsaures Blei wird es nicht gefällt. (Unterschied von Brenzkatechin.) Silbernitratlösung, Fehlingsche Lösung werden reduziert.

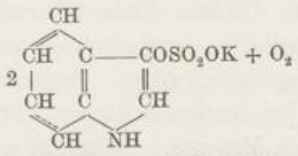
E. Indol, Indoxyl, Indican (Harnindikan), Indigo.



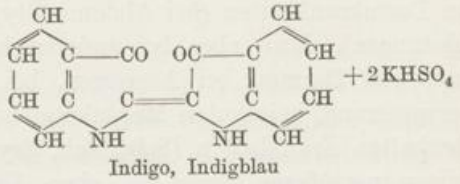
Indol



Indoxyl



Indoxylschwefelsaures Kali, Indikan



Indigo, Indigblau

Das Indoxyl ist das Oxydationsprodukt des Indols, das die Muttersubstanz der ganzen Indigogruppe darstellt (Jaffé) und das bei jeder Eiweißfäulnis wohl durch bakterielle Zersetzung des Tryptophans (Indolaminopropionsäure) als Gärungsprodukt im Darminhalte (Dünndarm) entsteht und sich vorfindet. Das resorbierte Indol wird in den Geweben, im Organismus zu Indoxyl oxydiert und dieses vereinigt sich ebenso, wie wir es bei den anderen Phenolen gesehen haben, unter Wasseraustritt mit der Schwefelsäure, zum kleineren Teile auch mit Glykuronsäure, zu einer Ätherschwefelsäure, zu indoxylschwefelsaurem Kali (Baumann) oder zu Indoxylglykuronsäure.

Werden diese, allerdings nicht richtig, auch Indican genannten Substanzen — unter Harnindican versteht man die eben erwähnten Verbindungen des Indoxyls mit Schwefelsäure, mit Glykuronsäure, das indoxylschwefelsaure Kalium —, die ausschließlich zu besprechen sind, mit einer Säure und

einem Oxydationsmittel behandelt, so werden sie gespalten und das freigewordene Indoxyl wird zu Indigoblau (Indigo) oxydiert.

Auf dieser Eigenschaft beruht der Nachweis des Indoxyls, des sogenannten Indicans, des Harnindicans.

Das indoxylschwefelsaure Kalium wurde von E. Baumann aus dem Harne isoliert; es stellt weiße Blättchen dar, die rasch erhitzt ein krystallinisches Sublimat von Indigo geben. Mineralsäuren spalten Indoxyl ab. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich.

Die Indoxylglykuronsäure ist weniger beständig; sie dreht links und wird beim Eindampfen von Harn, bei der ammoniakalischen Harngärung zerlegt (Abscheiden von Indigo).

Vorkommen.

Jeder normale Harn enthält Indoxyl (Indican), nach Jaffé 5—20 mg, nach H. Strauss 2—4 mg, nach E. Wang 15 mg, nach Serkowski 4—20 mg in der innerhalb 24 Stunden entleerten Harnmenge als Indigo in Rechnung gestellt; dieser Gehalt hängt auch von der Nahrung ab, da z. B. Fleischkost diesen Gehalt vermehrt; bei kohlenhydratreicher Nahrung und Milchdiät sinkt die Indicanmenge bis auf 4—5 mg; bei pathologischen Zuständen kann eine Vermehrung eintreten, die das 10—12fache der normalen Menge betragen kann. Eine solche Vermehrung findet sich bei der reichlichen Zerstörung, bei der Fäulnis von Eiweiß im Dünndarme, der in erster Linie für die Bildung des Indoxyls in Betracht kommt, so bei den Verdauungsstörungen, dann bei Darmeinklemmungen, besonders des Dünndarmes, bei Peritonitis, bei allen anderen Darmkrankheiten (bei Abdominaltyphus, Cholera, Darmtuberkulose, Darmblutungen), dann aber bei anderen bakteriellen septischen Prozessen außerhalb des Darmes, bei Abscessen, bei Magengeschwüren, Magenkrebs, Magenerweiterung, bei akuten Magenkatarrhen, bei fortgeschrittener Phthise, bei fieberhaften Krankheiten (Scharlach, Erysipel, Masern). Gefunden wurde das Indican in größerer Menge bei Leber-, Uteruskrebs, nach Bleikolik.

Die Hauptquelle der Bildung des Harnindicans sind die Darmbakterien (indolbildende Bakterien, so die der Coligruppe, des Proteus, der Diphtherie u. a.).

Häufiger wird das Vorkommen von Aceton bei Indikanurie festgestellt (E. R. Wilson).

Im allgemeinen, sagt v. Jaksch, ist das Auftreten großer Mengen Indicans als Symptom zu deuten, daß irgendwo im Körper eine stärkere Eiweißfäulnis stattfindet. Doch ist dieses für irgendeine spezielle Diagnose (z. B. jauchiger Absceß) nur mit einer gewissen Vorsicht zu verwerten, da durch einfache Kotstauung ebenfalls eine sehr beträchtliche Indicanurie hervorgerufen werden kann.

Nach C. F. Askenstedt[1]) gestattet das Verhältnis zwischen Harnstoff nnd Indican einen besseren Vergleich, als der Prozentgehalt an Indican allein.

[1]) Pharm. Zentrlh. 1911. 52. 322.

Bei Gesunden soll dieses 1 : 1500—2500 (Harnstoff) betragen; bei gestörter Verdauung kann es bis zu 1 : 100 herabgehen.

Von Arzneimitteln vermindern Kalomel und Bismut. subnitric. die Indicanausscheidung.

In seltenen Fällen, manchmal im faulenden Harne, findet sich das indoxylschwefelsaure Kali schon in zersetztem und oxydiertem Zustande als Indigo vor; man sieht diesen dann als rotschillernden Überzug auf dem Harne oder in kleinen nadelförmigen, indigoblauen Krystallen am Boden der Gefäße, nicht selten in sternförmiger Gruppierung abgeschieden. Es kann aber in manchen Fällen sogar ein blaugefärbter Harn entleert werden, wie dies bei Morb. Brightii, bei Magen- und Leberkrebs beobachtet wurde. Auch kleine aus Indigo bestehende Steine wurden entleert.

Hier mag bemerkt sein, daß F. Stirnimann beobachtet hat, daß der Harn eines Patienten, der Arnicatinktur innerlich genommen hatte, Indicanurie vortäuschte, herrührend von dem Thymolhydrochinonmethylester, der in dem mitverwendeten Wurzelstocke vorhanden ist.

P. Sommerfeld[1]) beobachtete bei einem 7jährigen Knaben das Ausscheiden eines dunkelgrün gefärbten, an Indican reichen Harnes.

Auf interessante Studien von R. V. Stanford[2]) über indigobildende Substanzen im Harne (Harnindikan) und von G. Hoppe-Seyler[3]) sei hingewiesen.

Qualitativer Nachweis des Indoxyls (Indicans).

Die Methoden zum Nachweis beruhen auf der Spaltung der erwähnten Verbindungen und der Oxydation des freigewordenen Indoxyls zu Indigo.

1. Nach M. Jaffé.[4])

Man gibt zu 10 ccm Harn, der von etwa vorhandenem Eiweiß befreit worden ist, das gleiche Volumen konz. Salzsäure, dann 2—3 ccm Chloroform und fügt unter Umschütteln vorsichtig und langsam 1—2 Tropfen kaltgesättigter Chlorkalklösung (oder $^1/_2$ %ige Kaliumpermanganat- oder Eisenchloridlösung) hinzu. Durch öfteres Umdrehen des verschlossenen Glases nimmt das Chloroform das gebildete Indigblau auf und wird hiebei mehr oder weniger, je nach dem Gehalte des Indigos, gefärbt. Die Chloroformlösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*.

H. Sahli bringt einige Kubikzentimeter Salzsäure mit einem Tropfen der Chlorkalklösung ins Reagenzglas, schüttelt durch und schichtet die gleiche Menge Harn darüber. An der Grenze der Flüssigkeiten bildet sich die Indicanreaktion allmählich schön aus.

Nach Keilmann kann man die Jaffésche Probe zur annähernden Bestimmung der Indigomenge verwenden; wenn bei Anwendung von 3 ccm Harn, 3 ccm konz. Salzsäure, 1 ccm Chloroform bis zur Isatinbildung mehr als 12 Tropfen der vorsichtig tropfenweise zugegebenen, mit gleichen Teilen Wasser verdünnten konz. Chlorkalklösung verbraucht werden, ist der Harn als pathologisch anzusehen, wenn 20 und mehr Tropfen nötig sind, handelt es sich um schwere Indicanurie. Diese Bestimmung ist selbstverständlich eine nur ganz annähernde.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** 2793.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **87.** 188.
[3]) Ebenda. 1916. **97.** 271. 250; Deutsch. med. Wochenschr. 1916. **42.** 1213.
[4]) Archiv Physiol. 1870. **3.** 448.

Beurteilung.

Ein Überschuß des Oxydationsmittels (besonders von der Chlorkalklösung) muß vermieden werden, da sonst Indigo rasch weiter zu Isatin — einem farblosen Körper — oxydiert wird. Sicherer ist es, die Oxydation durch vorsichtigen Zusatz von Eisenchlorid zu bewerkstelligen, das auf den einmal gebildeten Indigo nicht weiter einwirkt. Starkes Schütteln veranlaßt eine öfters kaum mehr zu trennende Emulsion. Enthält der Harn Jodide, die das Chloroform violett färben, so gibt man nachträglich etwas Thiosulfat hinzu oder schüttelt die Chloroformlösung mit etwas Kalilauge (B. Hendrix). Doch siehe nächste Seite.

Bei Anwesenheit von Chrysophansäure kann eine grünlichgelbe Färbung des Chloroforms erfolgen, nach Einnehmen von Bromverbindungen eine gelbe.

Den störenden Einfluß von Urobilin kann man dadurch beseitigen, daß man den angesäuerten Harn mit Ammoniumsulfat sättigt und das Urobilin durch Schütteln mit Essigäther entfernt.

Wenn sich das Chloroform rötlich färbt, so soll der Harn Skatol enthalten, das klinisch gleichwertig ist; dieses, ebenso die Skatoxylschwefelsäure sind jedoch im Urin in einwandfreier Weise noch nicht nachgewiesen worden (s. S. 381).

Methylenblau, das wie Indigo in Chloroform, Amylalkohol und Nitrobenzol, nicht in Tetrachlorkohlenstoff (zum Unterschiede von Indigo) löslich ist, unterscheidet sich dadurch, daß starke Salzsäure den Methylenblau enthaltenden Harn entfärbt, ebenso auch den blauen Chloroformauszug. Spektroskopisch zeigt eine Lösung von Methylenblau in Chloroform ein schmales dunkles Band im Rot, wodurch es sich leicht vom Indigo unterscheidet.

2. Die Probe nach F. Obermayer.[1])

Der sauer reagierende Harn wird vor der Oxydation erst mit Bleiacetat behandelt, und zwar versetzt man 20 ccm Harn mit 5—10 ccm einer 10%igen Bleizuckerlösung — je nach dem spez. Gewichte des Harnes, bei Harne mit sehr niederem spezifischem Gewichte genügen noch kleinere Mengen Blei —, filtriert und schüttelt das Filtrat mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, die im Liter 2 g Eisenchlorid enthält — das Reagens stellt man sich am besten immer frisch her, s. Beurteilung —, tüchtig durch; man wiederholt dieses Umschütteln nach dem Zusatze von 5 ccm Chloroform. Die Chloroformlösung färbt sich in der bei 1. angegebenen Weise.

Scheidet sich nach Zusatz von Salzsäure Bleichlorid aus, dann wiederholt man die Probe mit geringerem Bleizuckerzusatz.

Das Deutsche Arzneibuch V läßt mit einer 25%igen Bleiacetatlösung ausfällen, was unzweckmäßig ist (s. Beurteilung).

Beurteilung.

Diese Probe ist eine gute, da der Harn durch den Bleizusatz, von dem aber ein Überschuß möglichst zu vermeiden ist, von Farbstoffen, die stören können, befreit wird; auch setzt sich die Chloroformschicht schöner und leichter ab, während ohne den Bleizuckerzusatz häufig Emulgieren und sehr schlechtes Abscheiden des Chloroforms zu bemerken sind. Jodide werden wie bei I angegeben beseitigt.

Man hat auch bei dieser Probe eine Überoxydation beobachtet (Ellinger), d. h. ein Teil des Harnindoxyls wurde zu Isatin oxydiert, das sich natürlich dem Nachweis entzieht. Nach Maillards[2]) Versuchen ist diese Überoxydation im Obermayerschen Reagens selbst zu suchen; er konnte nämlich beobachten, daß das Reagens, wenn es nur einige Tage dem Lichte ausgesetzt war, einen intensiven Geruch nach Chlor oder nach Oxyden des Chlors verbreitete. Maillard nimmt an, daß das in Lösung befindliche Eisen, vielleicht als Katalysator wirkend, die Oxydation der Salzsäure beschleunigt und daß das Reagens mit einer außergewöhnlich großen Oxydationskraft die Hyperoxydation des Indoxyls zu Isatin und damit Verluste veranlaßt. Man muß sich deshalb wohl hüten, ein solches verändertes Obermayersches Reagenz zu verwenden. Wie bei dem quantitativen Nachweis ausgeführt werden wird, sollte auch hier die Chloroformlösung gleich mit Wasser und darauf mit 1‰iger Kalilauge geschüttelt, gereinigt werden. J. Gnedza[3]) erwähnt, daß man in Harnen, die z. B. viel Urobilin enthalten, den Indicangehalt erst erkennen kann, wenn man die

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1890. **9.** 176.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41.** 437; Compt. rend. 1903. **136.** 1472.

[3]) Sitz. Acad. d. scienc. 1903. **6.** 9; Chem. Ztg. 1903. **27.** 676; Compt. rend. 1903. **136.** 1407.

schiefergrau aussehende Chloroformlösung mit konz. Kalilauge im Überschusse behandelt. Wenn Harne viel Phosphate, auch Acetessigsäure, Antipyrin, Salicylate enthalten, darf man nach Gnedza zur Oxydation kein Eisenchlorid verwenden.

Die Proben 1 und 2 versagen im Harne, wenn dieser Formaldehyd enthält; jedenfalls bildet sich ein Kondensationsprodukt aus Indoxyl und Aldehyd.

Wenn Jodsalze eingenommen wurden, eignet sich die Jaffesche Probe nach C. J. Reichardt[1]) nicht; die Probe kann, zumal wenn der Harn frisch genommen wird, sogar ganz im Stiche lassen. Man nimmt die Obermayersche. Durch den Zusatz von Bleiacetat wird außer störenden reduzierenden Stoffen Jod als Jodblei ausgefällt. Da dieses in Alkaliacetatlösung löslich ist, ist es im Niederschlag, wie in der Lösung; in letzterer ist die größere Menge vorhanden. Zur Bestimmung des Jods verfuhr Reichardt in nachstehender Weise:

50 ccm klarer Harn werden mit 30 g 10%iger Bleiacetatlösung vermischt. Die Fällung wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Zum Filtrate wird Kalilauge bis zur alkalischen Reaktion zugefügt, das ausfallende Bleihydroxyd wird entfernt und das Filtrat mit etwas Stärkelösung und bis zur Schwarzfärbung allmählich mit Eisenchloridlösung versetzt. Dann wird 1 ccm $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung auf einmal hinzugesetzt und die rotbraun gewordene Flüssigkeit bis zur Schwarzfärbung mit $^1/_{10}$ n-Jodlösung zurücktitriert.

Der Niederschlag wird mit Ammoniumchloridlösung erwärmt, um vorhandenes Jodblei zu lösen und dieses dann ebenso bestimmt.

3. Weitere Verfahren sind von J. Amann, A. Klett, C. Strzyzowski, A. Gürber, E. Salkowski, T. Imabuchi, R. V. Stanford, A. Loubiou empfohlen worden. Ersterer verwendet als Oxydationsmittel 10%ige wässerige Natriumpersulfatlösung, Klett das Ammoniumpersulfat, Stanford und Loubiou wählten Wasserstoffsuperoxyd (nicht im Überschusse verwenden!), während Strzyzowski das Filtrat des mit Bleiacetatlösung behandelten Harnes mit einem bis zwei Tropfen einer 1%igen Kaliumchloratlösung versetzt. Strzyzowski behandelt 20 ccm Harn mit 5—10 ccm (je nach Konzentration, über 1,015 10 ccm, darunter 5 ccm) 10%iger Bleizuckerlösung und bringt bei Anwendung der 5 ccm auf 30 ccm. Vom Filtrate werden dann 15 ccm mit einem Tropfen der 1%igen Lösung von chlorsaurem Kali, sodann mit 5 ccm Chloroform und schließlich mit 15 ccm reiner rauchender Salzsäure (1,19) versetzt und öfters geschüttelt. In 10—15 Minuten ist die Maximalfärbung erreicht; nötigenfalls gibt man noch einen bis zwei Tropfen der Kaliumchloratlösung hinzu. Gürber[2]) verwendet 1%ige Osmiumsäurelösung, E. Salkowski, Imabuchi empfehlen statt Eisenchlorid 1—2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung, die zum Harnfiltrate neben dem gleichen Volumen Salzsäure zugefügt werden

M. Rhein hält die Verwendung von konz. Antiformin für geeigneter an Stelle der wenig haltbaren Chlorkalklösung.

Lelli verwendet eine 10%ige Goldchloridlösung in Salzsäure (1,18), 10 ccm Harn + 10 ccm Reagens; in einigen Minuten färbt sich das Gemisch lilaviolett. Man schüttelt mit Chloroform aus. Durch Bleiacetat oder mit Knochenkohle vorbehandelter Harn gibt schönere Reaktion. Jodhaltigem Harne gibt man nach dem Chloroformzusatz 1 ccm 10%ige Natriumthiosulfatlösung hinzu.

E. Nicolas versetzt indicanhaltigen Harn mit einigen Tropfen einer gesättigten wässerigen Furfurollösung und dem gleichen Volumen Salzsäure und schüttelt langsam mit Chloroform; letzteres zeigt dann eine deutliche grüne Fluorescenz.

Ehrlich verwendet eine Lösung von 0,33 g p-Dimethylamidobenzaldehyd in 50 ccm Wasser und 50 ccm rauchender Salzsäure. Man erhitzt gleiche Teile Harn und Reagens zum Sieden und gibt nach dem Abkühlen einen Überschuß von Ammoniak oder schwacher Kalilauge hinzu. Es entsteht eine Rotfärbung, wenn Indican vorhanden ist, deren Stärke für die vorhandene Menge als Maßstab dienen kann.

A. Jolles[3]) gibt eine neue Indikanreaktion unter Verwendung von Thymol an.

10 ccm Harn werden mit 2 ccm 20%iger Bleizuckerlösung geschüttelt und filtriert; zum Filtrate setzt man 1 ccm 5%ige alkoholische Thymollösung und 10 ccm eisenchloridhaltige Salzsäure (0,5% Eisenchlorid in konz. Salzsäure). Nach 15 Minuten fügt man 4 ccm Chloroform zu und schüttelt leicht durch. Violettfärbung des Chloroforms bei Anwesenheit von Indikan. Statt der Thymollösung kann man auch 5%ige alkoholische α-Naphthollösung nehmen.

Wahl der Methode.

Die Obermayersche Probe ist unter Beobachtung der genannten Vorsichtsmaßregeln wohl die beliebteste und auch sicherste Probe. Zu bemerken ist noch, daß bei der Beurteilung des Ergeb-

[1]) Pharm. Ztg. 1911. **56.** 321.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **52.** 1878.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **87.** 310; 1915. **95.** 299; Pharm. Zentralh. 1913. **54.** 1009; Pharm. Post. 1913 **46.** 850; Monatsh f. Chem. 1915. **36.** 83.

nisses auch Rücksicht auf das spezifische Gewicht des Harnes zu nehmen ist. Wenn die Färbung z. B. intensiv ist bei einem Harne mit 1,040 spez. Gewicht, so ist es eine normale Erscheinung, im Gegensatz weist eine sogar schwache Färbung des Chloroforms bei 1,010 spez. Gewicht auf Indicanvermehrung hin (Serkowski).

Man vergesse nicht, den Harn auch auf Phenole zu prüfen. Man kann z. B. bei Eiterungen nur geringe Indikanurie, aber starke Phenolausscheidung vorfinden.

Die quantitative Bestimmung des Indicans.

1. Nach F. Obermayer, E. Wang[1]), A. Ellinger[2]), L. Maillard.[3])

Prinzip.

Die vorhandene Indicanmenge wird nach dem Verfahren von F. Obermayer in Indigo, dieses in Indigosulfosäure übergeführt und die letztere durch Kaliumpermanganatlösung titrimetrisch bestimmt.

Erforderliche Lösungen.

1. Das Obermayersche Reagens (konz. Salzsäure mit 2 g Eisenchlorid für den Liter Säure). Dieses wird man stets frisch bereiten.
2. Von einer Permanganatlösung (etwa 3 g im Liter) — annähernd $^n/_{10}$-Lösung — werden beim Gebrauche 5 ccm mit 195 ccm Wasser verdünnt; diese Lösung wird auf eine Oxalsäure von genau bekanntem Gehalte eingestellt (s. S. 77). Durch Multiplikation des Oxalsäurewertes der Titerlösung mit 1,04 wird die Indigomenge gefunden. Der Titer der Permanganatlösung wird aber besser auf reinen Indigo, der in konzentrierter Schwefelsäure gelöst ist, eingestellt; 1 ccm entspricht ungefähr 0,00015 g Indigo.

Mit der zweckentsprechenden Ausführung dieser Methode haben sich zahlreiche Forscher beschäftigt. Vor allem kommt auch hier in Betracht, was bei der Vornahme der qualitativen Probe nach Obermayer erwähnt wurde, man hat eine Überoxydation des Indoxyls zu verhindern, man wird nach den Erfahrungen Maillards ein frisch bereitetes Reagens verwenden. Der wichtigste und meist umstrittene Punkt bei der quantitativen Bestimmung war die Frage, in welcher Weise die Indigochloroformlösung gereinigt werden muß, um richtige Ergebnisse zu erzielen. Ellinger hat den Rückstand von der Chloroformlösung des Indoxyls durch 2—3maliges Behandeln mit heißem Wasser gereinigt, bis das abfiltrierte Waschwasser Kaliumpermanganatlösung nicht mehr entfärbte; ein 3maliges Auswaschen genügt aber meist nicht; Wang nahm die Reinigung durch Behandlung mit einem Gemische gleicher Teile Alkohol, Äther und Wasser, Obermayer mit 45%igem Alkohol vor, während Bouma zur Entfernung flüchtiger Verunreinigungen auf dem Wasserbade erwärmte. Alle diese empfohlenen Methoden zur Reinigung der Chloroformlösung oder des Chloroformrückstandes hält Maillard nicht für ausreichend; die dekantierte und filtrierte Chloroformlösung ist noch nicht rein, selbst wenn sie völlig klar erscheint. Mehrmaliges Schütteln mit destilliertem Wasser bringt zwar einige bräunliche Produkte und den Überschuß von Salzsäure zum Verschwinden, trotzdem bleibt aber die Chloroformlösung noch sehr unrein. Außer Indigotin (Hemiindigotin), Indirubin, Spuren von Isatin, die aber nicht stören, sind Phenole, aromatische Säuren und Oxysäuren und ein oder mehrere gelbe Substanzen vorhanden, die, in Schwefelsäurelösung gebracht, immerhin, wenn auch nur wenig, Kaliumpermanganatlösung zu reduzieren vermögen; es ist aber nicht ausgeschlossen und schließlich auch noch nicht mit hinreichender Sicherheit bewiesen, ob nicht besonders in pathologischen Fällen die Menge und die Art der in Chloroform löslichen sauren Verunreinigungen möglicherweise wechselt. Daß diese Meinung Maillards nicht unrichtig ist, beweisen uns die Ausführungen von Gnedza[4]), der bei pathologischen Harnen und bei solchen, die viel Urobilin enthielten, eine reine Indigochloroformlösung nicht erhalten konnte; nur durch einen Zusatz von Kalilauge ließ sich eine Reinigung ermöglichen.

Auch macht die Anwesenheit von bräunlichen Stoffen in einer Flüssigkeit, in der man bei gelber Grundfarbe das Verschwinden der letzten Spur Rosa beobachten will, die schon an sich schwierige Bestimmung des Endes der Reaktion unmöglich. Die Natur der gelben Substanzen ist noch unbekannt. Bouma hält sie für Derivate des Indoxyls, für das Indigogelb Cruisoz, doch ist dafür kein Beweis erbracht; Maillard hält es für wahrscheinlich, daß sie ein phenol- oder chinonartiges Oxydationsprodukt sind, oder daß sie vielleicht zu den Huminsubstanzen gehören.

Maillard empfiehlt, die schon vorher mit reinem Wasser ausgeschüttelte Choroformlösung mit reiner Natronlauge (1:1000) zu waschen; es gehen sofort alle fremden Substanzen in die alkalische Flüssigkeit; die mit dem alkalischen Wasser gewaschene Chloroformlösung wird zur Beseitigung von Spuren Alkali mit reinem Wasser behandelt. Beim Eindampfen der gereinigten Chloroformlösung hinterbleibt ein Rückstand, den man in üblicher Weise mit Schwefelsäure auf-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **25.** 406.
[2]) Ebenda. 1903. **38.** 182; **39.** 184.
[3]) l. c. S. 372.
[4]) l. c. S. 372.

zunehmen hat, um die gewünschten Sulfoverbindungen des Indigotins und des Indirubins in völliger Reinheit zu erhalten und mit der Permanganatlösung zu bestimmen.

Salkowski[1]), der mit Rinderharn arbeitete, bei dem die in Frage kommenden Verunreinigungen sich noch mehr geltend machen, fand, daß nach Ellinger Kresol und Oxysäuren vollkommen entfernt werden, nicht aber sämtliche Verunreinigungen; nach Wang ist die Reinigung umständlich, leicht mit Verlusten verbunden; es ging auch etwas Indigorot in Lösung, ebenso nach Obermayer. Salkowski war mit der Reinigung nach Ellinger zufrieden, er gibt aber zu, daß er nach Abschluß seiner Abhandlung vom Verfahren Maillards Kenntnis erhalten hat und daß ihm die Reinigung mit der verdünnten Natronlauge sehr zweckmäßig erscheint; er stellte auch fest, daß durch die Reinigung sehr erhebliche Mengen oxydabler Substanzen entfernt werden, die den Endpunkt der Reaktion beim Titrieren des Indigos auf Farblosigkeit notwendig hinausschieben müssen.

P. Grosser[2]) findet ebenfalls, daß am besten nach Maillard gearbeitet wird. Ich bin mit dieser Methode stets sehr zufrieden gewesen; die Resultate sind gute, die Ausführung ist, zumal wenn man eingearbeitet ist, eine leichte.

W. Autenrieth u. A. Funk[3]) fanden, was ich eben sagte, daß das Reinigungsverfahren nach Maillard das beste ist und daß damit eine klare und rein blaue verdünnte Indigosulfosäure lösung erhalten wird. Sie verfuhren nach dem Verfahren von Imabuchi (S. 376).

Ausführung.

Von normalem, sauer reagierendem oder mit Essigsäure schwach angesäuertem Harne werden 300 ccm (von einem bei der Vorprobe als sehr indicanreich befundenen Harne werden kleinere Harnquantitäten, bis zu 50 oder 25 ccm abgemessen) mit $^1/_{10}$ Volumen einer 20%igen Bleizuckerlösung allmählich versetzt, vom klaren Filtrate 250 ccm in einem Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen des Obermayerschen Reagens zusammengebracht und 5—10 Minuten stehen gelassen; man gibt 30 ccm Chloroform hinzu und schüttelt das Gemisch (jedesmal etwa 1 Minute) so oft mit immer erneuten Chloroformmengen aus, bis das Chloroformextrakt sich farblos zeigt; gewöhnlich genügen 2—3 Ausschüttelungen. Die gesammelten Chloroformlösungen behandelt man 2—3mal mit reinem Wasser und reinigt die Chloroformlösung durch Schütteln mit sehr verdünnter Natronlauge (1 : 1000). Zur Beseitigung von Spuren von Alkali wird die Indigochloroformlösung mit reinem Wasser gewaschen (Ausschütteln). Aus der durch etwas Asbest filtrierten Chloroformlösung (— wenn man durch ein Papierfilterchen filtriert, schlägt man nach dem Filtrieren die Filterränder nach innen um und wäscht mit Chloroform aus —) wird das Chloroform durch Destillation entfernt, der Rückstand wird einige Minuten auf dem Wasserbade, um alle Chloroformdämpfe zu entfernen, getrocknet und dann mit etwa 10 ccm reiner konz. Schwefelsäure auf dem kochenden Wasserbade etwa 10 Minuten erwärmt. Nach erfolgter vollständiger Lösung des Indigos gibt man die Schwefelsäurelösung zu einer größeren Menge Wasser vorsichtig hinzu und führt die Titration mit der, wie angegeben, stark verdünnten $^n/_{400}$ Permanganatlösung aus. (Eine etwaige flockige braune Ausscheidung der Lösung in Schwefelsäure filtriert man ab, wäscht das Filter mit heißem Wasser aus und titriert das Filtrat.) Die Titration ist beendet, wenn die grünlich gewordene Färbung verschwunden und die Flüssigkeit gelblich bis ganz farblos geworden ist.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **42.** 236.
[2]) Ebenda. 1905. **44.** 320.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 764.

Die Indigoschwefelsäurelösung soll so weit verdünnt werden, daß sie schön blau, durchsichtig aussieht.

Beispiel.

Permanganatlösung = etwa 3 g im Liter.
1 ccm = 0,00596 g Oxalsäure,
1 ccm = 0,0062 g Indigo.

Von der verdünnten Permanganatlösung (5 : 195) entspricht demnach 1 ccm = 0,000155 g Indigo. Der isolierte Indigo verbraucht beim Titrieren 4,3 ccm Permanganat = 0,00065 g Indigo. Verwendet wurden 250 ccm Filtrat (von den angewendeten 300 ccm Harn + 25 ccm Bleizuckerlösung).

$250 : 0{,}00065 = 325 : x$

$x = 1{,}3 \,.\, 0{,}00065 = 0{,}000845$ g Indigo in 300 ccm Harn, in der Tagesmenge von 1780 ccm also 0,005 g Indigo.

Nach den von Ellinger gemachten Erfahrungen — Verluste beim Reinigen usw. — soll $^1/_6$ der bei der Titration ermittelten Indigomenge dieser zugezählt werden.

T. Imabuchi[1]) gibt folgendes Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Harnindicans, das dem Prinzip nach dem von E. Salkowski[2]) empfohlenen gleicht, an. Der Harn wird mit $^1/_{10}$ Volumen Liquor Ferri subacetici gefällt; alkalisch reagierender Harn ist vorher mit Essigsäure schwach anzusäuern. 50 ccm des Harnfiltrates werden in einem Schütteltrichter mit 1—2 ccm Kupfersulfatlösung (1 : 10) und mit 50 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 versetzt; stark indicanreicher Harn muß mit Wasser derartig verdünnt werden, bis der Indigogehalt in 50 ccm Harnfiltrat weniger als 5 ccm Chamäleonlösung zur Titration verbraucht. Der Inhalt des Scheidetrichters wird nach 5—10 Minuten mit 50 ccm Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform abgelassen und die Ausschüttelung noch 3—4mal mit je 20 ccm Chloroform wiederholt. Die vereinigten Chloroformlösungen werden filtriert, das Chloroform wird abdestilliert (Wasserbad) und der Rückstand auf dem Wasserbade noch etwa 5 Minuten lang getrocknet. Der trockene Rückstand wird 3—4mal mit heißem Wasser ausgewaschen; das letzte Waschwasser soll Chamäleonlösung nicht mehr entfärben. Der gereinigte Indigo wird nach dem Abgießen des Wassers mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und nach dem Verdünnen mit etwa 100 ccm destillierten Wassers mit Chamäleonlösung titriert. Es wird eine $^1/_{400}$ n-Chamäleonlösung empfohlen, von der 1 ccm = 0,155 mg Indigo entspricht.

Beurteilung.

Sofortiges Ausschütteln mit Chloroform nach dem Zusatze des Obermayerschen Reagens soll etwas höhere oder zu hohe Indigowerte geben. Kupfersulfat wird dem Eisenchlorid vorgezogen. Nach Imabuchi genügt das Auswaschen des abgeschiedenen Indigos mit heißem Wasser; das Behandeln mit Lauge nach Maillard wäre nicht notwendig.

Folin verwendet auch Kupfersulfat und vergleicht die Farbe des Chloroforms mit Fehlingscher Lösung.

2. Indicanbestimmung nach J. Bouma.[3])

Prinzip.

Das im Harne vorhandene Indoxyl wird durch Isatinsalzsäure in Indigorot umgewandelt.

Erforderliche Lösungen.

1. Eine Isatinsalzsäurelösung. 20 mg reinstes Isatin Merck wird in einem Liter chemisch reiner, vollkommen eisenfreier konzentrierter Salzsäure — 1,19 D — gelöst. Das Reagens muß jeden Monat frisch bereitet werden.
2. Eine Permanganatlösung; man verwendet sie — Bouma macht keine weiteren Angaben — in der Stärke, wie angegeben; sie darf nicht verdünnter als 1 : 20000 sein.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **60.** 502.
[2]) Ebenda. 1908. **57.** 520.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 82; 1903. **39.** 356.

3. Die Einstellung der Permanganatlösung erfolgt nicht durch Oxalsäurelösung, sondern mit reinem synthetischem Indigorot der Badischen Anilin- und Sodafabrik in konz. Schwefelsäure. Das Indigorot wird genau abgewogen.

1 ccm der Permanganatlösung soll etwa 0,2 mg Indigo entsprechen.

Ausführung.

Den Indicangehalt eines Harnes kann man durch eine Vorprüfung mit Isatinsalzsäure auf colorimetrischem Wege annähernd feststellen. Man kocht das gleiche Volumen Harn und Reagens, je 5 ccm und schüttelt mit 2 ccm Chloroform aus. Dieses färbt sich bei indicanarmem Harne leicht rosarot, bei leichter Indicanurie schön purpurrot und bei indicanreichem Harne intensiv dunkel weinrot.

Im letzteren Falle wird man kleinere Harnmengen, 25—50 ccm, anwenden, außerdem nimmt man 300 ccm in Arbeit. Diese 300 ccm werden mit 30 ccm Bleiessig gefällt, ein abgemessener Teil des Filtrates (ich nehme 275 ccm = 250 ccm ursprünglichen Harnes) wird mit dem gleichen Volumen der Isatinsalzsäure versetzt und eine Viertelstunde auf dem kochenden Wasserbade erhitzt; nach dem Abkühlen wird die Flüssigkeit im Scheidetrichter, wie bei 1 angegeben, 3 mal mit je 30 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroformextrakt läßt man einige Minuten ruhig stehen, damit sich die Tröpfchen mechanisch mitgeführten Harnes an der Schale absetzen; die Lösung wird vorsichtig abgegossen, das Chloroform abdestilliert und der 2 Stunden lang bei 110° C getrocknete Rückstand zur vollkommenen Entfernung des im Überschusse vorhandenen Isatins, da dieses auch Chamäleon verbrauchen würde, einige Male mit heißem Wasser gewaschen. Der trockene Rückstand wird mit Schwefelsäure versetzt und mit Chamäleon titriert. Es wird sich auch hier die bei 1. angegebene Behandlungsweise empfehlen. Vor allem muß die Salzsäure vollkommen entfernt sein, da sie bekanntlich bei der Titration mit Permanganat wesentliche Störungen verursacht.

Wegen der Titration bemerkt Bouma, daß bei dieser der Verdünnungsgrad von 1 Indigorotdisulfosäure: 20,000 nicht überschritten werden darf, da man sonst zuviel Chamäleon verbraucht. (Ein größerer oder geringerer Indicangehalt wird aber durch die Vorprobe erkannt und berücksichtigt.) Weiter müssen die Titrierflüssigkeiten ganz klar sein, auch muß man mit dem Filtrieren vorsichtig sein, da das Filtrierpapier Farbstoffe zurückhalten kann (ich filtriere durch Asbest). Wenn die Flüssigkeit beim Titrieren eine braune Nuance annimmt (fein verteiltes Mangandioxyd), dann gibt man etwas starke Schwefelsäure hinzu.

Nach diesem Verfahren bekommt man natürlich doppelt soviel Indigorot, als dem Harnindigo entspricht, da ja die Hälfte des Indigomoleküls vom Isatin geliefert wird. Es ist also die Hälfte von dem gefundenen Werte in Rechnung zu stellen. Die Berechnung ist eine einfache, da der Wirkungswert der Permanganatlösung mit einer genau bekannten Indigomenge festgestellt wird.

Beurteilung.

Das Fällen des Harnes mit Bleiessig ist, wie bei dem Obermayerschen Verfahren, so auch hier von großer Wichtigkeit bei der titrimetrischen Bestimmung, da störende und reduzierende Stoffe dadurch entfernt werden.

3. Bei größerem Indicangehalte kann man die Chloroformlösung auf einem Uhrglase verdunsten und den Rückstand nach dem Trocknen bei 100° wägen.

4. Bestimmungsmethoden des Harnindicans für klinische Zwecke.

Die eben unter 1. und 2. angeführten beiden Methoden, die gute Resultate geben, können selbstverständlich nur im Laboratorium vorgenommen werden; auch sind sie etwas zeitraubend. Eine klinische Bestimmungsmethode muß, um praktisch verwertbar und verwendbar zu sein, einfach, schnell ausführbar und dabei doch annähernd genau sein.

Von den vielen das gleiche Prinzip — eine colorimetrische Bestimmung des Indicans — verfolgenden Verfahren möchte ich die beiden nachstehend aufgeführten, sowie die von Autenrieth und Funk angegebenen als die den gedachten Zweck am besten erfüllenden nennen und empfehlen.

a) Nach H. Strauss.[1])

Prinzip.

Die aus dem Harne gewonnene Indigolösung in Chloroform wird mit einer Vergleichslösung von Indigotin in Chloroform (1 mg: 1000 ccm), sogen. Testlösung (Teströhrchen) verglichen

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. **29.** 299; Schüttelröhrchen, Teströhrchen, Reagenzgläser sind bei P. Altmann, Berlin, Luisenstraße, zu haben.

und so lange mit Chloroform verdünnt, bis die Farbe mit der im Teströhrchen bei der Beobachtung gegen einen weißen Hintergrund übereinstimmt.

20 ccm Harn versetzt man mit 5 ccm einer 20%igen Bleizuckerlösung und füllt vom Filtrate 10 ccm = 8 ccm Harn in ein Schüttelröhrchen, das unten mit einem Glashahn, oben mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel verschlossen und bei 5, 10, 15, 20 und 25 ccm Inhalt graduiert ist. Zu den 10 ccm des Filtrates (bis zur Marke 10 des Schüttelröhrchens) bringt man 10 ccm des Obermayerschen Reagens (Marke 20) und 5 ccm Chloroform (Marke 25) und dreht das Röhrchen in Zeitabschnitten von etwa 2—3 Minuten, besser von 10 Minuten mehrmals um, ein kräftiges Umschütteln aber vermeidend. Die Chloroformlösung läßt man nach dem Absetzen ablaufen und wiederholt in der angegebenen Weise und Menge den Chloroformzusatz und das Ausschütteln, bis das Chloroform nicht mehr gefärbt wird. Von den in einem graduierten Zylinder vereinigten, gut durchgemischten Chloroformauszügen, die man in der bei 1. angegebenen Weise reinigen kann, bringt man mit der Pipette 2 ccm in ein Reagenzglas von gleicher Dicke des Glases und der gleichen Größe, wie das die Kontrolllösung (Testlösung) enthaltende Gläschen und verdünnt den Chloroformauszug (die 2 ccm) nun so lange mit genau gemessenen Mengen Chloroform, bis dadurch die Farbe auf die gleiche Intensität, wie im Teströhrchen gebracht ist; man betrachtet die Lösungen gegen einen weißen Hintergrund (weißes Papier). Beträgt die Gesamtmenge der Chloroformextrakte x ccm und die Menge des Chloroforms, das sich am Schluß der Verdünnung in dem zum Vergleiche mit dem Teströhrchen dienenden Reagenzglase befindet, y ccm, so erhält man als Zahl für die zur Erreichung der Testfarbe notwendige Chloroformmenge für das in der benutzten Harnmenge enthaltene Indigoblau $= x \cdot \frac{y}{2}$.

Dadurch, daß die Testlösung eine bekannte Menge chemisch reinen Indigotins (Kahlbaum, Merck) — 1 mg Indigotin auf 1000 ccm Chloroform — enthält, ist man imstande, den gesamten Indicangehalt eines innerhalb eines bestimmten Zeitraumes gelassenen Urins quantitativ in Milligrammen anzugeben, wenn man die in diesem Zeitraume entleerte Urinmenge der Berechnung zugrunde legt und beachtet, daß der bei der Untersuchung gewonnene Chloroformwert sich nicht auf 10 ccm, sondern auf 8 ccm Urin bezieht. Oder: Wurden zur Ausschüttelung der 8 ccm Harn x, zur Verdünnung der 2 ccm des Auszuges y ccm Chloroform verbraucht, so ist $x \cdot \frac{y}{2}$ der Chloroformwert, aus dem die Indigomenge leicht zu berechnen ist, wobei man in Betracht zu ziehen hat, daß die Testlösung 0,001 g chemisch reines Indigotin in 1000 ccm enthält und daß 8 ccm Harn zur Reaktion verwendet wurden.

$$1000 : 0{,}001 = x \cdot \frac{y}{2} : x.$$

Die Testlösung, das Teströhrchen, ist im Dunkeln zu verwahren.

Während der Indicangehalt normalen Urins meist schon mit der ersten oder zweiten Extraktion erschöpft war und einem Chloroformwerte von 5—10 ccm entsprach, wurden bei Fällen von tuberkulöser Peritonitis, bei akuter eitriger Peritonitis, bei Magencarcinom, Typhus Chloroformextraktwerte von 150, 120, 50—80 ccm gefunden.

b) Nach J. Bouma.[1])

Die Bestimmung beruht auf dem schon erwähnten Prinzipe. Bouma hat ein sog. Indicanurometer zusammengestellt, das aus elf in einer Reihe geordneten Reagenzröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wanddicke besteht. Sechs dieser Röhrchen enthalten eine Lösung von aus Harn bereitetem Indigorot in Chloroform von verschiedener Stärke, die der Reihe nach übereinstimmt mit einem Gehalte des Harnes an Indigo von 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg im Liter. Die Röhrchen sind zugeschmolzen und dienen als Vergleichslösungen; sie müssen im Dunkeln verwahrt werden. Man kann sich diese Vergleichsflüssigkeit selbst herstellen. Man isoliert nach Boumas Methode aus Harn das Indigorot oder verwendet solches synthetisch dargestelltes. Man löst davon 80 mg im Liter Chloroform und bewahrt diese Lösung in einer dunklen, wohlverschlossenen Flasche im Dunkeln auf. Beim Gebrauche pipettiert man von dieser Lösung in sechs Reagenzröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wandstärke 10, 7,5, 5, 3,75, 2,5 und 1,25 ccm und füllt die letzten fünf Röhrchen mit Chloroform zu 10 ccm auf. Man versieht am zweckmäßigsten die sechs Gläschen mit den Zahlen I—VI und mit entsprechenden Marken, so daß man sich das Abpipettieren ersparen kann. Man hat nun in den sechs Gläschen Lösungen, die einem Gehalte an Indigorot im Liter Harn zu 40 mg (I), 30 mg (II), 20 mg (III), 15 mg (IV), 10 mg (V) und 5 mg (VI) entsprechen, wobei bemerkt sein mag, daß in diesen sechs Röhrchen nicht der wirkliche Gehalt an Indigo, sondern nur die Hälfte angegeben ist, da wir ja nach dieser Methode doppelt so viel Indigorot bekommen, als dem Harnindigo entspricht, weil, wie schon erwähnt, die Hälfte des Indigomoleküls vom Isatin geliefert wird.

---

[1]) Siehe S. 376.

10 ccm Harn werden mit 2 ccm Bleiessig gefällt. Vom klaren Filtrate gibt man $5^1/_2$ ccm (= 5 ccm Harn) in ein passendes Reagenzglas und fügt 10 ccm Isatinsalzsäure hinzu. Man erhitzt bis zur Siedehitze und kocht noch einige Sekunden; man kühlt das Reagenzglas ab und schüttelt den Inhalt tüchtig mit 5 ccm Chloroform aus. Wird nun diese Chloroformlösung mit den 6 Lösungen verglichen und zeigt es mit einer dieser Lösungen gleiche Farbenintensität, so wird uns angezeigt, daß der untersuchte Harn so viel Indican enthält, als dem im betreffenden Gläschen vorhandenen bekannten Gehalte entspricht und wir erfahren unmittelbar die in einem Liter des untersuchten Harnes vorhandene Indicanmenge; z. B. es stimmt die Chloroformlösung an Farbenintensität mit der Lösung im Glase III zusammen; wir wissen dann, daß in 1 Liter des untersuchten Harnes 20 mg Indican vorhanden sind.

Man kann selbstverständlich mit einem Teströhrchen und Verdünnen der Chloroformlösung, wie bei a) angegeben, auch hier den Indicangehalt bestimmen.

Nach weiteren Untersuchungen von J. Bouma[1]) kann es hie und da vorkommen, daß die Farbe des Chloroformextraktes nicht rein rot, sondern offenbar infolge der Anwesenheit oxydierender Substanzen durch Bildung von Indigoblau violett oder blau ist; dadurch wird der colorimetrische Vergleich mit der Standardlösung erschwert und ungenau. Diese Oxydation wird verhindert, wenn bei solchem Harne das nach der Bleiessigfällung erhaltene Filtrat zunächst 15 Minuten lang mit einem langsamen Strome von Schwefelwasserstoff behandelt wird. Das Filtrat vom Bleisulfid ist dann erst, wie angegeben, mit der Isatinsalzsäure zu kochen.

Beurteilung.

H. P. T. Oerum[2]) findet die Boumasche Methode als die eleganteste und beste. Nach den Auffassungen von Bouma, Maillard und Ellinger, daß die roten, durch Oxydation des Indoxyls auftretenden Farbstoffe so gut wie das Indigoblau zur Indigogruppe gezählt werden müssen, hat man nach Oerum die Indigorotmethode zu wählen.

Er empfiehlt die Benutzung des Meislingschen Polarisationspolarimeters, wobei die Anwendung von Farbstofflösungen (Teströhrchen) in Wegfall kommt.

c) Mit dem Kolorimeter Autenrieth-Königsberger. W. Autenrieth und J. Königsberger[3]), dann W. Autenrieth und A. Funk[4]) haben Verfahren ausgearbeitet; die genaue Gebrauchsanweisung zur Vornahme dieser kolorimetrischen Bestimmungen wird dem Kolorimeter beigegeben.

d) A. Jolles[5]) gründet auf den von ihm empfohlenen qualitativen Nachweis eine quantitative kolorimetrische Bestimmung. Die dort S. 373 angegebene Reaktion ist nach Jolles auf die Bildung des salzsauren Salzes einer Verbindung von cörulignonartiger Konstitution zurückzuführen und zwar des 4-Cymol-2 indolindolignons, die infolge der Oxydation aus 1 Mol. Indoxyl und 1 Mol. Thymol entsteht und rote, bei 218—220° schmelzende Krystalle darstellt.

5—10 ccm des mit $^1/_{10}$ seines Volumens an Bleiessig versetzten Harnes werden mit den entsprechenden Mengen alkoholischer Thymollösung und eisenchloridhaltiger Salzsäure versetzt, gut gemischt und 2 Stunden stehen gelassen (S. 373).

Man extrahiert die Harnflüssigkeit in der üblichen Weise mit Chloroform, bis die letzte Ausschüttelung farblos erscheint. Durch Schütteln mit destilliertem Wasser wird der Chloroformausschüttelung die Salzsäure entzogen, die Chloroformlösung wird mit Chloroform auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und der Gehalt an Indolignon kolorimetrisch bestimmt.

Als Standardlösungen verwendet man eine Lösung von 0,01 g 4-Cymol-2-indolindolignon in 100 ccm Chloroform, die gut haltbar ist und zu einzelnen colorimetrischen Bestimmungen entsprechend verdünnt wird.

L. Montfet[6]) gibt zur Bestimmung des Indigos eine Methode an, die auf der Umwandlung des Indigos in Pikrinsäure beruht. 100 ccm Salzsäure, 100 ccm Harn und 100 ccm Wasser werden auf 50° erwärmt; man schüttelt diese Mischung mit 40—50 ccm Chloroform aus, dampft das Extrakt ein und kocht mit 10%iger Salpetersäure. Die entstandene Pikrinsäure wird mit Pottasche versetzt und mit einer Kaliumpikratlösung von bekanntem Gehalte colorimetrisch verglichen. 140 T. Indigotin = 100 T. Pikrinsäure.

Die verschiedenen zur quantitativen Bestimmung des Harnindicans angegebenen Verfahren sind von O. Sammet[7]) besprochen worden.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. **28.** 705.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **45.** 459.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1910. **57.** 1001.
[4]) Ebenda. 1912. **59.** 689.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1915. **94.** 79; Biochem. Zeitschr. 1915. **68.** 347.
[6]) Compt. rend. soc. biolog. 1903. **55.** 1251; Zeitschr. analyt. Chem. 1904. **43.** 658.
[7]) Pharm. Zentralh. 1913. **53.** 581.

Eigenschaften des Indols.

Das Indol krystallisiert aus heißer wässeriger Lösung, besser und schöner aus Ligroin, in Blättchen, die bei 52° schmelzen und die leicht in heißem, schwerer in kaltem Wasser löslich sind. Wird Indol in hochsiedendem Ligroin im Wasserbade gelöst und wird diese Lösung mit einer Lösung von Pikrinsäure in Benzol versetzt, so scheidet sich Indolpikrat in prächtigen roten Nadeln aus; aus dieser Verbindung kann durch Kochen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdämpfen (am besten nach Zusatz von etwas Ammoniak) Indol im Destillate erhalten werden.

Nachweis.

1. Die wässerige Indollösung wird mit Salpetersäure und einigen Tropfen sehr verdünnter Kaliumnitritlösung (0,02) versetzt sehr schön rot (salpetersaures Nitrosoindol); der Farbstoff ist in Alkohol löslich und krystallisiert nach Ätherzusatz aus (Baeyer).
2. Indollösung mit Nitroprussidnatrium bis zur Gelbfärbung versetzt, wird nach tropfenweisem Zusatze von Natronlauge violett, nach vorsichtigem Zusatze von verdünnter Salzsäure oder von Eisessig schön blau.
3. Ein in starke Salzsäure getauchter Fichtenspan färbt sich, in wässerige Indollösung gebracht, kirschrot (Baeyer).

Eigenschaften des Indoxyls.

Beim Behandeln der Indoxylschwefelsäure mit Salzsäure oder durch Erhitzen von Indigoblau mit ganz konzentriertem Kali wird das Indoxyl als braunes stinkendes Öl erhalten; dieses ist wenig beständig und scheidet bei Luftabschluß schnell und reichlich Indigo ab. In alkalischer Lösung vereinigt sich das Indoxyl mit Isatin nach Natriumcarbonatzusatz zu Indigorot (Indirubin). Im krystallinischen Zustande wurde das Indoxyl von D. Vorländer und B. Drescher[1]) dargestellt; es bildet gelbe flache Prismen vom Schmelzpunkte 85°; es löst sich in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Eisessig, Benzol, leicht in Aceton, wenig in Petroläther. Die wässerige Lösung fluoresciert. Die Fluorescenz verschwindet auf Zusatz von Kalilauge oder Salzsäure im Überschuß, nicht von Sodalösung. Indoxyl ist durch seine leichte Oxydierbarkeit ausgezeichnet, worauf sein Nachweis beruht. Beim Erwärmen von Indoxyl in konzentrierter Kalilösung mit pyroschwefelsaurem Kali erhält man das indoxylschwefelsaure Kali in blendend weißen Tafeln, die in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich sind. Wird das Indoxyl schnell erhitzt, sublimiert Indigo; bei Luftabschluß erhitzt, wird das Indoxyl zu einem braunen Körper, Indoxylrot, umgewandelt.

Eigenschaften des Indigoblaus.

Das Indigoblau bildet ein dunkelblaues, amorphes Pulver oder mikroskopisch zu erkennende Krystalle; aus dem Harne setzt es sich sogar manchmal

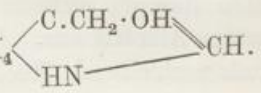
[1]) Berl. Bericht. 1901. **34.** 1856; 1902. **35.** 1701.

in Nadeln ab; in dicken Massen zeigt es kupferroten Metallglanz und sublimiert mit violettem, jodähnlichem Dampf, der sich im Röhrchen an den kälteren Stellen in rhombischen Krystallen absetzt.

Das Indigoblau ist unlöslich in Wasser, wenig löslich in heißem Alkohol und in Äther, leicht löslich in Chloroform. In der Wärme ist es in fetten Ölen, Benzol, Phenol löslich, auch in kalter Schwefelsäure löst sich das Indigoblau auf.

Durch Reduktionsmittel (Zinnchlorür, Natronlauge und Eisenvitriol usw.) geht das Indigoblau in Indigweiß über; die Lösungen des Indigos in Chloroform und in Schwefelsäure zeigen einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*, bei konzentrierten Lösungen über *D* noch hinausgehend.

Die rote Substanz, die in Chloroform löslich ist und im Harne an der Luft unter Einwirkung von Salzsäure sich bildet, ist Indirubin; dieses löst sich im Chloroformextrakte nicht mehr in Wasser; nach den Untersuchungen von L. C. Maillard[1]) entsteht dieses aus den Indoxylderivaten bei langsamer, das Indigoblau bei augenblicklicher Oxydation.

F. Skatol, Skatoxyl. C_9H_9NO oder 

Nach den eingehenden Untersuchungen von L. C. Maillard[1]) ist im Harne kein Farbstoff vorhanden, der die sogenannte Skatoxylgruppe enthält, z. B. Skatoxylschwefelsäure (Skatoxylglykuronsäure); Maillard hat auch gezeigt, daß ein solches mit Indoxyl homologe Skatoxyl mit der bekannten Struktur der ganzen Indolgruppe unvereinbar wäre.

J. Ph. Staal[2]) konnte die Ansicht Maillards bestätigen. Indigorot und das sogenannte Skatolrot sind nicht identisch; letzteres ist kein Skatolderivat im chemischen Sinne des Wortes, sondern ist vielmehr identisch mit dem Urorosein (s. d.) von Nencki und Sieber. Das Chromogen des sog. Skatolrotes im normalen Menschenharne ist keine gepaarte Schwefelsäure oder Glykuronsäure.

Die Meinung, daß reichliche Mengen von Skatoxyl im Harne enthalten sind, wenn bei der sog. Indicanprobe eine violette Chloroformlösung entsteht, oder wenn die Harne nach Zusatz von Salzsäure allein dunkelrot bis violett, nach Zusatz von Salpetersäure kirschrot und beim Stehen an der Luft von der Oberfläche aus rotviolett bis schwarz sich färben, ist als richtig noch nicht erwiesen. Diese Färbung soll durch anderweitige Farbstoffchromogene veranlaßt werden. Daß Derivate des Skatols im Harne vorkommen werden, ist ja nicht ausgeschlossen.

---

[1]) Chem. Ztg. 1901. **25.** 415 u. L'indoxyle urinaire et les couleurs qui en dérivent. Paris 1903. Schleicher Frères u. Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 514.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 236.

29. Indolessigsäure. (Indol-Pr[1])-3-essigsäure.)

$C_{10}H_9NO_2$ oder $C_6H_4\begin{cases}C\cdot CH_3\\NH\end{cases}C\cdot COOH$.

Die von E. und H. Salkowski[2]) bei ihren Studien über Eiweißfäulnis entdeckte, von A. Ellinger[3]) synthetisch hergestellte Säure wurde früher Skatolcarbonsäure bezeichnet, wohl weil sie sich beim Erhitzen in Kohlensäure und Skatol zersetzt. E. Salkowski gewann aus menschlichem Harne eine Säure, die nach den Reaktionen Indolessigsäure sein könnte; C. A. Herter[4]) gelang es, aus dem Harne eines 7jährigen Kindes mit Verdauungsstörungen und mit einer abnormen Bakterienflora, darunter mit solchen, die auch in Traubenzucker-Bouillonkultur Indolessigsäure bildeten (Bac. bifidus comm. Tissier) die Säure rein darzustellen. Die Indolessigsäure ist jedenfalls das Chromogen des Farbstoffes Urorosein. F. Blumenthal hat „Skatolcarbonsäure" bei Magen- und Darmkarzinomen im Harne vorgefunden.

Darstellung.

Man dampft mehrere Liter Harn ein und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus. Der nach dem Verdunsten oder Abdestillieren des Alkohols verbleibende Rückstand wird in etwas Wasser gelöst und nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherlösung wird durch Schütteln mit einer Sodalösung die „Skatolcarbonsäure" entzogen, die alkalische Lösung wird eingedampft und der Rückstand wiederholt mit absolutem Alkohol extrahiert, worauf man die bis zu etwa 100 ccm konzentrierte alkoholische Lösung mit Äther fällt. Die vom Niederschlage getrennte Lösung verdunstet man, zieht den Rückstand nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Äther aus, destilliert den Äther ab und löst den Rückstand in Wasser. Die filtrierte Lösung dampft man zur Entfernung der Reste von Salzsäure nochmals ein und nimmt die wässerige Lösung dieses Rückstandes zu den Reaktionen.

Den Ätherrückstand krystallisiert man zweckmäßig, um die Säure rein zu erhalten, mehrmals mit heißem Benzol um.

Nachweis.

1. Mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure (1,2 spez. Gewicht) und wenigen Tropfen 2%iger Kaliumnitritlösung (kein Überschuß!) gibt die wässerige Lösung eine schöne kirschrote Färbung unter Abscheidung eines roten Farbstoffes (Urorosein), der nur von Essigäther oder Amylalkohol vollkommen gelöst und aufgenommen wird, wobei die Lösung, spektroskopisch betrachtet,

[1]) Pr = Pyrrolring.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1885. **9.** 28.
[3]) Berl. Bericht. 1904. **37.** 1805.
[4]) Journ. of biol. Chem. 1908. **4.** 238. 253.

einen Streifen im Grün zeigt. Durch Natronlauge wird der Farbstoff aus der Lösung in Essigäther mit gelber Farbe entzogen, nach dem Ansäuern geht der wieder rot gewordene Farbstoff abermals in Essigäther über. Dieser Farbstoff wird durch Zinkstaub und verdünnte Natronlauge dauernd entfärbt zum Unterschiede von Nitrosoindol, das nach dieser Reduktion an der Luft blau wird.

2. Mit dem gleichen Volumen Salzsäure (1,12 spez. Gewicht) und mit einigen Tropfen einer etwa 1%igen Chlorkalklösung versetzt, färbt sich die Lösung der Indolessigsäure allmählich purpurrot unter Abscheidung eines gleichgefärbten, in Alkohol löslichen, in Essigäther fast unlöslichen Niederschlages.
3. Versetzt man die wässerige Lösung der Säure mit einigen Tropfen Salzsäure und mit zwei bis drei Tropfen einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung, so färbt sich die Lösung beim Erhitzen intensiv violett-kirschrot.

Eigenschaften.

Die farb- und geruchlose Säure krystallisiert aus Benzol in Blättchen, bei 164° schmelzend, sie ist wenig löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und in Äther, auch in heißem Benzol. Unreine Lösungen zersetzen sich leicht beim Eindampfen; über 164° erhitzt, zerfällt die Säure in Kohlensäure und Skatol, das sublimiert.

30. Benzoesäure. $C_6H_5 \cdot COOH$.

Die Benzoesäure ist einige Male im Harne neben Hippursäure gefunden worden und ist als ein Zersetzungsprodukt dieser aufzufassen, zumal da man im gefaulten Harne statt der Hippursäure stets Benzoesäure findet; die Benzoesäure wird im Körper in Hippursäure übergeführt, doch soll nach anderen Versuchen unter gewissen Umständen nicht nur die eingeführte Benzoesäure als solche abgeschieden, sondern die eingenommene Hippursäure sogar in Benzoesäure umgewandelt werden. Bemerkenswert ist, daß bei Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren auch stets Benzoesäure vorhanden ist.

Darstellung.

Man gewinnt die Benzoesäure wie die Hippursäure; von letzterer kann man sie durch frisch destillierten Petroläther trennen, in dem sich die Benzoesäure löst, die Hippursäure dagegen nicht.

Nachweis.

1. Beim Verdampfen mit etwas Salpetersäure entwickelt sich der Geruch nach Nitrobenzol. (Lückesche Reaktion).
2. Mit alkalischer Natriumhypobromitlösung gibt sie im Gegensatze zur Hippursäure keinen kermesfarbenen Niederschlag (Denigès); Hippursäure sublimiert nicht.

3. Beim Erhitzen einer Spur Benzoesäure mit einigen Tropfen Alkohol und einem Tropfen konz. Schwefelsäure tritt der aromatische Geruch des Benzoesäure-Äthylesters auf, besonders deutlich nach Zusatz von Wasser und nochmaligem Erhitzen.

Eigenschaften.

Sublimiert bildet die Benzoesäure farblose, glänzende Nadeln, aus ihren Salzen abgeschieden Schuppen, schmale Säulen. Reine Benzoesäure schmilzt bei 121—122°.

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

31. Hippursäure. $C_9H_9NO_3$ oder $CH_2\begin{cases}NH\cdot C_7H_5O\\COOH\end{cases}$.

Die Hippursäure, Benzoylglykokoll oder Benzoylaminoessigsäure findet sich im normalen Harne besonders reichlich nach Genuß von Obst, von Heidelbeeren, Erdbeeren, Preißelbeeren, auch nach Einnehmen von Benzoesäure, Chinasäure, Salicylsäure und Zimtsäure, die in Hippursäure umgewandelt werden. Pflanzenfresser scheiden reichliche Mengen aus, durch die aromatischen Substanzen der Nahrung bedingt. Vermehrt ist sie bei der Darmfäulnis, bei intensiver Darmgärung, im Fieber; die Muttersubstanz bilden hier möglicherweise die aromatischen Bestandteile des Eiweißes (vielleicht des Phenylanalins); die bei der Gärung gebildeten Benzolderivate werden, wie schon erwähnt, teils durch Oxydation und Paarung mit Schwefelsäure oder Glykuronsäure, aber auch noch durch weitergehende Oxydation in Benzoeäure bzw. substituierte Benzoesäuren unschädlich gemacht, die wieder mit Glykokoll gepaart Hippursäure bilden. Sie kommt zu 0,1—1,0 g je nach der Nahrung in der Tagesmenge Harn vor. Nach reichlichem Genusse von Gemüse, Obst kann sie auf mehr als 2 g ansteigen. Auch in Sedimenten findet sich die Hippursäure, wenn auch selten, so bei Diabetes, bei Ikterus, bei Leberkrankheiten.

Darstellung.

Die Isolierung ist für den Nachweis und die Bestimmung der Hippursäure erforderlich; mit dieser Herstellung kann auch die quantitative Bestimmung verbunden werden. Es muß möglichst frischer Harn genommen werden, da bei der Einwirkung von gewissen Bakterien sich die gleiche Zersetzung vollzieht, wie beim Kochen der Hippursäure mit Säuren, es tritt eine Spaltung in Glykokoll und Benzoesäure ein.

1. Man macht den Harn (etwa 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 hippursauren Natrons mit Schwefelsäure angesäuert und

wiederholt (etwa 5mal) mit Essigäther ausgeschüttelt. (G. Rem-Picci[1]) empfiehlt, den Harn mit Bariumchlorid und Barythydrat auszufällen und das mit Salzsäure angesäuerte Filtrat ebenfalls mit Essigäther zu extrahieren. Weitere Behandlung, wie folgt.) Der abgehobene Essigäther wird im Scheidetrichter mit wenig Wasser oder besser mit Kochsalzlösung ausgeschüttelt, der Essigäther vorsichtig bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur unter Vermeidung saurer Reaktion abdestilliert, dann ganz verjagt und der Rückstand zur Entfernung von Benzoesäure, Phenol, Fett usw. mehrere Male mit Petroläther behandelt, der die Hippursäure ungelöst zurückläßt. (Nach K. Spiro[2]) muß bei der Behandlung mit Petroläther der Rückstand völlig getrocknet sein, was man durch geschmolzenes Glaubersalz erreicht.) Diese wird in warmem Wasser gelöst, mit etwas Tierkohle entfärbt und bei 50° zur Krystallisation gebracht. Die Krystalle werden gesammelt und gewogen. (Methode nach G. Bunge und O. Schmiedeberg.)[3])

Die von V. Henriques und S. P. L. Sörensen angegebene Methode der Bestimmung wurde bereits bei der der Aminosäuren S. 149 ausführlich besprochen. Sie beruht darauf, daß die Hippursäure durch Kochen mit Salzsäure zerlegt und das Glykokoll nach der Formolmethode bestimmt wird. Es kann auch der Benzoesäuregehalt ermittelt werden.

2. H. Wiener[4]) und R. Cohn[5]) benützen zum Nachweise und zur Bestimmung die Spaltbarkeit der Hippursäure durch Natronlauge in Benzoesäure. Der eingedampfte Harn wird 3mal mit kochendem Alkohol extrahiert, dieser abfiltriert und das Filtrat vom Alkohol vollständig befreit. Der mit recht wenig Wasser aufgenommene Rückstand wird im Scheidetrichter nach dem Abkühlen und nach dem Ansäuern mit konz. Salzsäure 4mal mit größeren Mengen Äther ausgeschüttelt. Der Äther mit der darin gelösten und suspendiert enthaltenen Hippursäure wird nach dem Absetzen der letzteren filtriert (durch Asbest, Spaeth), die ausgeschiedene Hippursäure nachgewaschen und der Äther in dem die abgeschiedene Hippursäure enthaltenden Erlenmeyerkolben abdestilliert. Dieser Rückstand mit dem Asbestfilter wird nun 4mal mit größeren Mengen leichtsiedenden Petroläthers am Rückflußkühler ausgekocht und so die freie vorhandene Benzoesäure entfernt. Der verbliebene salzsaure wässerige Rückstand von der Ätherausschüttelung wird zu dem von der Petrolätherbehandlung in den Erlenmeyerkolben gebracht, der Äther durch Erwärmen verjagt und nach dem Zusatze der mindestens 3fachen Menge konz. Salzsäure zur Spaltung der Hippursäure 5 Stunden auf dem Sandbade erhitzt. Man kühlt ab, schüttelt die gebildete, manchmal zum Teil schon ausgeschiedene Benzoesäure 4mal mit Äther aus, destilliert Äther sowie Petroläther (s. oben) im gewogenen Kölbchen ab, trocknet im Exsiccator und wägt die gebundene, wie die freie vorhandene Benzoesäure.

3. Löbisch verfährt nach Cazeneuve und dampft den Harn ein, versetzt mit Essigsäure (5 ccm) und gibt dann so viel Gipspulver hinzu, bis die ganze Masse feinpulverig geworden ist; die Masse extrahiert man in einer sog Papierpatrone mit Äther im Soxhletschen Apparat. Man erhält ein nur schwach gefärbtes Ätherextrakt, das man, wie angegeben, weiter behandelt.

Ein ähnliches Verfahren gibt O. Völker an unter Verwendung von Natriumphosphat.

H. D. Dakin[6]) beschreibt eine dem Verfahren von Bunge und Schmiedeberg ziemlich ähnliche Methode des Nachweises.

4. O. Folin und F. F. Flanders[7]) bestimmen die aus der Hippursäure gewonnene Benzoesäure.

100 ccm Harn werden mit 10 ccm 5%iger Natronlauge versetzt und auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Mit 25 ccm Wasser und 25 ccm konz. Salpetersäure bringt man den Rückstand in einen Kolben mit Rückflußkühler und kocht $4^1/_2$ Stunden lang unter Zusatz von 0,2 g Kupfernitrat, um Farbstoffe und dergl. zu zerstören; man schüttelt den auf 100 ccm gebrachten Kolbeninhalt nach dem Sättigen mit Ammoniumsulfat (etwa 55 g) in einem Scheidetrichter mehrmals mit reinem Chloroform aus, wäscht die vereinigten Chloroformauszüge mit

[1]) Archiv d. farmac. speriment. e scienc. affin. 1902. **1.** 7; Jahresber. Tierch. 1902. **32.** 316.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 174.
[3]) Archiv. exp. Patholog. Pharmakol. 1877. **6.** 235.
[4]) Archiv. exp. Patholog. Pharmakol. 1899. **40.** 313.
[5]) Festschrift für Jaffé, Braunschweig, Vieweg & Sohn. 1901. 319.
[6]) Journ. of biol. Chem. 1909. **7.** 103.
[7]) Journ of biol. Chem. 1912. 11. 257.

einer gesättigten, im Liter 0,5 g Salzsäure enthaltenden Natriumchloridlösung aus und titriert die in der Chloroformlösung enthaltene Benzoesäure mit $^n/_{10}$ Natriumalkoholatlösung und Phenolphthalein als Indikator.

Die Alkoholatlösung wird durch Auflösen von 2,3 g reinem Natrium in 1 Liter absolutem Alkohol hergestellt und auf eine Lösung von Benzoesäure in Chloroform eingestellt.

Verfahren, die auch auf der Überführung in Benzoesäure und der Bestimmung dieser beruhen, geben an Th. Hryntschak[1]), W. Wiechowski[2]), Y. Seo[3]), E. Filippi[4]), Th. Pfeifer, C. Bloch u. R. Riecke[5]).

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die Hippursäure krystallisiert in rhombischen, halbdurchsichtigen milchweißen Prismen, an den Enden in zwei oder vier Flächen auslaufend (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, in Benzol ist sie unlöslich. Sie schmilzt bei 187,5°.

Die Verbindungen der Hippursäure mit Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und Alkohol löslich, die Metallsalze schwer löslich. Kennzeichnend ist das isabellenfarbene hippursaure Eisenoxyd. Beim Kochen mit Säuren, Laugen oder bei längerem Erhitzen auf 170—180° zerfällt sie in Benzoesäure und Glykokoll, ebenso durch alkalische Harngärung (Micrococcus ureae) und durch viele Staphylo- und Streptokokken (Seo).

Nachweis.

1. Mit konzentrierter Salpetersäure gekocht und eingedampft, gibt der erhitzte Rückstand Nitrobenzolgeruch (Lücke).

Beurteilung.

Diese Reaktion geben allerdings auch die Benzoesäure und andere Säuren der aromatischen Reihe.

2. Erhitzt man etwas Hippursäure im Reagenzglase für sich, so schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit (Unterschied von Benzoesäure). Beim stärkeren Erhitzen sublimiert unter Rotfärbung (von der Zersetzung des Glykokolls herrührend) Benzoesäure, zuletzt tritt ein Geruch nach Blausäure auf.
3. Zur Erkennung sehr kleiner Mengen empfiehlt K. Spiro[6]) die Lactimidprobe.

   Die, wie unter 1. angegeben, gewonnene möglichst reine Hippursäure (ein Molekül) wird mit drei Molekülen Essigsäureanhydrid gelöst und ein Molekül vollkommen wasserfreies, geschmolzenes essigsaures Natrium dazugegeben. Setzt man nun ein Mol.-Gew. Benzaldehyd dazu und erwärmt eine halbe Stunde im Wasserbade, so färbt sich die Flüssigkeit gelblich bis dunkelgelb und erstarrt

---

[1]) Biochem. Zeitschr. 1912. **43.** 315.
[2]) Hofmeisters Beiträge. 1905. 7. 265.
[3]) Archiv exp. Patholog. Pharmak. 1908. **58.** 442.
[4]) Archiv Farmacolog. sperim. 1918. **26.** 243.
[5]) Mitt. d. landw. Inst. Univ. Breslau 1902. **2.** 273.
[6]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 174.

beim Abkühlen zu einem Krystallbrei aus netzartig durcheinander gelagerten oder wawellitähnlich angeordneten gelblichen Nädelchen, die durch Waschen mit Alkohol von Bittermandelöl befreit und durch Krystallisation aus heißem Alkohol und Benzol leicht gereinigt werden können. Es entsteht das Laktimid der Benzoylaminozimtsäure. Schmelzpunkt 165—166°.

4. Zum Nachweis im Harne direkt kann man nach W. M. Dehn einige ccm Harn mit soviel Natriumhypobromit versetzen, als nötig ist zur Zersetzung des Harnstoffes und zur bleibenden Gelbfärbung der Mischung. Beim Erhitzen zum Sieden entsteht ein orangefarbener oder braunroter Niederschlag, bei Spuren nur eine schwach rote Färbung.

32. Phenacetursäure. (Phenyl-acetyl-glycin.)

$C_{10}H_{11}NO_3$ oder $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH$.

Diese Säure ist regelmäßig im Pferdeharn vorhanden. Zeitweilig soll sie im Harne des Menschen vorkommen; sie entsteht im Organismus durch Paarung aus der bei der Fäulnis von Eiweiß im Darm (Bakterienwirkung) entstehenden Phenylessigsäure mit Glykokoll. Die Phenacetursäure ist schwer von der Hippursäure zu trennen; auch kommt sie wohl selten im Harne in einer solchen Menge vor, daß sie mit Sicherheit isoliert werden könnte.

Eine Bestimmung der Benzoesäure, Hippursäure und Phenacetursäure im Harne gibt H. Steenbock[1]) an.

Eigenschaften.

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

33. *Gallensäuren* (s. diese).

34. Aromatische Oxysäuren.

Sie entstehen zum größten Teile bei der bakteriellen Zersetzung von Eiweiß, beim Abbau bestimmter Aminosäuren, Tyrosin, im Darm oder in den Geweben (Gewebszerfall); sie wurden von E. und H. Salkowski und E. Baumann im Harne aufgefunden. Die aromatischen Oxysäuren sind im allgemeinen entsprechend den Phenolen vermehrt. Sie werden gleich diesen entweder in der Leber durch ihre Verbindung mit Schwefelsäure entgiftet oder sie durchwandern als solche den Organismus. Doch kommt nur ein kleinerer Teil als Ätherschwefelsäure, also gepaart, der größere als freie Säure vor. Im normalen Harne wurden die Paraoxyphenylessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure gefunden, die ungefähr zu 0,001—0,002% vorkommen; im phenolreichen pathologischen Harne (nach akuter Phosphorvergiftung) sind sie sehr vermehrt, ebenso nach F. Blumenthal im Fieber und bei starker Darmfäulnis.

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

[1]) Journ. of biol. Chem. 1912. **11.** 201.

A	B	C	D
Paraoxyphenylessigsäure. $C_6H_4<^{OH}_{CH_2\cdot COOH}$	Paraoxyphenylpropionsäure. Hydroparacumarsäure. $C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CH_2.COOH}$	Paraoxyphenylglykolsäure. Oxymandelsäure. $C_6H_4<^{OH}_{CH.(OH)COOH}$	Oxyhydroparacumarsäure. Paraoxyphenylmilchsäure. $C_6H_4<^{OH}_{C_2H_3(OH).COOH}$

Zur Darstellung dieser Oxysäuren (A—D) müssen große Mengen (50 Liter) Harn verwendet werden. Diese werden nach E. Baumann[1]) eingedampft, der Sirup wird mit Essigsäure stark angesäuert und einige Male mit Äther ausgezogen. Die Ätherauszüge werden zur Aufnahme der Oxysäuren mit Sodalösung ausgeschüttelt; die alkalische Lösung behandelt man nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure in der gleichen Weise mit Äther. Der abgehobene Äther wird abdestilliert, der Rückstand auf dem Wasserbade, um die Essigsäure möglichst zu entfernen, erwärmt, in wenig Wasser gelöst und die Lösung 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 Sirup, der meist nach einigen Tagen krystallinisch erstarrt. Noch besser kocht man den in Wasser gelösten Sirup mit Bariumcarbonat und scheidet aus der Lösung der Barytsalze die Säuren ab; man krystallisiert die mit Filtrierpapier oder auf dem Tonteller behandelte Krystallmasse aus wenig Wasser um. Hiebei krystallisiert:

A	B	C	D
zuerst Paraoxyphenylessigsäure in langen, durchsichtigen Prismen aus, die durch Umkrystallisieren aus Benzol rein erhalten werden können. Schmelzpunkt 148°. Mit Eisenchlorid grauviolett. Gibt die Millonsche Reaktion. Aus der Mutterlauge von der Paraoxyphenylessigsäure gewinnt man	die Hydroparacumarsäure, indem man die Mutterlauge zur Trockne verdampft und den Rückstand mit Benzol auskocht; beim Erkalten scheidet sich die Hydroparacumarsäure aus. Gibt die Millonsche Reaktion. Prismen. Schmelzpunkt 125°. Mit Eisenchlorid deutlich blau.	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 Millonsche Reaktion. Seidenglänzende, lange Nadeln. Schmelzpunkt 162°. S. Seite 389.	Oxyhydroparacumarsäure. Seidenglänzende Nadeln. Schmelzpunkt 167—168°. 162—164° (Kotake). 170—171° (Schmitz).

Man kann auch in der getrockneten Krystallmasse die Säuren durch fraktionierte Krystallisation mit Benzol trennen; A krystallisiert beim Abkühlen der heißen Benzollösung, B beim Abdunsten des Benzols aus, C ist in Benzol unlöslich.

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

Nachweis im Harne.

100 ccm Harn werden nach dem Ansäuren mit Salzsäure in einem mit Kühler verbundenen Kolben zur Entfernung der Phenole gekocht, bis sich im Destillate keine Phenole mehr durch Millons 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 Rückstande stellt man die Millonsche Reaktion an; 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.

Y. Kotake empfahl, den auf dem Wasserbade eingedampften Harn mit heißem Alkohol auszuziehen, den Rückstand vom Auszug mit Wasser aufzunehmen, die Lösung mit Schwefelsäure anzusäuern und mit Äther auszuschütteln. Die nach dem Entfernen des Äthers zurückbleibenden Krystalle reinigt man durch Umkrystallisieren. Auf diese Weise isolierte Kotake die Oxyphenylmilchsäure aus dem Harne nach Phosphorvergiftung.

Nach O. Neubauer soll die bei akuter gelber Leberatrophie beobachtete Säure mit der l. p-Oxyphenylmilchsäure identisch sein.

p-Oxymandelsäure ist nach den von E. Baumann, A. Ellinger und Y. Kotake, K. Fromherz gemachten Erfahrungen als sicher vorhandene aromatische Oxysäure noch nicht festzustellen gewesen, vielleicht ist die von O. Schultzen u. L. Riess beobachtete, als Oxymandelsäure angesprochene Substanz die p-Oxyphenylmilchsäure.

E. Gallussäure. $C_7H_2\begin{cases}(OH)_3\\COOH\end{cases}$ ·1, 3, 4, 5.

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

S. Arzneien.

F. Alkaptonsäuren.

Mit diesem Namen hat man früher zwei Säuren, die Homogentisinsäure und die Uroleucinsäure bezeichnet, die allerdings selten im Harne vorkommen und diesem die dem sog. Zuckerharne zukommende Eigenschaft, Metallsalze (Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silberlösung) zu reduzieren, erteilen. Nach den Untersuchungen von A. E. Garrod, W. C. Hurtley,[1]), O. Neubauer und L. Flatow[2]) handelt es sich aber nur um die Ausscheidung einer Säure, der Homogentisinsäure. Zuerst wurde die eben erwähnte Eigenschaft eines Harnes von C. H. Detlev Boedeker[3]) im Harne eines Diabetikers aufgefunden; die Substanz, die dem Harne diese Eigenschaften verlieh, wurde von ihm Alkapton genannt. Die Ablenkung des polarisierten Lichtes, die Fähigkeit, mit Hefe zu gären,

[1]) Journ. of Physiolog. 1907. **36.** 136.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **52.** 357.
[3]) Zeitschr. rationell. Mediz. 1859. **5.** 3. Reihe 320. Ann. Chem. Pharm. 1861. **117.** 98.

besitzt die genannte Alkaptonsäure jedoch nicht, so daß ein diese enthaltender Harn mit Zuckerharnen nicht gut verwechselt werden kann; die Harne sind aber andererseits solchen, die Brenzkatechin, Hydrochinon oder Gallussäure enthalten, sehr ähnlich, um so mehr, da sie auch die Eigenschaft dieser teilen, nach Zusatz von Alkalien oder beim Alkalischwerden des Harnes an der Luft von obenher allmählich sich zu bräunen und sogar intensiv sich zu schwärzen[1]), sowie auch auf der Wäsche dunkelrote bis braune Flecke zu hinterlassen.

Die Menge der Homogentisinsäure kann in solchen Harnen, die bei Kindern, wie Erwachsenen, bei Gesunden und Kranken beobachtet wurden, manchmal 3—6 g und mehr in der täglichen Harnmenge betragen. (M. Wolkow und E. Baumann, W. Falta und L. Langstein, O. Neubauer.) O. Zimper beobachtete einmal 16,5 g, O. Gross und E. Allard fanden 16—18 g, O. Schumm fand sogar 18,6 g für die Tagesharnmenge.

Allgemeine Eigenschaften von Alkaptonharnen sind also:

1. Dunkelwerden an der Luft, besonders nach Alkalizusatz beim Schütteln.

   Alkaptonharne, wie eine Lösung von Homogentisinsäure nehmen nach Zusatz von Ammoniak beim Stehen an der Luft eine braune, manchmal eine intensive rotviolette Färbung an, von C. Th. Moerner[2]) als Alkaptochromreaktion (jedenfalls Übergang in Benzochinon-imid-essigsäure) bezeichnet; an der Färbung sollen zwei Farbstoffe, das α- und β-Alkaptochrom, beteiligt sein. $^1/_2$—2%ige Lösungen der Homogentisinsäure oder entsprechender Alkaptonurin werden mit Ammoniak versetzt, bis der Gehalt an Ammoniak 1—4% beträgt (also mit 10—40% des Volumens 10%igen Ammoniaks) und werden in Reagenzgläsern von 0,75—2,0 cm Durchmesser an der Luft 12—24 Stunden stehen gelassen.

   Die Bedingungen sind genau einzuhalten, Salze (starke Ammoniumsalze), Alkohol stören die Reaktion.
2. Reduktion von Fehlingscher Lösung schon in der Kälte, ebenso von neutraler und ammoniakalischer Silberlösung; Wismutoxyd wird bei Alkaligegenwart nur in konzentrierter Lösung der Säure und da nur schwach reduziert.
3. Optisch inaktiv; gären nicht mit Hefe.
4. Mit verdünntem Eisenchlorid entsteht eine rasch vorübergehende Blaufärbung (Bildung von Benzochinonessigsäure bzw. deren Chinhydron); die Blaufärbung verschwindet, es scheidet sich unter Trübung des Harnes Eisenphosphat aus; bei weiterem vorsichtigem Zusatz von Eisenchlorid entsteht abermals die Färbung, wenn noch reaktionsfähige Substanz vorhanden ist.

[1]) Nach A. E. Garrod ist der schwarze Harn, wohl Alkaptonharn, schon von G. A. Scribonius 1609 und von Zacutus Lusitanus 1649 erwähnt worden (bei E. Ebstein).

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **69.** 329. 354.

5. Mit Millonschem Reagens bildet sich ein citronengelber, beim Erwärmen ziegelrot werdender Niederschlag.

Als Ursache der Entstehung, als Muttersubstanzen der Homogentisinsäure, Dioxyphenylessigsäure, Hydrochinonessigsäure

$$C_8H_8O_4 \text{ oder } C_6H_3\begin{matrix}(OH_2)\\ \diagup\\ \diagdown\\ CH_2\cdot COOH\end{matrix}.$$

wurden das l-Tyrosin und l-Phenylalanin angenommen; Baumann und Wolkow[1]) glauben, daß im Darme vorhandene Bakterien die Ursache zur Bildung dieser Säure sind, höchstwahrscheinlich entsteht die Alkaptonsäure aber erst in den Geweben selbst, wofür die Beobachtungen von E. Abderhalden, B. Bloch und P. Rona sprechen. O. Neubauer und W. Falta[2]) sehen die Alkaptonurie als eine manchmal das ganze Leben lang dauernde Stoffwechselanomalie an, die darin besteht, daß die aus den Eiweißkörpern stammenden aromatischen Aminosäuren, Tyrosin und Phenylanalin, nicht, wie normalerweise, weiter abgebaut und vollständig verbrannt, sondern in Form der Diphenolsäure (Homogentisinsäure) ausgeschieden werden; der Abbau der Aminosäuren bleibt nach erfolgter Desamidierung und eingetretener Oxydation stehen. Nach H. D. Dakin[3]) wird diese Annahme, daß der Organismus die Fähigkeit zur Weiterverarbeitung der Homogentisinsäure verloren hat, durch Versuche nicht gestützt. Es scheint vielmehr, daß schon die bloße Bildung der Homogentisinsäure im Organismus als ein anormaler Vorgang, als eine Stoffwechselstörung, die öfters bei Männern als bei Weibern vorkommt, aufzufassen ist, bei der vielleicht die Fermente fehlen oder sich Bedingungen finden, unter denen sie ihre Wirkung nicht entfalten können. (Abderhalden.)

Man beobachtete das Vorkommen der Säure am häufigsten bei Kindern aus Verwandtenehen meist das ganze Leben hindurch.

Darstellung.

Der Harn wird am zweckmäßigsten nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure (75 ccm verdünnter Schwefelsäure 1 : 12 auf 1 Liter Harn) auf dem Wasserbade konzentriert (ungefähr auf den 10. Teil) und mehreremal (3—4mal) mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge werden vom Äther durch Abdestillieren desselben befreit; der sirupartige Rückstand, der bei längerem Stehen krystallinisch erstarren kann, wird in der 50 bis 60fachen Menge Wassers gelöst. Das Filtrat wird erhitzt, reichlich mit Bleiessig versetzt und heiß durch ein Faltenfilter filtriert. Beim Erkalten des Filtrates scheidet sich das Bleisalz der Homogentisinsäure in Nadeln und Prismen, zum Teil in großen Krystallen aus, die man nach 24stündigem Stehen abfiltriert und mit etwas kaltem Wasser auswäscht. Dieses Bleisalz schmilzt bei 214 bis 215° und enthält 9,08% Krystallwasser, das es bei 100° abgibt.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. **15.** 228.
[2]) Ebenda. 1904. **42.** 81.
[3]) Journ. of biolog. Chem. 1911. **9.** 151; Chem. Centralbl. 1911. **82.** I. 1550.

Um aus dem Bleisalze die freie Säure herzustellen, verreibt man dieses, verteilt es in Wasser und zersetzt es durch Schwefelwasserstoff. Nach dem Entfernen desselben durch Kochen dampft man auf dem Wasserbade ein und konzentriert die Lösung schließlich im Vakuum. Die freie Säure scheidet sich in großen Krystallen (Schmelzpunkt 146—147°) aus.

Nach E. Meyer[1]) stellt man zweckmäßig den Äthylester der Homogentisinsäure her. Der nach Zusatz von Schwefelsäure eingedampfte Harn wird mit Äther, dem etwas Alkohol zugesetzt ist, 3—4mal ausgeschüttelt, der Äther wird abdestilliert, der Rückstand mit Alkohol versetzt und in die Lösung Salzsäuregas eingeleitet. Die saure, mit Wasser stark verdünnte Flüssigkeit wird nach dem Neutralisieren mit Soda rasch mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand krystallisiert; man bringt die Krystallmasse auf einen Tonteller und krystallisiert unter Zusatz von etwas Tierkohle aus Wasser um. Der Schmelzpunkt des Esters liegt bei 119—120°.

O. Schumm[2]) verfährt einfacher in folgender Weise:

200 ccm Urin werden mit 30 ccm 25%iger Salzsäure auf dem Wasserbade auf 25—30 ccm eingedampft, der Rückstand wird mit 90—100 ccm Alkohol in einen Erlenmeyerkolben übergespült, mit 10 ccm rauchender Salzsäure versetzt und der Kolben auf ein lebhaft kochendes Wasserbad gestellt. Um das Verdunsten des Alkohols zu beschränken, setzt man auf den Kolben ein halbkugeliges Glas- oder Porzellanschälchen. Nach einstündigem Erhitzen wird der Kolbeninhalt mit etwa 300 ccm Wasser verdünnt, mit Soda schwach alkalisch gemacht und sogleich 3mal mit Portionen von je etwa 80 ccm Äther ausgeschüttelt. Der größte Teil des Äthers wird abdestilliert und der Rückstand auf dem Wasserbade erhitzt, bis der Rest des Äthers und der Alkohol verjagt sind. Der sirupöse Rückstand verwandelt sich nach einiger Zeit in einen Krystallbrei. Die Krystallisation tritt noch etwas rascher ein, wenn man das Gefäß in Eiswasser kühlt. Die Krystallmasse wird auf einem Tonteller abgepreßt und 1—2mal aus wenig Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert.

O. Adler erhielt in folgender Weise ein reines Produkt.

Der in mit verdünnter Schwefelsäure beschickten Sammelgefäßen aufgefangene Harn wird im Vakuum bei einem Drucke von 11 mm abgedampft; zur Vermeidung des Stoßens wird durch eine Capillare reiner Wasserstoff Blase für Blase eingeleitet, durch ein Zuleitungsrohr wird der Harn kontinuierlich nachgesaugt. Die Verdampfung findet demnach unter Ausschluß des atmosphärischen Sauerstoffes statt. Der Rückstand von 0,5 Liter aus 7 Litern wird in Portionen auf der Maschine mit reinstem Äther, im ganzen mit 5 Liter, durch mehrere Stunden geschüttelt; die leicht gelbliche ätherische Lösung wird zur Entfernung etwa vorhandener Spuren von Wasser mit zerkleinertem Filtrierpapier geschüttelt und durch ein Faltenfilter filtriert. Im Vakuum bei normaler Temperatur wird der Äther entfernt. Der braune Sirup, beim kräftigen Anreiben zu einer krystallinischen Masse erstarrend, wird in Wasser aufgenommen und mit reinster Tierkohle (Merck) in der Wärme entfärbt; das Filtrat dampft man im Wasserbade ein, die ausgeschiedenen Krystalle saugt man am Tonteller ab und trocknet die weiße Substanz schließlich im Vakuumexsiccator.

Die Reinigung mit Tierkohle bedingt aber Verluste. Das Bleisalz, lange Prismen von lebhaftem Seidenglanze, schmolz bei 214°.

---

[1]) Archiv klin. Mediz. 1901. **70.** 443; 1903. **78.** 174.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1904. **51.** 1599.

Quantitative Bestimmung.

Zur annähernden Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn werden nach E. Baumann und H. Embden[1]) 10 ccm Alkaptonharn mit 10 ccm 3%igem Ammoniak und einigen Kubikzentimetern $^1/_{10}$ n-Silbernitratlösung versetzt; ferner gibt man, um das fein verteilte Silber abzuscheiden, 5 Tropfen 10%iger Chlorcalcium- und 10 Tropfen Ammoniumcarbonatlösung hinzu; das hiebei sich bildende Calciumcarbonat 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 usf. Als Endreaktion wird angesehen, wenn das Filtrat auf Zusatz von Salzsäure im Überschusse eine eben sichtbare Trübung von Chlorsilber gibt. Die Nähe der Endreaktion gibt sich zu erkennen, wenn nach Salzsäurezusatz die braune Flüssigkeit hellrot wird. Bei Mehrverbrauch von Silberlösung, als 8 ccm für 10 ccm Harn sind von vornherein anstatt 10 ccm 20 ccm Ammoniak zu verwenden. 1 ccm $^1/_{10}$ n-Silberlösung = 0,004124 g Homogentisinsäure.

Die unter Anwendung von 3%igem Ammoniak erhaltenen Zahlen sind nach E. Garrod und Hurtley zu niedrig. Adler verwendet zu je 10 ccm Harn 15 ccm 5%iges Ammoniak.

Jod- und Bromalkalien müssen vorher ausgefällt werden, wenn solche vorhanden sein sollten. Nach C. Th. v. Moerner sind 0,3 ccm $^1/_{10}$ n-Silberlösung in Abzug zu bringen, da diese Menge schon von normalem Harne wegen der Fällbarkeit der Harnsäure verbraucht wird.

Mittelbach empfiehlt, die Harnsäure nach Hopkins als Ammoniumurat abzuscheiden und im Filtrate die Bestimmung der Homogentisinsäure mit Silberlösung vorzunehmen.

Eigenschaften der Homogentisinsäure.

Farblose Prismen mit 1 Mol. Wasser, werden an der Luft undurchsichtig. Unlöslich in Chloroform, Benzol, leicht löslich in Wasser, Alkohol und Äther; aus einer konz. alkoholischen (99%) Lösung durch Zusatz von reichlichen Mengen Chloroform ist die wasserfreie Säure ausscheidbar. Die Lösungen in Wasser reduzieren Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silberlösung in der Kälte, färben sich bei Gegenwart von Alkali an der Luft schnell dunkelbraun. Die Säure gibt beim Erhitzen im Röhrchen ein schön blaugefärbtes Sublimat. Charakteristisch sind das Bleisalz und der Äthylester, in den sich die Säure leicht überführen läßt (s. o.).

Schmelzpunkt 147°; nach dem Auskochen des Präparates fand Adler einen solchen von 152—154°. Beim Erwärmen im geschlossenen Gläschen im Trockenschranke bei 95° sublimiert die Säure als Anhydrid, das in Wasser unlöslich ist.

Nach Versuchen verschiedener Forscher ist die Existenz einer weiteren Säure, der Uroleucinsäure als Alkaptonsäure, nicht erwiesen; es ist vielmehr anzunehmen, daß es sich um noch verunreinigte Homogentisinsäure gehandelt hat.

---

[1]) Centralbl. med. Wissensch. 1892. 542. Zeitschr. physiol. Chem. 1892. **16.** 268. 1894. **18.** 304.

Im übrigen gelten die für den Nachweis der Alkaptonsäuren im Harne oben angegebenen weiteren Eigenschaften.

Zur Chemie des Alkaptonharnes und der Homogentisinsäure bringen C. Th. v. Mörner[1]) und K. Fromherz[2]) wertvolle Beiträge; G. Katsch[3]) berichtet über die Homogentisinsäure als Chromogen und über das Auftreten von Aceton beim Alkaptonuriker im Verlaufe von Hungertagen an Stelle der Homogentisinsäure.

35. *Die Eiweißstoffe.*

Eiweißstoffe, Proteinstoffe, Proteine sind hochmolekulare, zusammengesetzte, kolloidale Verbindungen aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel, die in einem ziemlich konstanten Verhältnisse vorhanden sind. Manche enthalten auch Phosphor, Eisen.

Als ein wichtiges Ergebnis der neueren Untersuchungen ist anzusehen, daß der Stickstoff in den Proteinen in solcher Bindung vorkommt, daß seine Hauptmenge bei der hydrolytischen Behandlung mit Säuren in der Form der Aminosäuren abgeschieden wird.

Die Eiweißstoffe hat man seither in folgende Gruppen eingeteilt, wobei jedoch nur Rücksicht auf die im Harne vorkommenden und uns interessierenden Eiweißkörper genommen ist:

I. Eiweißstoffe im eigentlichen Sinne, native, einfache, echte oder genuine Eiweißkörper, kolloidale Eiweißkörper.

1. Albumine, Serumalbumin, in Wasser löslich.
2. Globuline, Serum-Paraglobulin, in Wasser unlöslich, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen.
3. Fibrine, Fibrin, in Wasser und Salzlösungen unlöslich.
4. Nucleoalbumine (?) s. Phosphoproteide.[4])

II. Umwandlungsprodukte der eigentlichen Eiweißstoffe.

1. Koagulierte Albuminoidsubstanzen.
2. Acidalbumin, Albuminate. (Alkalialbuminate, Acidalbuminate.)
3. Proteosen (Albumosen, Peptone, Peptide, Polypeptide, Aminosäuren).

III. Proteide oder zusammengesetzte Proteine, Verbindungen von Eiweißkörpern mit anderen organischen, nicht albuminoiden Stoffen, geben bei der Zersetzung Eiweiß und enthalten zum Teil Phosphor und Eisen in organischer Bindung.

1. Phosphoproteide (Nucleoalbumin) mit leicht abspaltbarer Phosphorsäure (Cohnheim).

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **69.** 329.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **55.** 1652.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1918. **65.** 1207. Deutsch. Archiv klin. Med. 1920 **134.** 59.

[4]) Nach O. Cohnheim ist die Stellung dieser bei der Einteilung streitig; mit den Nucleoproteiden haben sie nichts zu tun, sie bilden eine ziemlich gut charakterisierte Gruppe (chemisch wie physiologisch). Es ist beliebig, ob man sie als Proteide oder als phosphorhaltige Eiweiße auffassen will; die leichte Abspaltbarkeit der Phosphorsäure läßt sie zweckmäßig als zusammengesetzte Eiweißkörper auffassen; man bezeichnet sie am besten in Übereinstimmung mit der amerikanischen Nomenklatur als Phosphoproteide; der Name Nucleoalbumin könnte wegfallen; es sind keine „Nucleo"verbindungen.

2. Nucleoproteide, Verbindungen der Eiweißstoffe mit Nucleinsäure (Nucleohiston).
3. Glykoproteide, Verbindungen der Eiweißstoffe mit Substanzen der Kohlenhydratgruppe, z. B. Mucine, Mucoide, Schleimstoffe.
4. Chondroproteide, Glykoproteide, die als nicht eiweißartigen Komponenten eine kohlenhydrathaltige Ätherschwefelsäure, die Chondroitinschwefelsäure liefern. Chondromucoid.
5. Hämoglobine, Verbindungen der Eiweißstoffe mit organischen eisenhaltigen Farbstoffen, Ferroproteide, die beim Erhitzen zerfallen, Hämoglobin, Methämoglobin.

IV. Albuminoide, den Eiweißkörpern ähnliche Substanzen, die als Oxydations- und Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe anzusehen sind.

1. Das Amyloid; findet sich in pathologischen Verhältnissen (amyloide, wachsartige Degeneration der Organe).

V. Farbstoffe, Derivate der Proteine und Proteide.

1. Gallenfarbstoffe.
2. Harnfarbstoffe.
3. Melanin.

VI. Fermente. (Enzyme.)

Eiweißartige Körper, die unter den für sie günstigen Bedingungen lösend und zersetzend auf an sich unlösliche Eiweißstoffe usw. einwirken. Proteolytische Fermente.

Pepsin, Trypsin, Labferment.

Diese Einteilung mag ja vielleicht nach den Forschungsergebnissen von E. Fischer und von seinen Schülern, von denen besonders E. Abderhalden zu nennen ist, nun nicht mehr so ganz die zutreffende, eine scharfe Trennung der einzelnen Gruppen von einander auch erschwert oder unmöglich sein, sie wird aber auch nicht als eine ungerechtfertigte und unrichtige angesehen werden dürfen, zumal noch solange, bis die wichtige Erforschung der Eiweißzusammensetzung vollkommen gelungen sein wird. Durch die schönen großartigen Arbeiten der genannten Forscher wissen wir, daß die Eiweißkörper aus zahlreichen Aminosäuren bestehen und zusammengesetzt sind, daß diese Säuren die sogenannten Bausteine für das Eiweiß darstellen und daß sie amidartig (als Säureamide) zu Peptiden, Dipeptiden, Polypeptiden usw. verbunden sind, die eine Anzahl der den Eiweißkörpern zukommenden charakteristischen Reaktionen geben. Die nativen, die der gewöhnlichen Ansicht nach in den tierischen Säften und Geweben vorgebildeten eigentlichen Eiweißkörper werden einen noch weit komplizierteren Aufbau besitzen.

Andererseits möchte ich aber den neueren Forschungsergebnissen gebührende Rechnung getragen wissen; hier haben sich gerade, was die ersten Umwandlungsprodukte der Eiweißstoffe, die Albumosen und Peptone betrifft, unsere Kenntnisse dahin erweitert, daß die früher angegebenen und an-

genommenen Möglichkeiten der Unterscheidung zwischen diesen Stoffen nicht mehr haltbar sind; ich habe auf diesen Umstand schon früher hingewiesen.

Th. Brugsch und A. Schittenhelm[1]) geben an, daß man früher glaubte, gewisse Stufen unter den Abbauprodukten des Eiweißes annehmen und abtrennen zu können und zu müssen und daß man annahm, die bei bestimmten Sättigungsgraden durch Salze ausgeschiedenen Produkte müßten gewissermaßen einheitliche sein; man bezeichnete die durch Ammoniumsulfat fällbaren Stoffe als Albumosen, die nicht fällbaren als Peptone. Beide stellen hochmolekulare Verbindungen dar.

Nach den Versuchen von E. Fischer und E. Abderhalden[2]) ist aber die Fällbarkeit durch Ammoniumsulfat sehr durch die Natur der im Molekül enthaltenen Aminosäuren bedingt, so daß z. B. ein aus zwei Molekülen Glykokoll und je einem δ-Alanin und l-Tyrosin bestehendes Tetrapeptid trotz seiner einfachen Konstitution sich beim Aussalzen wie eine Albumose verhalten kann. Man soll deshalb nach Brugsch und Schittenhelm auf eine Unterscheidung zwischen Albumosen und Peptonen verzichten, von Albumosen überhaupt nicht reden und die Eiweißstoffe in folgende Gruppen gliedern:

I. Koagulierbare Eiweißkörper, also Eiweiß im eigentlichen Sinne (Serumalbumin, Serumglobulin), dann Bence-Jonesscher Eiweißkörper, Nucleoalbumin, Mucin.
II. Unkoagulierbare, biuretgebende Eiweißkörper, sogenannte Albumosen und Peptone.
III. Hämoglobin und seine Abkömmlinge.
IV. Aminosäuren und ihre Abkömmlinge.

Allgemeine Eigenschaften der Eiweißstoffe.

Die Eiweißstoffe sind sämtlich unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol; ein Teil ist in reinem Wasser löslich (Albumin, sog. Albumosen, Peptone), ein anderer unlöslich (Globuline); die unlöslichen werden aber, mit Ausnahme des Fibrins, durch Säuren und Alkalien, sowie durch alkalisch reagierende Salze unter Bildung von Salzen gelöst.

Die Proteine, die man als aus peptidartig aneinander gebundenen Aminosäuren bestehende Komplexe, auch mit mehreren endständigen NH_2-Gruppen zu betrachten haben wird, sind eben wie die Aminosäuren amphotere Elekrolyte.

In ihren Lösungen besitzen die Eiweißstoffe die Eigenschaft, die Ebene des polarisierten Lichtes nach links zu drehen; durch tierische Membrane diffundieren sie mit Ausnahme der Albumosen, die Diffusionsvermögen zeigen, nicht (Kolloide). Ihr verschiedenes Verhalten zu den verschiedenen Salzen benutzt man zur Trennung der einzelnen Eiweißkörper. Durch Neutralsalze können Eiweißstoffe aus ihren Lösungen ausgefällt werden. (Reversible

[1]) Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethod. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1916.
[2]) Berl. Bericht. 1907. **40.** 3544.

Fällungen). Alle Eiweißkörper werden durch Alkohol aus ihren Lösungen abgeschieden (Übergang der Eiweißhydrosole in Hydrogele), ebenso geben die Lösungen mit den meisten Schwermetallen, mit den allgemeinen Alkaloidreagenzien und mit einer Reihe von Mineralsäuren, auch mit Anilinfarben, Abkömmlingen der Naphtholdi- und trisulfosäuren, charakteristische, zum Nachweis dienende Fällungen. (Irreversible Fällungen.)

Wie durch Alkohol, werden die meisten Eiweißstoffe aus ihren Lösungen auch durch Erhitzen ausgefällt, sie werden koaguliert (denaturiert, irreversible Zustandsänderung); diese Ausscheidung erfolgt bei schwach saurer Reaktion bei den verschiedenen Eiweißstoffen bei verschiedenen Temperaturen und auch unter verschiedenen Bedingungen (bei Anwesenheit einer gewissen Menge von Salzen). Die Koagulationstemperatur ist bedingt (beeinflußt) durch den Gehalt der Lösung an Eiweiß, Säure, Salzen und von der Geschwindigkeit des Erwärmens. Denaturiertes Eiweiß bezeichnet man auch als Metaprotein, Protean. Durch Behandlung des koagulierten Eiweißes mit verdünnter Lauge oder mit verdünnten Mineralsäuren in der Wärme erzielt man Lösung unter Bildung von Alkalialbuminaten oder Acidalbuminen (Syntonin). C. Paal[1]) bezeichnet das durch Behandeln mit Ätzalkalien gebildete Eiweiß als Protalbin- und als Lysalbinsäure. Die durch die Reagenzien bedingten Fällungen sind ebenfalls eine Folge von Koagulation oder von entstandenen in Wasser unlöslichen Verbindungen. Eine weitere den Eiweißstoffen zukommende Eigenschaft ist die Erzeugung von Farbenreaktionen mit verschiedenen Reagenzien; wir kennen die Biuret-, die Xanthoproteinreaktion, die Millonsche, die Furfurolprobe in verschiedener Ausführung und die Schwefelprobe.

Durch proteolytische Enzyme, durch Behandlung mit saurem Magensaft (Pepsin) und bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion durch Pankreassaft bei 40° werden die natürlichen, wie koagulierten Albuminstoffe peptonisiert und zuerst in sog. Hemialbumosen und dann in sog. Peptone, auch in Polypeptide und Aminosäuren verschiedener Art, in Proteosen, in nicht koagulierbare Substanzen verwandelt; auch durch Einwirkung siedender verdünnter Säuren und Alkalien entstehen diese Umwandlungsprodukte, die durch Membranen gut diffundieren; bei kräftiger Einwirkung der Säuren und Alkalien, auch hochgespannter Wasserdämpfe zerfallen die Eiweißstoffe unter Hydrolyse in eine Reihe von Aminosäuren, Tyrosin, Leucin und anderen. Bei der Hydrolyse der Eiweißstoffe mit Alkalien entstehen wohl die gleichen Spaltungsprodukte, wie bei der Säurehydrolyse, bei ersterer wird aber ein bedeutender Teil der Aminosäuren racemisiert, in der optisch inaktiven Form erhalten, während bei der Säurehydrolyse optisch aktive Säuren gebildet werden; zum Teil kann bei der Einwirkung von Alkali noch eine weitere Zersetzung stattfinden. Beim Erhitzen mit Mineralsäuren geht der Zerfall nicht so weit; mit Salzsäure unter Zusatz von Zinnchlorür erhitzt, erhält man Glutamin, Glutaminsäure und zwei, Lysatin und Lysatinin

[1]) Berl. Bericht. 1902 **35.** II. 2195.

genannte Basen. Durch Oxydation mit Kaliumpermanganat konnte Maly eine sauerstoffreiche, den Charakter einer Säure zeigende vielbasische Proteinsubstanz (Oxyprotsäure) herstellen.

Bei Gegenwart von Wasser und Luft gehen die Eiweißstoffe rasch in Fäulnis über, wobei zuerst die gleichen Stoffe wie durch die Einwirkung proteolytischer Enzyme erhalten werden, dann aber Zersetzungsprodukte, wie Kohlensäure, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, flüchtige Fettsäuren, Leucin, Tyrosin, Glykokoll, Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenol, Indol (Skatol), Oxyphenylessigsäure, Hydroparacumarsäure, Ptomaine entstehen.

Die speziellen Reaktionen und Eigenschaften finden sich bei den einzelnen Eiweißstoffen aufgezählt; zugleich möge erwähnt sein, daß der Übersicht wegen die zu den Eiweißstoffen zu zählenden Verbindungen dieser mit Eisen, die Blutfarbstoffe, ebenso die anderen Farbstoffe, die Derivate der Proteine darstellen, wie die Harnfarbstoffe, die Gallenfarbstoffe in besonderen Abschnitten behandelt werden sollen.

Das Vorkommen von Eiweiß im normalen Harne.

Wenn ein Harn längere oder kürzere Zeit steht, scheidet sich bekanntlich freiwillig eine größere oder geringere Menge einer schleimähnlichen Substanz in Form einer wolkigen Trübung aus, die sich zusammenballt, sich jedoch nicht ganz als Sediment abscheidet und die man als „Nubecula" bezeichnet; diese Nubecula besteht nach K. H. Mörner[1]) aus einem Glykoproteid, dem eigentlichen typischen Harnmucoid, mit 49,40% C, 12,74% N und 2,3% S, ist frei von Phosphor und stammt hauptsächlich aus der Schleimhaut der ableitenden Harnwege, sie kann auch in sehr geringer Menge in dem Harne in Lösung gehen.

Nun findet man oft Harne vor, bei denen nach Zusatz von Essigsäure eine stärkere Trübung, sogar Fällung eintritt. Man glaubte oder nahm an, daß es sich hier um wahres Harnmucoid, um die Verbindung von Eiweiß mit einem Kohlenhydrat, das eben erwähnte Glykoproteid, oder um Nucleoalbumin, ein phosphorhaltiges Eiweiß, ein Phosphoproteid handeln würde.

Nach den Ergebnissen eingehender Untersuchung ist dies aber nicht zutreffend; die auf Essigsäurezusatz sich ausscheidenden Substanzen können in vielen, ja in den meisten Fällen etwas anderes als wahres und wirkliches Harnmucoid, wahres Phosphoproteid, Nucleoalbumin und wirkliches Nucleoproteid sein; das typische (Mucin, Schleim) scheidet sich beim Stehen des Harnes ja freiwillig ab.

Daß in jedem Harne Eiweiß, Serumalbumin, Serumglobulin, wenn auch nur in sehr geringen Mengen, vorkommen kann, gilt als sicher erwiesen. H. Pribram und G. Herrnheiser[2]) meinen, daß das n-Harneiweiß hämatogenen Ursprungs sein dürfte.

[1]) Skand. Archiv Physiol. 1895. 6. 333

[2]) Biochem. Zeitschr. 1920. 111. 30; zur Kenntnis der adialysablen Bestandteile des Menschenharnes.

Solche Eiweißspuren lassen sich durch unsere gebräuchlichen Eiweißproben (Kochprobe, Hellersche Probe, Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe) nicht erkennen, wohl aber meistens durch die außerordentlich scharfen Reagenzien, wie z. B. durch das Spieglersche, so daß darauf bei der Prüfung und Beurteilung eines pathologischen Eiweißgehaltes im Harne Rücksicht genommen werden muß. Solche Spuren können nämlich bei der physiologischen Eiweißausscheidung, die durch gewisse Momente hervorgerufen werden kann und wobei eine Organschädigung der Niere nicht vorliegt, manchmal auch in etwas gesteigertem Maße beobachtet werden.

Nach K. H. Mörner enthält jeder Harn wenig Eiweiß und daneben eiweißfällende Substanzen; als solche sind besonders die Chondroitinschwefelsäure, dann die Nucleinsäure und in einzelnen Fällen, besonders im ikterischen Harne, die Taurocholsäure zu nennen; durch den Essigsäurezusatz zum Harne werden diese Säuren aus ihren Alkalisalzen freigemacht und gehen nun mit dem vorhandenen Eiweiß die erwähnten unlöslichen Verbindungen ein. Ist die Trübung beim Ansäuern mit Essigsäure eine reichlichere, so kann dies durch Vermehrung des Eiweißes oder durch Vermehrung der eiweißfällenden Säuren bei gleichzeitiger und vermehrter Anwesenheit von Eiweißmengen bedingt sein.

Mörner wies nach, daß ein von seinen Salzen durch Dialyse befreiter Harn nach Zusatz von Essigsäure und nach dem Schütteln mit Chloroform eine Fällung ergab; wurde diese abfiltriert und das Filtrat nun mit Serumeiweiß versetzt, so konnte eine neue Fällung erhalten werden, ein Zeichen, daß diese eiweißfällenden Substanzen meist im Überschusse im Harne vorhanden sind.

Zum Nachweis des genuinen Eiweißes im normalen Harne kann man nach dem Entfernen der Nubecula durch Filtration den Harn (größere Mengen) mit 3—4 Volumen Alkohol fällen, die Fällung in verdünnter Essigsäure lösen und damit die gewöhnlichen Eiweißreaktionen anstellen; auch die eben erwähnte Dialyse kann in Anwendung kommen.

Nach K. A. H. Mörner[1]) können im normalen Harne 0,022—0,078 g Eiweiß im Liter vorhanden sein.

Wir hätten also, um es nochmals zu erwähnen, die auf Zusatz von Essigsäure in manchem Harne entstandene und allgemein als Mucin- und Nucleoalbuminfällung betrachtete Ausscheidung wohl meist als Verbindung von wirklichem Eiweiß mit den eiweißfällenden Stoffen zu betrachten.

Die Untersuchungsergebnisse anderer Forscher, wie Calvo, Oswald, Senator, sprechen auch dafür, daß in jedem Urin Eiweiß vorkommt, auch der für Mucin gehaltene Körper ist, sagt Senator, Albumin. Nach Oswald ist der Nucleoalbumin genannte Stoff nichts anderes, als ein Gemenge von Fibrinoglobulin und von dem Teile des Serumglobulins, den Hofmeister

[1]) Skand. Archiv Physiol. 1895. **6.** 417.

Euglobulin genannt hat. Ähnlich äußert sich Calvo. Nach Rostoski handelt es sich um Globulin.

Möglicherweise wird es sich, wie Sahli nicht ganz unzutreffend erwähnt, um eine Mehrzahl von Substanzen, auch nicht um einheitlich zusammengesetzte, handeln und es ist wohl am besten, die nach Essigsäurezusatz zur Ausscheidung kommenden Stoffe, wenn deren eingehende Prüfung auf ihre Zusammensetzung nicht vorgenommen werden kann, allgemein als durch Essigsäure fällbare Substanzen zu bezeichnen. Man sprach von diesen auch als von „mucinähnlicher Substanz", als von „sogenanntem Nucleoalbumin". Die genaue, an anderer Stelle mitgeteilte Prüfung kann wohl in den meisten Fällen, d. h. wenn genügende Mengen Harn zur Verfügung stehen, Aufschluß geben, ob es sich um Verbindungen des Eiweißes mit der Chondroitinschwefelsäure, oder um Glykoproteide (Mucin, Harnmucoid), oder um Phosphoproteide (Nucleoalbumin im eigentlichen Sinne, Phosphorgehalt, aber keine Purinbasen), oder um Nucleoproteide, Verbindungen des Eiweißes mit Nucleinsäure (enthalten Purinbasen) handelt.

Man wird, wenn diese Ausscheidungen (auf Zusatz von Essigsäure zum Harne) öfters im gleichen Harne zu beobachten sind oder in etwas größerer Menge sich vorfinden, der Sache durch eingehendere Untersuchung auf den Grund gehen und wird vor allem nicht vergessen, auch den Harn recht genau mikroskopisch auf etwaiges Vorhandensein von Cylindern, Epithelien, Erythrocyten usw. zu prüfen. Hervorgehoben sei, daß die beim Stehen des Harnes entstehende gewöhnliche Ausscheidung des Harnmucoides, die sog. Nubecula, unbedenklich ist.

A. und B. *Albumin und Globulin.*

Wie schon erwähnt, enthält der normale Harn ebenfalls Eiweiß, allerdings nur in so kleinen Mengen, daß sie mit unseren gewöhnlichen Reagenzien auf Eiweiß (Kochprobe usw.) nicht nachgewiesen werden können, sondern nur mit den ganz empfindlichen (Spieglers Reagens) erkannt werden. Bei der Art der Eiweißkörper, die zur Ausscheidung im Harne kommen können, handelt es sich zuerst um die Eiweißkörper des Blutserums, um Serumalbumin und Serumglobulin, die aber in durchaus wechselnden Verhältnissen das Harneiweiß zusammensetzen; eine praktische Bedeutung und eine Beziehung zu bestimmten pathologischen Vorgängen konnte in dem Verhältnis der beiden Eiweißkörper zu einander nicht gefunden werden; da das Verhältnis von Albumin zum Globulin im Harne aber nicht dem des Blutes entspricht, so wird nach L. Lichtwitz[1]) eine Albuminurie als ein nicht mechanisches Durchgehen von Serum durch die Nieren, sondern als ein vitaler Vorgang einer krankhaften Sekretion gekennzeichnet. In viel geringerer Menge kann das Eiweiß aus dem Zellbelag der Niere selbst stammen; für die wirklichen Nierenkrankheiten spielt diese Eiweißquelle nur eine sehr untergeordnete Rolle, sie kommt lediglich bei schweren Entartungsprozessen

[1]) Die Praxis der Nierenkrankheiten. J. Springer, Berlin. 1921.

im Bereiche der Kanälchen und nur in Verbindung mit den Bluteiweißkörpern in Betracht. Dem sog. Essigsäurekörper, dem durch Essigsäure fällbaren Eiweißkörper, soll in manchen Fällen eine gewisse Bedeutung zukommen; es erscheint zweifellos, daß die den Eiweißkörper bildenden Stoffe unter gewissen Verhältnissen veränderter Nierendurchblutung (orthostatische Albuminurie) in vermehrter Menge ausgeschieden werden und aus den Nierenepithelien selber und zwar aus den Tubularepithelien stammen. Nach Strauss soll der Nachweis dieser Stoffe das feinste Reagens auf eine Störung im Bereiche der Tubuli bilden.

Dafür, wie das Eiweiß in den Harn kommt, gibt es noch keine Gewißheit; sicher ist wohl, sagt L. Lichtwitz, daß das Eiweiß durch den Zellbelag der kranken Niere hindurchgeht, es kommt nicht etwa aus offenen Blut- und Lymphbahnen; wir wissen weiter auch noch nicht, welche Zustandsänderungen die Zellen erfahren müssen, um eine Albuminurie zu ermöglichen.

Albuminurie ist aber noch nicht Nephritis, ebensowenig verbürgt das Fehlen von Eiweiß Gesundheit der Niere, nicht einmal das Freisein von akuten oder degenerativen Prozessen.

Zur Frage, wo kommt das Eiweiß in den Harn, äußert sich Lichtwitz dahin, daß alle Epithelien, sowohl die der Glomeruli wie die der Tubuli die Eigenschaft haben, das Eiweiß zurückzuhalten; welche Epithelien im Falle der Krankheit auf diese Funktion versagen, ist viel besprochen worden, beiden Gruppen von Zellen kommt die Möglichkeit einer Änderung zu; doch sind es aber entgegen der Erwartung, daß die Albuminurie vorzugsweise im Glomerulus vor sich geht, gerade die Tubuli, die den Ort der größten Eiweißdurchgängigkeit darstellen.

Erfahrungsgemäß sind es die Erkrankungen des Tubularapparates, insbesondere die toxischen, degenerativen und nekrotisierenden (bei Lues II, Tuberkulose, Vergiftungen), die die stärksten Eiweißausscheidungen liefern, während bei reinster Glomerulonephritis (Glomerulitis) ein sehr eiweißarmer, ja sogar ein eiweißfreier Harn beobachtet wird.

Die Frage nach den intimen Vorgängen in der Zelle, die der Albuminurie vorausgehen, ist nicht zu beantworten, wohl die Frage nach den Bedingungen, die zu diesem abnormen Verhalten der Zelle führen. Die Zellen können unmittelbar durch Gifte der verschiedensten Art so geschädigt werden, daß sie Eiweiß durchlassen, sie können weiter mittelbar geschädigt werden, indem sie unter ungünstigen zirkulatorischen Verhältnissen in Beziehung auf ihre Ernährung und besonders auf ihren Gaswechsel Not leiden (zirkulatorische Albuminurie); sie halten die Eiweißstoffe des Blutes nicht zurück, die Abnormität der Durchblutung der Nieren und zwar der mangelnde Zufluß arteriellen Blutes, wie der stockende Abfluß durch die Venen führen zu den Symptomen der Albuminurie[1]).

[1]) V. Kollert u. W. Starlinger, Zeitschr. ges. exp. Med. 1922. **30.** 293; Chem. Centralbl. 1923. **94.** I. 383, sagen: Albuminurie ist der Ausdruck vermehrten Eiweißzerfalles bei gleichzeitigem Bestande einer erhöht eiweißdurchlässigen Niere.

Wichtig ist natürlich die Frage, wann ist das Auftreten von Eiweiß bei sonst Gesunden wohl als pathologisch anzusehen; wenn auch dieser Entscheid nur Sache der Ärzte auf Grund ihrer Diagnose ist, so sind doch die Ansichten namhafter Forscher hier zu erwähnen schon deswegen, damit der mit der Untersuchung nach dieser Richtung hin betraute Sachverständige auch keines der Momente bei seinen Untersuchungen außer acht läßt, das für die Entscheidung von Wichtigkeit ist. F. Penzoldt sagt, daß vorübergehende Albuminurie nach Genuß von Schnaps, Bier, Tee, Rettich usw. häufig vorkommen kann; es finden sich auch einige Cylinder und andere Formelemente, auch rote und weiße Blutkörperchen, sowie Epithel aus den Harnkanälchen, so daß ein einmaliger solcher Befund noch keine Nephritis bedeutet. Sollten sich jedoch nach einer strengen körperlichen Ruhe, nach Weglassen und Vermeiden aller nierenreizenden Stoffe nach einigen Tagen bei der Prüfung des Urins abermals Eiweiß und die erwähnten Formelemente finden, dann würde der Verdacht auf eine wirkliche Albuminurie begründeter werden.

Als gutartige, physiologische, auch transitorische (akzidentelle), unechte Albuminurie ist die zu betrachten, die sich bei sonst völlig Gesunden vorfinden kann nach schweren körperlichen Anstrengungen des Organismus, nach großen Märschen, Radtouren, nach reichlichen Mahlzeiten, nach Entziehung von Kochsalz in der Nahrung, nach kalten Bädern, nach Gemütsbewegungen, nach nervösen Einflüssen, nach Reizungen der Nieren (durch Gewürze, große Mengen Kaffee), während der Menstruation, nach ungeeigneter Nahrungszufuhr.

Senator bezeichnet als funktionelle (einfache, idiopathische, essentielle) Albuminurie die Fälle von Eiweißausscheidungen, in denen trotz sorgfältigster Untersuchung des ganzen Körpers nichts weiter gefunden wird; hieher zählt man auch nach v. Leube die Pubertätsalbuminurie, juvenile A., eine Entwicklungskrankheit; nach dem Aufhören der die Eiweißausscheidung bedingenden Ursachen verschwinden die meist nur in geringer Menge vorkommenden Eiweißstoffe. Es kommt auch vor, daß die Eiweißausscheidungen periodisch wechseln; Eiweiß ist meist nur im Morgenharne auffindbar; die mikroskopische Untersuchung läßt hier nie die für eine akute oder chronische Nierenerkrankung sprechenden Formelemente vorfinden; diese Art der Eiweißausscheidung bezeichnete man als zyklische Albuminurie, nicht mit der nachher zu besprechenden zyklisch orthostatischen zu verwechseln. Durch häufigeres Untersuchen des Harnes zu verschiedenen Zeiten und unter Berücksichtigung der Lebensweise kann man diese Albuminurie als solche gewöhnlich klarlegen; sie findet sich häufig bei jungen Leuten. Bei alten Personen ist einer solchen Ausscheidung aber erhöhtes Interesse zuzuwenden (Arteriosklerose?).

Anders steht es mit der orthostatischen (orthotischen, lordotischen, konstitutionellen usw.) Albuminurie.

Diese oft bei Personen im jugendlichen Alter beobachtete, meist durch die Wachstumsperiode anhaltende Albuminurie ist von der Körperhaltung

abhängig und tritt ein, wenn diese Personen aus der horizontalen Lage in die aufrechte übergehen und verschwindet wieder beim Hinlegen; in den meisten Fällen ist der im Liegen entleerte Harn eiweißfrei, der im Stehen gebildete enthält Eiweiß von Spuren bis 0,6% und darüber, bisweilen auch Cylinder. Die wohl zuerst von Heubner beobachtete Erscheinung kommt familiär und hereditär vor und findet sich bei Menschen, bei denen eine entsprechende degenerative Veranlagung der Nierenzellen, eine funktionelle Schwäche der Nierenepithelien, die sich in abnormer Durchlässigkeit gegenüber den Eiweißkörpern äußert, besteht (Asthenie der Niere). Nach Brugsch ist diese Albuminurie nur der Ausdruck einer gewissen konstitutionellen Schwäche des Organismus ohne jede nephritische Diathese. Nicht die aufrechte Haltung an sich löst die Ausscheidung von Eiweiß aus, es liegen bei dieser Krankheit in der großen Mehrzahl der Fälle ganz schwache, leicht ausgleichbare Krümmungen der Wirbelsäule vor, sog. Lordose, die einen gewissen Druck auf die Nierengefäße hervorrufen, dadurch dort unregelmäßigen Blutumlauf und daher auch unregelmäßige Funktionen verursachen. Dieser Druck wird beim Hinlegen ausgeglichen. Die Albuminurie bleibt aus beim Sitzen, Bergsteigen, bei vorübergehender Haltung usw., tritt aber bei allen Verrichtungen, die eine Beeinflussung der Lendenwirbelsäule mit sich bringen, wie Kämmen der Haare, Erheben der Arme, Festmachen des Rockes, Tragen von Rucksäcken, von Gießkannen usw. auf und zwar in den Vormittagsstunden leichter und häufiger, wie nachmittags. Die Zeit der Lageveränderung zur Hervorrufung von Eiweiß ist eine sehr kurze; man hat schon 30 Sekunden nach Übergang in die senkrechte Stellung Eiweiß gefunden. Kennzeichnend sind die Ausscheidung des gewöhnlichen Eiweißes und die Zunahme der Menge der eiweißfällenden Substanzen (Chondroiturie Pollitzer), also des „Essigsäurekörpers", — Unterschied in chemischer Hinsicht von der nephritischen Albuminurie — ein Sinken der Harnmenge, eine Änderung der Harnreaktion und eine große Neigung zur Sedimentbildung von oxalsaurem Kalk, phosphorsaurem Kalk, Uraten, vor allem das wechselnde Vorhandensein von Eiweiß.

Das Vorkommen größerer Mengen der Chondroitinschwefelsäure ließe vielleicht auch darauf schließen, daß die fragliche Albuminurie eine ausgesprochene Wachstumskrankheit darstellt.

Die schon erwähnte gutartige juvenile Albuminurie darf nicht mit der lordotischen verwechselt werden, doch sollen unter Umständen die beiden in einander übergehen können. Einen Übergang der lordotischen Albuminurie in eine Nephritis gibt es nach L. Lichtwitz nicht; die Erfahrung besteht nur, daß es Familien gibt, in denen gehäuft die orthotische Albuminurie und vereinzelt vaskuläre Nephrosklerose, auch schnell verlaufende genuine Schrumpfniere auftritt, die Nierenschwäche kann also ein familiäres Merkmal sein.

Eine falsche oder unechte Albuminurie würde vorliegen, wenn zu einem aus der Niere eiweißfrei abgesonderten Harne auf dem Wege vom

Nierenbecken bis zur Harnröhrenmündung eine eiweißhaltige Flüssigkeit, Blut, Eiter usw. hinzutritt; man hat deshalb bei der Prüfung auf Eiweiß im Harne Rücksicht zu nehmen, ob nicht das gelöste Eiweiß von Eiter, Blut, Blutfarbstoff aus den Harnwegen herrührt, worüber die mikroskopische Untersuchung der Sedimente Aufschluß zu geben vermag (bei Cystitis, Pyelitis, Gonorrhoe, Spermatorrhöe). Das Fehlen von Harncylindern, Nierenepithelien ist ein, wenn auch nicht ganz sicherer Beweis, daß eine renale Albuminurie nicht vorliegt. Bei Tuberkulose der Nieren finden sich erst im späteren Stadium Cylinder vor. Wird diese falsche Albuminurie noch von einem wirklichen Nierenleiden begleitet, so redet man wohl auch von einer gemischten Albuminurie; hier wird hauptsächlich die mikroskopische Prüfung die richtige Auskunft geben können, obwohl auch chemisch schon die Möglichkeit geboten ist, zu erkennen, ob falsche oder wahre Albuminurie vorliegt. Der von den charakteristischen Formelementen abfiltrierte Harn wird im ersten Falle nur Spuren Eiweiß erkennen lassen, während er im zweiten Falle in der Regel größere Mengen Eiweiß aufweisen wird. Eine Ausnahme findet sich bei der Schrumpfniere; bei dieser Krankheit werden manchmal nicht einmal geringe Mengen von Eiweiß gefunden.

Als pathologisch anzusehen ist das Auftreten von Eiweiß und eine eigentliche wahre renale Albuminurie (Nephritis) ist vorhanden, wenn infolge einer durch verschiedene pathologische Prozesse hervorgerufenen Erkrankung, Veränderung, Schädigung oder Zirkulationsstörung der Nieren diese das Eiweiß des Blutes nicht mehr zurückzuhalten imstande sind, die Nierenepithelien für das Eiweiß, das mit dem Blute in den Nierengefäßen kreist, durchlässig gemacht sind, während sie normalerweise das kolloidale Eiweiß nicht passieren lassen. Die Eiweißausscheidung im Harne ist hier stets eine konstante, indem zu allen Tageszeiten Eiweiß ausgeschieden wird und meist in einer solchen Menge, daß man deutliche Eiweißreaktionen erhält; allerdings braucht die Menge des ausgeschiedenen Eiweißes durchaus nicht immer mit der Nierenerkrankung parallel zu gehen, es gibt sogar gefährliche Formen dieser, wo der Harn nur Spuren Eiweiß enthalten kann.

Im Sedimente findet man bei dieser wahren Albuminurie (Nephritis, Nephrose usw.) Formelemente der Niere, die verschiedenen Harncylinder, Nierenepithelien, Cylinder mit den genannten Formelementen, organisiertes Eiweiß usw.

Der genauen mikroskopischen Untersuchung eines Harnsedimentes kommt demnach eine sehr große, in vielen, fast in allen Fällen eine ausschlaggebende Bedeutung zu.

Die schon erwähnten histologischen Veränderungen des Nierengewebes bei der wahren Albuminurie werden veranlaßt durch entzündliche und degenerative Vorgänge des Nierenparenchyms (epitheliale und globuläre Leiden) bei jeder Form von akuter und chronischer Nephritis, bei fettiger Entartung der Nierenzellen (große, weiße Niere), beim Nierenamyloid (es

werden Blutgefäße, Epithel, Glomerulusschlingen, Bindegewebe erfaßt), durch Steigerung des Blutdruckes, durch eine venöse Stauung, durch verringerte Blutzufuhr der Niere, durch behinderten Abfluß des Harnes aus den Harnwegen infolge Verschlusses des Ureters bei Steinbildung, bei Schwangeren, durch toxisch wirkende Körper (Quecksilbersalze, Phenole, Lysol, Oxalsäure, Chromsalze, Arsenik, Arsenwasserstoff, Blei, Phosphor, Kohlenoxyd, Terpentin, Opiate, Strychnin, Pilocarpin, Alkohol, Bakterientoxine, nach langem fortgesetztem Gebrauche von salicylsaurem Natron, Silbernitrat, Canthariden). Durch eine Schädigung der die Nieren versorgenden Nerven oder durch eine solche der Zirkulationsverhältnisse des Zentralnervensystems kann ebenfalls Albuminurie entstehen, die wir auch bei zahlreichen Erkrankungen des Gehirns und des Rückenmarkes vorfinden (F. Blumenthal). Auch bei Darmeinklemmungen wird sehr häufig Eiweiß im Urin gefunden; mit der stärkeren, gefährlicheren und länger dauernden Einklemmung nimmt die Menge zu; die Eiweißbestimmung hat hier eine wertvolle diagnostische und therapeutische Bedeutung.

Auf eine Veränderung der Blutbeschaffenheit ist die febrile Albuminurie (nun akute Nephrose, Fiebernephrose, albuminöse Nephrose genannt) zurückzuführen, die bei schweren infektiösen Fiebern (Typhus, Diphtheritis, Scharlach, Pneumonie) entsteht, die sich von der entzündlichen Albuminurie dadurch unterscheidet, daß sie nach dem Erlöschen des hohen Fiebers wieder verschwindet. Bei dieser Albuminurie kann der saure und hochgestellte, kochsalzarme Harn ebenfalls reichlich Eiweiß bis 10‰ aufweisen; eine diagnostische Grenze zwischen dieser und Nephritis ist oft schwierig zu ziehen, da die febrile Albuminurie wohl nur graduell von letzterer verschieden ist.

Nichts zu tun hat diese Albuminurie mit der bei Scharlach usw. später auftretenden akuten Nephritis; die Nierenentzündung ist nach der neuen Auffassung ein Teil des in der 3. oder 4. Woche einsetzenden Scharlachrezidivs; die nun akute Glomerulonephritis genannte Erkrankung beruht auf bakterieller Infektion (Streptokokken).

Die in pathologischen Fällen mit dem Harne entleerten Eiweißmengen können außerordentlich verschieden sein von einem Minimum, weniger als 1 g in der in 24 Stunden entleerten Harnmenge, bis zu 30 g; meist ist die ausgeschiedene Menge kleiner als 0,5% und ein Gehalt von 1% und darüber gehört zu den Seltenheiten. Bei akuter Nephritis ist der Gehalt an Eiweiß im Harne wohl am beträchtlichsten (G. Gaulier fand z. B. einmal in 580 ccm Harn in 24 Stunden 24,49 g Eiweiß), auch bei chronischer Nephritis kann dieser noch bedeutend sein, er kann aber abnehmen, je mehr die chronische Nephritis sich der Schrumpfniere nähert, ja er kann trotz schwerer Erkrankung zeitweise ganz aussetzen und verschwinden.

Nach den neuen Anschauungen ist die Einteilung der Nierenerkrankungen gegen früher eine etwas andere geworden. L. Lichtwitz[1]) gibt folgende an:

[1]) a. a. O.

I. Primär epitheliale Leiden.

Nephropathica epithelialis, Nephropathica tubularis, Nephritis tubularis, Nephrose, tubuläre Nephrose, Epithelialnephrose, früher Nephritis parenchymatosa genannt, Nierenentartung.

a) Febrile Albuminurie, akute Nephrose, Fiebernephrose, albuminöse Nephrose. Bei allen Infektionskrankheiten.
b) Akute epitheliale Nephropathie nach Vergiftungen.
c) Epitheliale Nephropathie bei Diabetes mellitus (Diabetesniere), Gicht (Gichtniere), schwerer Anämie und Morbus Basedowii.
d) Nephropatia epithelialis im Sekundärstadium der Lues.
e) Amyloidniere, Amyloidschrumpfniere.
f) Schwangerschaftsniere.

II. Primär globuläre Leiden.

a) Die akute Glomerulonephritis, die häufigste aller Nierenkrankheiten, die meist im Verlaufe eines Grundübels beginnt; die Vorbedingung ist gewöhnlich eine bakterielle Infektion. Scharlachnephritis. Selten fehlt Hämaturie.
b) Die chronische diffuse Glomerulonephritis. Sekundäre Schrumpfniere
c) Die herdförmigen Nephritiden. Entzündungsherde nach schwerer Streptokokkeninfektion.

III. Primär vasculäre Leiden.

a) Stauungsniere.
b) Nierensklerosen, Arteriosklerose der Nierenarterien.
1. Die vasculäre Hypertonie. Rote Granularniere.
2. Die genuine Schrumpfniere.

IV. Von den Harnleitungswegen ausgehende Leiden.

Harnstauungsniere. Pyelitis und Pyelonephritis ascendens. Nierensteine. Nierentuberkulose. Nierentumoren.

Der Befund der physikalischen, chemischen und mikroskopischen Prüfung des Harnes bei den wichtigsten Nierenkrankheiten ist im wesentlichen folgender: (Brugsch, Schittenhelm[1]), H. Rieder[2]), L. Lichtwitz[3]), C. Beier.)[4])

1. Akute Nephritis. (Hämorrhagische, nicht hämorrhagische, akute epitheliale Nephropathie, akute Glomerulonephritis.)

Harnmenge: Vermindert, kann bis 50 ccm täglich sinken, zuweilen besteht Anurie. Messen der täglichen Harnmenge wichtig; Besserung beim Steigen der Menge.
Spezif. Gewicht: Meist erhöht 1,030—1,040; bei Besserung die Norm erreichend.
Reaktion: Schwachsauer, normal.
Farbe und Aussehen: Durch Beimengung morphotischer Elemente getrübt; bei Blutbeimischung dunkelbraunrot, schwarzrot, bei geringem Blutgehalte fleischwasserfarben, beim Fehlen von Blut gelb gefärbt, aber auch trübe. Stets frei von Gerinnsel (Unterschied von Blutungen aus den unteren Harnwegen).
Eiweißgehalt: Meist erheblich, kann über 1% betragen, bei der Kochprobe oft oder meist die Hälfte des Reagenzglases einnehmend.
Sediment: Meist reichlich, locker und flockig am Boden des Gefäßes sich absetzend. Harnsäure in verschiedenen Formen, Urate, oxalsaurer Kalk, selten Hämatoidinkrystalle, rote, meist ausgelaugte Blutkörperchen, einzeln, in Häufchen oder den Cylindern aufgelagert, geschrumpft erscheinend. Leukocyten. Epithelien der Niere, auch durch Blutfarbstoff braun gefärbt, der Harnwege. Hyaline oder pigmentierte Cylinder, zum Teil mit Blutkörperchen, Leukozyten, Nierenepithelien, auch mit Uraten, echte Blutcylinder; infolge fettiger Degeneration der Nierenepithelien auch mit Eiweißkörnchen, Fettröpfchen belegte Cylinder, auch Wachscylinder. Bakterien. Viel Blutkörperchen und Blutcylinder hämorrhagischer Art, bei Fehlen von Epithel Erkrankung der Glomeruli.

Scharlachnephritis. (Akute, hämorrhagische Nephritis, akute Glomerulusnephritis.)

Harnmenge: Sehr vermindert, sogar Anurie, bei Besserung Zunahme.
Spezifisches Gewicht: Hoch.
Farbe, Aussehen: Trüb, fast stets hämorrhagisch, braungrün, schwarzgrün, fleischwasserähnlich mit feinst verteiltem Blut, braunrotes Sediment.

---

[1]) a. a. O.
[2]) Klinische Mikroskop. d. Harnes. F. C. W. Vogel, Leipzig 1898.
[3]) a. a. O.
[4]) a. a. O.

Eiweißgehalt: Verschieden, von Spuren und 20—40‰, meist 6—12‰.
Sediment: Leukocyten teils frei, teils Cylindern aufgelagert, rote Blutkörperchen, erhalten und ausgelaugt, mit Detritus und Nierenepithelien bedeckte viele hyaline Cylinder, Nierenepithelien, auch frei und kleinere Gruppen bildend. Bei schwerer Schädigung auch dunkelgefärbte Wachscylinder, auch verfettete Cylinder.

2a. Chronische Nephritis. (Parenchymatöse, entzündliche Fettniere, desquamative Nephritis, große, weiße Niere genannt.)
Harnmenge: Stets vermindert.
Spezif. Gewicht: Erhöht, 1,020—1,040, je nach der Harnmenge und den Bestandteilen.
Reaktion: Sauer.
Farbe, Aussehen: Gelblich, gelbbraun. Häufig trübe durch reichliche Formelemente.
Eiweißgehalt: Sehr beträchtlich, doch meist niedriger, als bei der akuten Nephritis.
Sediment: Reichlich, weißlichgelb; oft viel Harnsäure und harnsaure Salze. Anfangs blasse, hyaline Cylinder, später breitere epitheliale, bei schweren Leiden breite Wachszylinder. Cylinder mit degenerierten Nierenepithelien oder Fragmente dieser mit Fettkörnchen, Fettröpfchen bedeckt. Fettige Degeneration häufig zu beobachten. Epithelien der Niere. Weiße, auch zuweilen, doch selten, Blutkörperchen, zerfallenes Nierenepithel.

2b. Chronische hämorrhagische Nephritis. (Weigerts rote oder bunte Niere.) Häufiger als die große weiße Niere.
Harnmenge: Vermindert, 400—800 ccm täglich, doch großen Schwankungen unterliegend.
Spezif. Gewicht: Der Harnmenge entsprechend.
Reaktion: Sauer.
Farbe, Aussehen und Sediment, sowie Eiweißgehalt: Häufig nicht unerheblicher Blutgehalt. Bei fehlendem oder sehr geringem Blutgehalte Harn hellgelb, spärliches, blaßgelbes oder rötliches Sediment. Beschaffenheit wie bei 2a, nur mehr rote Blutkörperchen. Hyaline und granulierte Cylinder, auch bei tödlicher Form Wachscylinder. Eiweißgehalt geringer als bei akuter Nephritis. Zu Zeiten stärkerer Blutausscheidung Harn braunrot, schmutzigbraun, trüb, beim Stehen fleischwasserfarben. Sediment reichlich, Harnmenge vermindert, Eiweißgehalt mäßig, spezif. Gewicht etwas vermindert. Zahlreiche Cylinder, dicht mit roten Blutkörperchen besetzt, bei letalem Ausgange auch Wachscylinder. Blutkörperchen, meist ausgelaugt, Leukocyten, reichlich Nierenepithelien, frei und Cylindern aufgelagert, dann wie bei 2a Fettkörnchen usw.

3. Schrumpfniere. a) Sekundäre, aus der chronischen Nephritis durch das Zugrundegehen vieler Harnkanälchen, die durch Bindegewebe ersetzt werden, das in schrumpfendes Narbengewebe übergeht.
Harnmenge: Nimmt zu, ist etwas vermehrt bis 2000 ccm täglich.
Spezif. Gewicht: Niedrig, 1,008—1,012.
Farbe, Aussehen: Hellgelb, trüb.
Eiweißgehalt: Wird ein geringerer; hoher Eiweißgehalt spricht gegen den Übergang zur Schrumpfniere; Steigen gegen das Lebensende beim Sinken der Harnmenge.
Sediment: Reichlich, flockig, weißgrau. Reichlich Eiweißkörnchen, viel verfettete Zellen, Fettkörnchencylinder, mit Epithel belegte Cylinder, zuweilen rote und weiße Blutkörperchen.

b) Genuine, primäre Schrumpfniere, ist ganz verschieden von der sekundären.
Harnmenge: Sehr reichlich, 2—3½ L., oft 6—8 L. im Tag, gegen das Ende vermindert.
Spezif. Gewicht: Niedrig. 1,005—1,012, zuletzt wie Stauungsharn.
Reaktion: Schwach sauer.
Farbe, Aussehen: Blaß bis hellgelb, später bei Erlahmung der Herzkraft dunkler mit nur geringem, grauweißem, mehlartigem Sediment, dieses auch fehlend.
Eiweißgehalt: Gering, oft nur Spuren; kann auch zeitweise fehlen; spezif. Gewicht und Eiweiß beim Nachtharn geringer als beim Tagharn. Häufigere Untersuchung!
Sediment: Gering. Wenig hyaline Cylinder, spärliche Fettröpfchen, vereinzelte Nierenepithelien, frei und auf Cylindern; hin und wieder weiße und rote Blutkörperchen, Harnsäure, oxalsaurer Kalk.
Bei Bleischrumpfniere Wachscylinder, granulierte, breite Cylinder, Harnsäure.

4. Stauungsniere.
Harnmenge: Verringert, 300—500 ccm in 24 Std.
Spezifisches Gewicht: Erhöht bis zu 1,030.
Reaktion: Sauer.

Farbe und Aussehen: Rotgelb, dunkel, viel Farbstoff.
Eiweißgehalt: Gering, mäßig, bei stark gesunkener Herzkraft oft erheblich.
Sediment: Vorwiegend harnsaure Salze, rötlich, reichlich, selten gering; hyaline Cylinder, selten verfettet, Cylindroide, Epithelien, Leukocyten, vereinzelt rote Blutkörperchen. Verfettete Nierenepithelien fehlen.

5. Amyloidniere.
Harnmenge: Meist normal, doch auch schwankend, teils stark vermindert, aber auch wieder stark vermehrt (bis zu 3 L. im Tag). Verminderung bei fortgeschrittenem Zustand, bei Amyloid- und Schrumpfniere zugleich Vermehrung.
Spezifisches Gewicht: Unterliegt ebenfalls großen Schwankungen, bald hoch, bald niedrig, 1,003—1,020 und mehr.
Reaktion: Sauer.
Farbe und Aussehen: Blaß, auch wieder stark pigmentiert, klar, mit spärlichem Sediment, wie bei der genuinen Schrumpfniere.
Eiweißgehalt: Verschieden, bald gering und fehlend, bald sehr erheblich; bedeutender und wechselnder Eiweißgehalt neben geringem Sediment sehr kennzeichnend.
Sediment: Im geringen Sediment Cylinder verschiedener Art, wenig hyaline, auch körnige und Wachscylinder. Amyloidreaktion der Cylinder (Zusatz von Methylviolettlösung zum Präparat — Amyloid wird rot) negativ. Weiße Blutkörperchen spärlich, selten rote.

Darstellung und Trennung des Albumins vom Globulin siehe bei der quantitativen Bestimmung.

Eigenschaften

A) des Albumins.

Im Harne bei Albuminurie auftretendes Albumin ist Serumalbumin; es ist wohl das Vorkommen mehrerer Albumine, mindestens von zwei Eiweißstoffen, im Blutserum anzunehmen. Das bei 40° oder im Vakuum eingetrocknete Albumin stellt eine schwach durchscheinende, spröde, gelbe Masse dar, die sich in Wasser zu einer filtrierbaren Flüssigkeit löst; die reinen Lösungen des Albumins sind neutral; in Alkohol ist das Albumin unlöslich und fällt beim Versetzen einer Albuminlösung mit Alkohol als flockiger, jedoch wieder in Wasser löslicher Niederschlag aus, wenn er nicht längere Zeit mit Alkohol stehen bleibt, wobei die Löslichkeit vermindert und sogar aufgehoben wird. Löslich ist das Albumin in verdünnten und konzentrierten Lösungen neutraler Alkalisalze, in verdünnter und konzentrierter Magnesiumsulfatlösung, worin Serumglobulin unlöslich ist. Dagegen wird das Albumin, wie alle Proteinsubstanzen durch Ammoniumsulfat ausgesalzen. Durch Halbsättigung der Lösung mit Ammoniumsulfat werden die Albumine nicht gefällt. Bei saurer Reaktion werden die Fällungsgrenzen herabgedrückt.

Die spezifische Drehung des Albumins beträgt $-62{,}6^0$ bis $64{,}59^0$ (Starke), nach anderen -57^0 bis 64^0. Eine schwach angesäuerte Albuminlösung gerinnt beim Erhitzen bei etwa 60^0 und scheidet bei 72—75^0 das Eiweiß vollständig in Flocken aus. Durch verdünnte Säuren, auch durch Essigsäure, wird es weder gefällt noch verändert, dagegen durch konzentrierte Mineralsäuren, namentlich Salpetersäure, ausgeschieden unter langsamer Umwandlung in Acidalbumin; durch ver-

B) des Globulins.

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, frisch gefällt löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen (Chlornatrium-, Magnesiumsulfatlösungen), fällt aber beim Erhitzen oder Zusatz von Wasser aus diesen Lösungen aus. Ferner wird das Globulin auch aus Lösungen bei deren Sättigung mit Ammoniumsulfat oder Magnesiumsulfat ausgeschieden; während Serumalbumin in letztgenannter Salzlösung gelöst bleibt, wird das Globulin beim Halbsättigen der Lösung mit Ammoniumsulfat bereits abgeschieden. Wird aus der Globulinlösung das Salz durch Dialyse entfernt, dann fällt Globulin besonders nach sehr vorsichtigem Zusatz von Essigsäure aus, das aber in Salzlösungen löslich ist. Globulin löst sich zum Unterschiede von Mucin in Essigsäure nicht. Die Globuline verhalten sich wie Säuren und reagieren auch gegen Lackmus sauer.

Die spezifische Drehung in einer verdünnten Salzlösung beträgt $-47{,}8^0$. Durch verdünnte Säuren, auch Kohlensäure, wird es in Acidalbumin, durch stärkere alkalische Lösungen in Alkalialbuminat umgewandelt; in verdünnter Sodalösung und in verdünnter Ätzalkalilösung löst sich das Globulin; aus diesen Lösungen wird es durch Säuren, auch durch Kohlensäure (Vulpius) unverändert, jedoch unvollständig wieder gefällt. Beim Erhitzen koagulieren die

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	
A) des Albumins.	B) des Globulins.
dünnte Alkalien wird es langsam, rascher durch konzentrierte 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). Gefällt wird das Albumin durch Gerbsäure, durch die Salze der schweren Metalle (Quecksilberchlorid, essigs. Bleioxyd).	Globulinlösungen in 5—10%iger Chlornatriumlösung ebenfalls; das Globulin gerinnt bei 75°, während bei 60° noch keine Trübungen eintreten. Aus seinen Lösungen wird das Globulin im Gegensatze zum Serumalbumin durch Äther gefällt. Das Fibrinogen, das mit Globulin zusammen vorzukommen scheint, zeigt im allgemeinen die Eigenschaften der Globuline, es unterscheidet sich vom eigentlichen Globulin dadurch, daß eine Lösung von Fibrinogen in Salzwasser bei 52—55°, in der gerade ausreichenden Menge Alkali bei 56—58°, gerinnt, wobei durch Kochen der Niederschlag wieder zu Protein gelöst wird. In Salzlösung ist die Ablenkung – 52,5° (Mittelbach). Fibrinogen wird durch das Fibrinferment zu Fibrin.

Qualitativer Nachweis.

Bei den im nachstehenden mitgeteilten Eiweißprüfungen werden stets Albumin und Globulin zusammen bestimmt, da ja beide die gleichen Reaktionen geben und für klinische Zwecke eine Trennung belanglos erscheint. Eine scharfe Grenze zwischen Globulinen und Albuminen läßt sich nicht ziehen; Serum-Albuminlösung mit bestimmter schwacher Alkalescenz auf + 56° erwärmt, ohne zu gerinnen, nimmt mehr oder weniger stark unter Schwefelverlust gewisse Eigenschaften der Serumglobuline an. A. W. Sikes fand, daß beim Stehen eiweißhaltiger Harne der Gehalt des Albumins fällt, während der des Globulins zunimmt, so daß ein direkter Übergang des Albumins in Globulin angenommen werden kann. Es handelt sich hier nur um eine Änderung der äußeren Eigenschaften der Albumine zu größerer Ähnlichkeit mit der der Globuline und nicht um einen wahren Übergang des glykokollfreien Albumins in glykokollhaltiges Globulin (O. Hammarsten).

Bedingungen für den Nachweis des Eiweißes und der Albuminurie.

1. **Jeder Harn ist vor der Prüfung auf seine Reaktion mit Lackmus genau zu prüfen. Der zur Verwendung kommende Harn muß schwach sauer reagieren. Man verwende stets die altbewährten klassischen Proben (1—3) und daneben oder als Vorprobe eine der scharfen Proben, z. B. die Sulfosalicylsäureprobe. Man verfahre wie S. 421 empfohlen, man wird dann stets zu einem sicheren Ziele kommen.**
2. **Jeder nur die allergeringste Trübung aufweisende Harn muß zentrifugiert oder sedimentiert und das Sediment einer genauen mikroskopischen Untersuchung unterzogen werden, da die Ergebnisse der mikroskopischen Prüfung (Epithelien, Cylinder, Bakterien, Blut, Fett) von der größten diagnostischen Bedeutung sein können und zur Bestätigung des chemischen Befundes ganz wesentlich beitragen, ja in nicht seltenen Fällen allein imstande sind, uns da Aufschlüsse zu geben, wo der chemische Befund Zweifel aufkommen lassen kann. Ich mache nur darauf aufmerksam, daß das Ergebnis der mikroskopischen Prüfung uns auch nicht selten in den Stand setzen kann, eine Albuminurie von physiologischer usw. zu unterscheiden, abgesehen davon, daß nur das Ergebnis einer einwandfreien Untersuchung dem Arzte wervoll sein kann. Siehe bei Quecksilber.**

3. Der Harn muß klar sein, damit nicht Spuren von Eiweiß, die sich nur durch eine leichte Trübung anzeigen, entgehen, da manchmal diagnostisch die geringste Menge Eiweiß Bedeutung haben kann und es in bestimmten Fällen auf den Nachweis ganz geringer Mengen (Opalisieren) ankommt (bei Schrumpfniere). Ist der Harn trübe, so zentrifugiere man ihn und filtriere dann nötigenfalls mehrmals durch Filtrierpapier, am besten durch ein gereinigtes sog. Analysenfilter oder durch Asbest. Sollte der Harn nicht vollkommen klar werden, besonders bei bakterientrübem ist dies der Fall, dann gibt man in zwei gleich weite Reagenzgläser gleiche Mengen Harn, nimmt in dem einen Glase die Reaktion vor und vergleicht dieses mit dem Inhalte des Glases mit dem ursprünglichen Harne. Ein Behandeln mit Entfärbungsmitteln und Klärmitteln (Tierkohle, Magnesia usta, Kreide, Talkum, Tripelerde, Bleisuperoxyd, Kieselgur) ist nicht zu empfehlen, da nach den von verschiedener Seite gemachten Versuchen hiebei nicht nur Spuren, sondern sogar ganz bedeutende Eiweißmengen (30—90%) entfernt werden können. E. Deroide und Oui schlagen vor, Harne durch die kleinen Chamberlandschen Filter, sog. Kitasato-Filter, zu filtrieren. Selbst beim Filtrieren durch Papier ist das Filtrat etwas eiweißärmer, da Eiweiß vom Papier absorbiert wird. Harn, der fein suspendierte Fetttröpfchen enthalten sollte (bei Lipurie und Chylurie), wäre durch Ausschütteln mit Äther zu klären.
4. Sehr konzentrierter, sog. hochgestellter Harn ist mit dem gleichen oder dreifachen Volumen Wassers zu verdünnen, da einerseits die beim Ansäuern ausfallende Harnsäure die Erkennung von Eiweiß erschwert oder dieses vortäuschen könnte, andererseits bekannt ist, daß z. B. die Hellersche Probe, die Ferrocyankaliumessigsäureprobe durch Phosphate u. dergl. beeinträchtigt werden können. Schön scheidet sich das Eiweiß bei der Kochprobe aus, wenn man den Urin statt mit Wasser mit dem doppelten Volumen 5%iger Kochsalzlösung verdünnt, da der Eiweißniederschlag durch Zusatz von Salzen sich verstärkt; auch bei vorhandener Polyurie empfiehlt sich dieser Kochsalzzusatz zum Harn. Für die Hellersche Probe und für die Ferrocyankaliumessigsäureprobe verdünnt man mit Wasser, da hier bei diesen Proben der reichliche Salzgehalt wieder stört.
5. Auch sehr kalter Harn kann bei der Prüfung mit Salpetersäure (bei der Hellerschen Probe) die eben angegebene Erscheinung zeigen; daher erwärmt man kalten Harn durch Einstellen in Wasser erst auf die Normaltemperatur.
6. Man muß schließlich sicher sein, daß der zu untersuchende Harn frei ist von eiweißhaltigen Verunreinigungen (Menstrualblut, Sputum, Samen usw.).
7. Man prüfe auch, was nicht selten notwendig wird, den zu verschiedenen Tageszeiten gelassenen Harn, sowie den nach Ruhe, wie wieder nach gewissen Anstrengungen (Spaziergang, Bergsteigen) entleerten Harn getrennt (s. Methode Rössler).

Von den zur Anwendung kommenden Reaktionen unterscheidet man Reaktionen mit Lösungen, Reaktionen auf trockenem Wege und Farbenreaktionen.

1. Reaktionen mit Lösungen.

Auf die bei der Ausführung der Proben in Betracht kommenden Vorsichtsmaßregeln ist bei der Besprechung und Beurteilung jeder einzelnen Probe aufmerksam gemacht.

Daß bei jedem Kranken eine Prüfung des Harnes auf Eiweiß zu erfolgen hat, soll nebenbei bemerkt werden; eine Krankenuntersuchung ohne Beachtung des Harnbefundes, besonders der Eiweißprobe, ist unvollständig; nur durch eine sorgfältige Prüfung (auch mit dem Mikroskope) wird man in den Stand gesetzt werden, Nierenstörungen im Anfangsstadium zu erkennen oder deren Entwicklung von leichter Albuminurie z. B. zur Schrumpfniere usw. verfolgen zu können (Hildebrandt).

1. Kochprobe. Fällung als koaguliertes Eiweiß.

Diese Probe stammt nach E. Ebstein von F. Dekkers in Leyden vom Jahre 1694.

Man erhitzt 5—10 ccm Harn, der sauer reagieren muß — neutraler oder alkalischer Harn muß durch sehr vorsichtigen Zusatz von Salpetersäure ganz schwach sauer gemacht werden, es darf aber kein Überschuß an Salpetersäure vorhanden sein, aus alkalischem Harne fällt das Eiweiß beim Kochen nur als schwach milchige Trübung, nicht aber als Koagulum oder in Form derberer Flocken —, in einem Reagenzglase, am zweckmäßigsten nach Zusatz

einiger Kubikzentimeter gesättigter Kochsalzlösung, allmählich zum Kochen und gibt, ob ein Niederschlag beim Kochen allein entstanden ist oder nicht, 10—20 Tropfen reiner 25%iger Salpetersäure hinzu und schüttelt um. Entsteht ein flockiger Niederschlag — feine Eiweißflöckchen schwimmen manchmal oben —, so ist Eiweiß anwesend, das rein weiß oder gefärbt sein kann (durch Gallenfarbstoff grünlich, durch „Indican" rotviolett, durch Blut rot bis braun). Nach dem Zusatz der Salpetersäure darf nicht mehr erhitzt werden, da sich sonst das ausgeschiedene Eiweiß unter teilweiser Zersetzung zum Teil wieder lösen würde.

Wenn man neben die gekochte Probe die gleiche Menge von dem filtrierten, nicht erhitzten Harne hält, so können bei diesem Vergleiche, zumal wenn man die Reagenzgläser gegen einen dunklen Hintergrund hält, noch vorher unbemerkbar gewesene Spuren einer Eiweißausscheidung erkannt werden.

Von A. Lespinasse wird aufmerksam gemacht, daß z. B. der Nachweis von Eiweiß im Harne in den Kolonien, wo die Europäer täglich Chinin als Medikament einnehmen, nur durch die Kochprobe erbracht werden kann.

Es wird auch empfohlen, das zu zwei Drittel mit Harn gefüllte Reagenzglas im oberen Drittel zu erhitzen; der untere kalt gebliebene Teil des Glasinhaltes dient zum Vergleichen. F. Engels.

Beurteilung und Bemerkungen.

Bei Beobachtung der angegebenen Vorsichtsmaßregeln gute und sichere, wohl die populärste Probe; 0,04—0,03‰ Eiweiß nachweisbar.

Den Wert dieser Probe, wie auch den anderer älterer Verfahren zum Nachweis von Eiweiß beleuchtet eine wertvolle Mitteilung von Droste.[1])

Zum Ansäuern neutraler oder alkalischer Harne darf Essigsäure wegen Bildung von Acidalbumin, das dann beim Kochen nicht gerinnt, nicht verwendet werden.

Entsteht beim Kochen direkt ein Niederschlag, so kann dieser koaguliertes Eiweiß sein oder er kann aus Erdphosphaten bestehen, die in schwach saurem oder alkalischem Harne beim Kochen ausfallen; durch die Säure werden die Erdphosphate gelöst, vorhandenes ausgeschiedenes Eiweiß wird noch kompakter. Zu wenig zugesetzte Salpetersäure kann Eiweiß in Lösung halten; weiterer Zusatz fällt es aus. Man hat von einer 25%igen Salpetersäure auf je 1 ccm des verwendeten Harnes 1—2 Tropfen je nach dem Eiweißgehalt zuzusetzen.

Besonders bei dieser Probe ist, zumal wenn ein salzarmer oder auch ein konzentrierter und hyperacider Harn vorliegt, der Zusatz einer Kochsalzlösung für die Eiweißausscheidung sehr förderlich; solche Harne geben öfters erst nach Zusatz von Kochsalzlösung eine Eiweißausscheidung (Heynsius).

Eiweißspuren können sich dem Nachweise entziehen, da die Salpetersäure Acidalbuminat löst; deswegen ist diese Probe stets durch eine weitere zu kontrollieren.

Die durch Essigsäure fällbaren Substanzen, die sich beim Kochen des Harnes durch leichte Trübung ausscheiden, werden durch die Salpetersäure in Lösung gehalten. (Unterscheidung von anderen Eiweißstoffen.)

Die Anwesenheit dieser läßt sich leicht erkennen, wenn man besonders den verdünnten Harn mit Essigsäure ansäuert.

Das Mucin, der Schleim, scheidet sich beim schwachen Ansäuern des Harnes mit 30%iger Essigsäure als meist schwache wolkige Trübung aus, die sich auf weiteren Zusatz von Essigsäure zu lösen beginnt.

Die sog. mucinähnliche Substanz (fälschlich Nucleoalbumin) scheidet sich beim kräftigen Ansäuern des Harnes mit 96%iger Essigsäure als flockiger Niederschlag, allmählich entstehend, aus.

Entsteht bei der Kochprobe der Niederschlag nicht sofort, sondern allmählich, so ist Albumin nicht zugegen, es sind dann „Albumosen" vorhanden; dieser Niederschlag löst sich wieder beim

[1]) Pharm. Centralh. 1915. **56.** 739.

Kochen; entsteht eine Fällung schon bei etwa 50° und löst sich diese bei weiterem Kochen, tritt beim Abkühlen aber wieder auf, so ist auf den Heller-Bence-Jonesschen Eiweißkörper (s. d.) zu prüfen.

Auch eiweißfreier Harn kann getrübt erscheinen bei innerlicher und äußerlicher Anwendung von Harzen, Balsamen (Terpentin, Benzoe, Copaiva-, Peru-, Tolubalsam, Cubeben, Storax, Santelholzöl, Petroleum); Alkoholzusatz — erst nach dem Erkalten der Probe zusetzen — läßt die Trübung verschwinden.

Harnsäurereicher Harn kann, meist aber erst nach dem Erkalten, einen mit Eiweiß aber nicht zu verwechselnden Niederschlag ausscheiden. Prüfung dieses Niederschlages unter dem Mikroskope!

Diese Kochprobe kann auch unter Verwendung von Essigsäure vorgenommen werden; zu 10 ccm Harn gibt man nach dem Erhitzen 2—3 Tropfen einer etwa 10%igen Essigsäure. In dieser Abänderung wird die Probe vielleicht lieber vom Arzte beim Besuche der Kranken vorgenommen; auch verursacht Essigsäure nicht die gelben Flecken an den Fingern. Die Kochprobe mit Salpetersäure ist aber vorzuziehen, da man mit dem Zusatz der Essigsäure sehr vorsichtig sein muß (der geringste Überschuß von Essigsäure löst Eiweiß); auch die Unterscheidung des Mucins vom Eiweiß wird unmöglich gemacht, da Essigsäure die Mucintrübung nicht wie die Salpetersäure löst; beim Erhitzen wird sogar die Mucintrübung noch stärker und flockiger. Endlich kann unter Umständen die Essigsäure ausgeschiedene Phosphate nicht vollständig lösen, da sich ein bei Siedetemperatur gebildetes Dicalciumphosphat in Essigsäure nicht vollständig oder sehr langsam löst (de Jager).

J. Bang[1]) bevorzugt die Probe mit Essigsäure, vor allem die Prüfung mit der Sörensenschen Azetat-Essigsäuremischung, die der hier wichtigen Wasserstoff-Ionenkonzentration Rechnung trägt.

Das Reagens besteht aus 56,5 ccm Eisessig und 118 g Natriumacetat, zusammen mit Wasser zu 1 Liter gelöst.

10 ccm Harn und 1 ccm Reagens werden in einem Proberöhrchen zum Kochen erhitzt und ½ Minute gekocht. Wenn mehr als Spuren Eiweiß vorhanden sind, entsteht ein feinflockiger Niederschlag. Bei Spuren von Eiweiß (0,05—0,1‰) opalisiert der Glasinhalt nur; nach einigen Minuten wird ein feinflockiger Niederschlag ausgeschieden. Wenn man die Flüssigkeit nach dem Stehen wieder ein paar Minuten kocht, tritt die Koagulation sofort ein. Als Vorteil wird hervorgehoben, daß man immer einen positiven Ausschlag erhält, wenn eine übernormale Eiweißmenge vorliegt, daß man keine Ausfällung der Phosphate und Urate zu befürchten hat.

Als neu empfohlen (Z. Bychowsk) wird die aber schon lange gekannte Modifikation der Kochprobe oder Koagulationsprobe, die darin besteht, daß man Harn entweder tropfenweise oder in einer Menge von 10—20 ccm in siedendes Wasser unter Zusatz einer Spur Essigsäure eintropfen läßt. Bei eiweißhaltigem Harne entsteht eine opalisierende, rauchwolkenähnliche Trübung.

E. Dufau versetzt 10 ccm Harn mit 1 ccm einer Lösung von 250 g Natriumcitrat und 50 g 90%igem Alkohol: 1 Ltr. und erhitzt. Phosphate fallen nicht aus.

Nach de Jager[2]) kann ein eiweißfreier Harn ein positives Resultat geben, während ein eiweißhaltiger ein negatives Ergebnis zeitigt, wenn kein Kalk und keine freie Säure oder wenn zuviel Kalk vorhanden ist; die Ursache des Mißlingens ist in allen Fällen das Calciumphosphat; es wird empfohlen, 10 ccm Harn mit 2 ccm 10%iger Kaliumoxalatlösung auszufällen, zu filtrieren und dann das klare Filtrat zu kochen. Ein Niederschlag beweist die Gegenwart von Eiweiß. Beim Klarbleiben der Probe säuert man eine neue Probe des Filtrates mit Essigsäure an und kocht. Tritt auch jetzt keine Trübung oder Niederschlag auf, so ist kein Eiweiß vorhanden.

2. J. F. Hellersche Probe.[3]) Die Salpetersäureunterschichtungsprobe. Fällung als Acidalbumin.

Heller machte 1852 die Salpetersäureunterschichtungsprobe im Likörglas bekannt; unter der Hellerschen Probe auf Eiweiß ist also die sog. Likör- oder Schnapsglasprobe zu verstehen, wie sie besonders an der Leipziger medizinischen Klinik unter Curschmann bevorzugt wurde. (E. Ebstein a. a. O.).

Man füllt in ein Reagenzglas ungefähr 5 ccm reine konz. Salpetersäure und schichtet vorsichtig mit einer Pipette die gleiche Menge klaren Harn so darauf, daß sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Bei Anwesenheit von Eiweiß entsteht an der Berührungsstelle ein nach beiden Seiten scharf begrenzter Ring (besser gesagt

---

[1]) a. a. O.

[2]) Tijdschr. v. Geneesk. 1909. Nr. 7. Pharm. Centrlh. 1910. **51.** 174; Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **62** 333.

[3]) Archiv physiol. u. pathol. Chem. u. Mikrosk. 1852. **5.** 161.

eine Scheibe) in Form einer weißen Trübung, die bei größerem Eiweißgehalte sofort, bei geringerem nach einigen Minuten entsteht — man läßt das Röhrchen deshalb immer etwa 2 Minuten stehen — und dann leicht erkannt wird, wenn man das Röhrchen gegen einen dunklen Hintergrund (dunklen Rockärmel) hält. (Hellersche Ringprobe, Ringprobe von Biltz.)

Ich möchte hier bemerken, daß von der Firma Franz Hugershoff in Leipzig, Carolinenstraße 13, Reagenzgläser in verschiedener Größe mit einer weißen oder schwarzen Rückwand zum leichten und schnellen Erkennen feinster Farbenumschläge, deutlicher Bilder bei Zonenreaktionen usw. verfertigt werden.

Beurteilung.

Diese Probe ist empfindlich und zuverlässig (0,02‰ Eiweiß nachweisbar), wenn man die Vorsichtsmaßregeln nicht außer acht läßt. Erhält man innerhalb 2—3 Minuten keine Reaktion, so enthält der untersuchte Harn jedenfalls weniger als 0,003% Eiweiß.

Beim Vorhandensein eines konzentrierten uratreichen Harnes kann durch diese Urate eine ringförmige, mehr diffuse 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 konzentrierten Harnes (1:2 oder 2:3) wird dieser Erscheinung abgeholfen.

In sehr konzentrierten harnstoffreichen Harnen kann sich salpetersaurer Harnstoff, der aber deutlich krystallisiert (glitzernde Krystalle), absetzen; durch Verdünnen des Harnes wird auch diese Abscheidung beseitigt. Wenn eine geringe Harnmenge und hohes spezifisches Gewicht vorliegen, verwendet man besser gleich den mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnten Harn.

Auftretende farbige Ringe (von Gallenfarbstoff, von Indigo, von Urorosein herrührend) haben mit der Eiweißreaktion nichts zu tun und können auch nicht verwechselt werden, da die Trübung fehlt.

Es kommt vor, daß Harn bei der Probe sich rot färbt; dies kann auf einen höheren Gehalt des Harnes an Farbstoffen, Urorosein oder auf Farbstoffe aus der Indigogruppe schließen lassen.

Harn mit echtem Mucin gibt einen opalisierenden, keinen scharf begrenzten, über der Grenzschicht gelegenen Ring, auch Mörnerscher Ring genannt, der sich aber beim Umschütteln löst; auch Nucleohistone lösen sich wieder. Erhält man mit dem unverdünnten Harne erst nach einiger Zeit eine schwache, nicht ganz typische Reaktion, mit dem verdünnten Harne aber sofort eine deutliche, dann ist die Anwesenheit der früher als sog. Mucin und Nucleoalbumin bezeichneten Substanz, also der mucinähnlichen erwiesen, die um so vollständiger durch Salpetersäure ausgefällt wird, je verdünnter der Harn ist; Eiweiß wird im Gegensatz hiezu durch Zusatz von Salzen bekanntermaßen noch vollständiger und leichter abgeschieden. Albumosen werden ebenfalls gefällt, dagegen ist die Kochprobe negativ.

Nach Anwendung von balsamischen Stoffen (Copaiva, Tolubalsam, Santelöl, bei längerem Gebrauch von Tinct. Myrrhae usw.) entsteht auch ein weißlicher Ring, von Harzsäuren herrührend, der beim Schütteln mit Alkohol verschwindet (Vorsicht! Gasentwicklung!). Man macht lieber die Kochsalzprobe (s. diese) und hier den Alkoholzusatz.

Man kann die Harzsäuren durch Äther (leichtes Umschütteln) lösen und den abgehobenen Äther verdunsten; der Rückstand ist klebrig.

Nach Weinberger kann Thymol, das dem Harne zur Konservierung zugesetzt ist, zu Täuschungen Anlaß geben, da es wie Eiweiß einen Ring bildet; auch Thymol in Form von gepaarten Säuren gibt Ringbildung. Thymol läßt sich durch Schütteln mit Petroläther entfernen.

F. Sachs[1]) führt die Probe auf einem auf dunkler Unterlage befindlichen Objektträger aus; er bringt einen Tropfen Harn neben einen Tropfen Salpetersäure; bei der Vereinigung der Tropfen beobachtet man bei stärkerem Eiweißgehalt des Harnes augenblicklich, bei geringem Gehalte von Eiweiß nach kurzer Zeit einen dichtweißen, grauen oder grünlichblauen Schleier in der Halbkugel. Mit der Deutung der Reaktion hat man aber vorsichtig zu sein.

F. Engels[2]) läßt in den Fällen, wo man unsicher ist, eine feine Pipette etwa 2 cm tief in konz. Salpetersäure tauchen und sie alsdann, mit dem Daumen verschlossen, mindestens 4—5 cm tief in den Harn tauchen, worauf man durch Entfernen des Daumens den Harn in die Pipette treten läßt; bei vorhandenem Eiweiß sieht man eine milchig getrübte Säule inmitten des klaren Harnes.

Zur Vornahme der Hellerschen Schichtprobe hat L. Steiner einen Apparat konstruiert, in dem das vorsichtige Überschichten der Salpetersäure mit Harn erfolgt. Der Apparat ist von der Firma F. Hugershoff in Leipzig zu beziehen.

---

[1]) Deutsch. med Wochenschr. 1907. **33.** 66; Münch. med. Wochenschr. 1917. **64.** 221.
[2]) Ebenda. 1909. **35.** 2063.

E. Deiters, Prätorius, Lipp, Blum, E. Hesse empfehlen Vorrichtungen zur Vornahme der Prüfung in ganz kleinen Gläsern usw.

F. Michel[1]) verwendet als Reagens bei dieser Ringprobe Salpetersäure (1,4 spez. Gew.), die mit Ammoniumnitrat gesättigt ist.

A. Aufrecht[2]) schichtet auf 10 ccm einer gesättigten, mit etwa 5 Tropfen konz. Salpetersäure versetzten Chlornatriumlösung den klar filtrierten Harn. Bei Anwesenheit von Eiweiß tritt ein scharf begrenzter Ring ein. P. Godfrin nimmt als Reagens gesättigte Kochsalzlösung (100 ccm) und 50%ige Phosphorsäure (10 ccm).

3. Probe mit Ferrocyankalium-Essigsäure nach C. B. Detlev Boedeker, 1859.

Die Probe beruht auf der Bildung einer unlöslichen Verbindung von Ferrocyanwasserstoffsäure und Eiweiß.

10 ccm des Harnes versetzt man bis zur stark saueren Reaktion mit 30%iger Essigsäure (5 Tropfen) — tritt jetzt schon eine Fällung (Urate, Oxalate, durch Essigsäure fällbare Substanz usw.) ein, so filtriert man diese ab — und fügt nach und nach einige Tropfen (1 bis 3 Tropfen, Überschuß wirkt lösend) Ferrocyankaliumlösung (1:20) hinzu; bei Gegenwart von Eiweiß scheidet sich ohne jede Erwärmung ein gelblich-weißer, feinflockiger Niederschlag aus; bei ganz geringem Eiweißgehalt tritt die Trübung oder eine leichte Opalescenz erst nach einigen Minuten ein. In sehr konzentriertem Harne erscheint der Niederschlag manchmal erst beim Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wassers, weil er in starken Salzlösungen in Spuren löslich ist. Doch sind undeutliche, erst nach einigem Stehen auftretende Trübungen nicht als Eiweiß zu betrachten.

Man kann die Reaktion auch in der Weise ausführen — und diese Ausführungsweise empfiehlt sich —, daß man einige Kubikzentimeter verdünnter Essigsäure mit wenigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung versetzt und auf diese Mischung den Harn vorsichtig schichtet (Glaser). Eine ringförmige Trübung, wie bei 2., zeigt selbst sehr geringe Mengen Eiweiß an.

Beurteilung.

Ist eine empfindliche und zuverlässige Probe; durch Ringprobe noch 0,01‰ Eiweiß nachweisbar. Konzentrierte Harne verdünnt man.

Man beachte, daß ja eine saure Reaktion nach Zusatz von Essigsäure vorhanden ist, da eine alkalische, neutrale oder schwach saure Reaktion trotz vorhandenem Eiweiß das Eintreten der Reaktion verhindern kann.

Der Heller-Bence-Jonessche Eiweißkörper (s. d.) fällt ebenfalls aus; bei Gegenwart von der hinreichenden Menge Essigsäure löst er sich beim Erwärmen und scheidet sich beim Erkalten wieder aus.

„Albumosen" und die durch Essigsäure fällbaren Substanzen geben auch Niederschläge. Letztere machen sich bei Anwesenheit größerer Mengen schon durch eine Trübung nach Zusatz von Essigsäure bemerkbar; in geringer Menge vorhanden, scheiden sie sich allmählich aus. Man filtriert sie ab.

Die Albumosenniederschläge lösen sich in der Wärme in viel Essigsäure, mit Ausnahme der Heteroalbumose auch in Neutralsalzlösungen (Chlornatrium).

Endlich verwechsle man nicht ein aus konz. Harn nach Essigsäurezusatz sich ausscheidendes Uratsediment, das auch hell gefärbt sein kann, mit den Albumosen, die sich bei stärkerem Erwärmen lösen, während die Uratsedimente schon bei Bluttemperatur in Lösung gehen; übrigens geben auch die mikroskopische Prüfung und die Murexidprobe der Fällung Aufschluß.

---

[1]) Chem. Ztg. 1911. 35. 183.
[2]) Pharm. Ztg. 1917. 62. 38.

Man hätte noch daran zu denken, daß eine weiße Trübung oder Ringbildung unter Umständen durch Zink (aus Gefäßen oder dergl.) veranlaßt sein könnte.

An Stelle von Ferrocyankalium hat Mya Nitroprussidnatrium empfohlen.
Pavy läßt Ferrocyankalium und Citronensäure verwenden.

4. Fällung durch Neutralsalze aus saurer Lösung.

5—10 ccm Harn werden mit Essigsäure (5 Tropfen) bis zur stark sauren Reaktion versetzt, hierauf wird das gleiche Volumen einer gesättigten Natrium- oder Magnesiumsulfatlösung oder mindestens $^1/_6$ Volumen einer gesättigten Kochsalzlösung zugegeben und gekocht. Eiweiß scheidet sich meist in großen Flocken aus (Probe von Heynsius[1]), Panum). Man kann das ausgeschiedene Eiweiß auf einem kleinen Filter sammeln, auswaschen und den Rückstand zur Prüfung mit Millons Reagens oder zu anderen Farbenreaktionen verwenden.

Beurteilung.

Die Probe ist gut, aber weniger empfindlich; mit Hilfe derselben können 0,05‰ Eiweiß nachgewiesen werden; beweisend ist die sofort nach dem Kochen auftretende Fällung oder Trübung. Bei größerem Zusatz von gesättigter Kochsalzlösung entsteht nicht selten schon in der Kälte eine Eiweißausscheidung. Besondere Vorteile bietet die Methode nicht. Etwa ausgeschiedene Harzsäuren werden durch Alkohol gelöst. Wenig Albumin fällt erst beim Kochen; die Albumosen werden durch die hohe Temperatur in Lösung gehalten.

Roberts empfiehlt eine gesättigte Kochsalzlösung mit 5% Salzsäure zum Ausfällen; man kann auch die Reaktion als Ringprobe anstellen, indem man den Harn auf die saure Salzlösung aufschichtet.

5. Probe mit Sulfosalicylsäure (Salicylsulfonsäure) (Roch und J. A. Macwilliam[2]), Koch, Murray).

Man verwendet eine 20%ige wässerige Lösung, gibt einige Tropfen dieser Lösung oder einige Krystalle der Sulfosalicylsäure in einige Kubikzentimeter des sauren Harnes und schüttelt um. Geringe Mengen von Eiweißstoffen werden durch allmählich auftretende Opalescenz, größere durch Trübungen und Niederschläge angezeigt. Man erhitzt endlich noch, damit keine Verwechslung mit Albumosen vorkommt; die Albumosen lösen sich.

Beurteilung.

Die Probe ist eine sehr empfindliche, zuverlässige und einfache, auch am Krankenbette leicht vorzunehmende und ist schon aus diesem Grunde recht zu empfehlen. Von verschiedenen Seiten wird sie als zu empfindliche Probe angesehen.

Bei Anwesenheit sehr geringer Eiweißmengen vergleicht man das Röhrchen mit dem gewöhnlichen Harne wie bei I erwähnt.

„Albumosen" (ausgenommen „Deuteroalbumosen") werden gefällt, lösen sich beim Erwärmen aber auf; ausgeschiedenes Eiweiß bleibt unverändert.

Alkalischer Harn wird mit Essigsäure angesäuert oder es müssen größere Mengen vom Reagens zugegeben werden.

Das Deutsche Arzneibuch V. läßt eine 10%ige Lösung von saurem sulfosalicylsaurem Natron verwenden. Meiner Ansicht nach ist die reine Sulfosalicylsäure vorzuziehen. Steinbrück wendet eine 10%ige Lösung des Salzes an und nimmt die Probe als Ring-Schichtprobe vor.

Bourceau empfiehlt eine Lösung von 3 T. Phenolsulfosäure, 1 T. Sulfosalicylsäure in 20 T. Wasser; zu 1 ccm Harn gibt man 1 Tropfen vom Reagens.

---

[1]) Archiv Physiol. 1875. **10.** 239.
[2]) Brit. med. Journ. 1891. 837.

6. Probe mit Trichloressigsäure.

Man bringt in Harn einen kleinen Krystall von Trichloressigsäure oder gibt einige Tropfen einer 30%igen Lösung zum Harne. Es tritt an der Berührungsfläche entweder des Krystalles oder der Lösung mit dem Harne eine Trübung auf (Grossstern-Fudakowsky, von A. Raabe, von N. Kowalewski wieder empfohlen).

Beurteilung.

Auch diese Probe ist eine sehr empfindliche; in uratreichen Harnen kann ebenfalls eine Trübung entstehen; man wendet deshalb immer verdünnten Harn an.

7. E. Spieglers[1]) Probe in der Abänderung nach A. Jolles.[2])

Die Probe beruht auf der Bildung einer unlöslichen Eiweißquecksilberverbindung.

Man gibt zu 4 ccm des Reagenzgemisches (10 g Quecksilberchlorid, 20 g Bernsteinsäure und 20 g Chlornatrium in 500 ccm Wasser gelöst) 4—5 ccm des nötigenfalls zuerst filtrierten und mit 1 ccm 30%iger Essigsäure angesäuerten Harnes, und zwar in der Weise, daß keine Mischung der beiden Flüssigkeiten eintritt, sondern daß diese übereinander geschichtet bleiben. Bei Eiweißgehalt bildet sich sofort ein deutlicher, scharfer, weißlicher Ring, der besonders schön hervortritt, wenn man das Reagenzglas vor einen dunklen Gegenstand (dunklen Rockärmel) hält. Bei Mengen, die mit Essigsäure und Ferrocyankalium nicht mehr erkannt werden, entsteht der Ring nach ungefähr einer Minute.

Spiegler verwendet als Reagens eine Lösung von 8 g Quecksilberchlorid, 4 g Weinsäure und 20 g Glycerin in 200 ccm Wasser.

Beurteilung.

Diese Probe ist die schärfste, die wir besitzen; in Form der Ringprobe sind noch 0,002‰ Eiweiß nachweisbar; mit dieser Probe wird auch das normal im Harne vorhandene Eiweiß erkannt, so daß Harne die Reaktion häufig geben; nur in Verbindung mit dem Befunde der mikroskopischen Prüfung des Harnes oder eines Sedimentes darf der Ausfall der Probe begutachtet werden. Neuerdings wird sie als allzuempfindliche Probe von verschiedenen maßgebenden Fachgelehrten nicht mehr zur Anwendung empfohlen. Nur ein scharf abgegrenzter deutlicher Ring zeigt Eiweiß an, nicht eine diffuse Trübung oberhalb oder unterhalb der Berührungsstelle. Wenn nach dem Essigsäurezusatz zum Harne eine Trübung von etwa vorhandenen, durch Essigsäure fällbaren Substanzen eintritt, filtriert man nochmals; auch kann man zur Abscheidung der eben genannten Stoffe den Harn (10 ccm) mit einem Tropfen Salzsäure versetzen, filtrieren und über die Quecksilberlösung schichten (Buchner). Jod enthaltender Harn gibt einen Ring (Quecksilberjodid); die Fällung löst sich im Überschusse des Fällungsmittels. Chininhaltiger Harn würde ebenfalls eine Fällung veranlassen. Harn von Europäern in den Kolonien, die täglich Chinin nehmen, ist mit der Kochprobe auf Eiweiß zu prüfen.

„Hemialbumose" gibt auch an der Berührungsstelle einen weißlichen Ring; verschwindet dieser beim Erwärmen und tritt beim Erkalten wieder auf, so haben wir es mit „Albumosen" zu tun, da die Eiweißfällung beim Erwärmen noch intensiver wird. Xanthin wird ebenfalls gefällt, dieses wird aber bei der Hellerschen Probe nicht ausgeschieden.

Nach F. Glaser[3]) ist es oft schwierig, die Flüssigkeiten derartig übereinander zu schichten, daß sie scharf getrennt bleiben, da ihr spezifisches Gewicht nicht sehr verschieden ist; es tritt deshalb manchmal kein scharf begrenzter Ring, sondern eine diffuse Trübung auf; es ist dann wohl zweckmäßiger, den Harn vorsichtig auf das Reagens zu schichten.

---

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1892. **5.** 29; Zentralbl. klinisch. Mediz. 1893. **14.** 49; Berl. Bericht. 1892. **25.** 375.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895. **21.** 306.

[3]) Privatmitteilung.

Bemerkenswert, aber natürlich ist die Tatsache, daß im Harne, der Quecksilberverbindungen und geringe Eiweißmengen enthält, das Quecksilber aus seiner Verbindung durch das Eiweiß ausgefällt sein kann, so daß in solchem Harne, wenn er filtriert zur Quecksilberbestimmung verwendet wurde, Quecksilber gar nicht nachweisbar war. S. beim Nachweis des Quecksilbers.

E. Pollaci[1]) hat die Methode abgeändert und wendet folgendes Reagenzgemisch an:

1 g Weinsäure, 5 g Quecksilberchlorid, 10 g Chlornatrium in 100 ccm destilliertem Wasser und 5 ccm 40%igem Formaldehyd.

Die Probe wird als Ringprobe vorgenommen; es hat aber nur ein sich sofort bildender Ring pathologische Bedeutung, da auch bei normalem Harne im Verlaufe von 8—15 Minuten schwache Ringbildung eintreten kann. Empfindlichkeit 1 : 370000.

Amann verwendet eine Mischung von 10 g Quecksilberchlorid, 20 g Bernsteinsäure, 10 g Chlornatrium, 50 ccm Eisessig, 200 ccm Wasser und 250 ccm 90%igen Alkohol. Fürbringer, O. Mayer haben Citronensäure bei ihren Reagenzien. Nach Amand N. Ravold werden 20 g Quecksilberchlorid, 40 g Bernsteinsäure, 40 g Chlornatrium in 500,0 g Wasser gelöst und dieser Lösung noch 50 g einer gesättigten filtrierten Magnesiumsulfatlösung zugesetzt. Schichtprobe anstellen!

Außer diesen im vorstehenden angegebenen Methoden sind noch eine große Anzahl anderer Proben empfohlen, die im folgenden kurze Erwähnung finden sollen.

8. Fällung durch Metaphosphorsäure.

Versetzt man Harn mit einer konz. frischen Lösung von Metaphosphorsäure oder am besten mit einem erbsengroßen Stückchen Metaphosphorsäure, so entsteht bei Anwesenheit von Eiweiß ein weißer Niederschlag oder eine Trübung (Berzelius, W. C. Grigg, H. Dillner, C. Hindelang.[2])

L. Blum verwendet als Reagens eine Lösung von 10 g Metaphosphorsäure in 95 ccm Wasser, zu der noch 2—3 g Bleisuperoxyd und 0,05 g Manganchlorür in verd. Salzsäure gelöst zugesetzt werden.

Beurteilung.

Die Reaktion ist nach Versuchen von Penzoldt und von v. Noorden nicht ganz sicher, da auch eiweißfreie Harne Trübung geben können; die Probe erlaubt nicht unter 0,1% Eiweiß zu bestimmen. Die Säure ist in gut schließenden Gläsern aufzubewahren, da sie durch Wasseranziehung in gewöhnliche Phosphorsäure übergeht, die kein Eiweiß fällt; ich möchte die Probe zur Anwendung nicht empfehlen.

9. Rhodankali-Essigsäureprobe und Essigsäure-Sublimatprobe.

Beide Proben sind von C. Zouchlos[3]) angegeben.

Das erste Reagens besteht aus 100 Teilen 10%iger Rhodankaliumlösung und 20 Teilen Essigsäure, das andere aus 1 Teil verdünnter Essigsäure und 6 Teilen einer 1%igen Sublimatlösung.

Ein tropfenweiser Zusatz von dem einen oder anderen Reagens bringt in eiweißhaltigem Harne Trübung hervor.

Beurteilung.

Die Rhodankali-Essigsäureprobe ist sicher und bequem; die andere Probe ist weniger empfehlenswert.

E. Ebstein[4]) gibt an, daß in M. A. Hoefles[5]) Buch Sublimatlösung erwähnt wird, die „wenn sie nicht zu sehr verdünnt ist, gewöhnlich jeden etwas saturierten Harn, wenn er auch kein Eiweiß enthält, trübt, wahrscheinlich durch Bildung von phosphorsaurem und schwefelsaurem Quecksilberoxyd". Vom Sublimat als eiweißfällendem Mittel ist auch die Rede in dem Grundriß der inneren Klinik von H. E. Richter 1856.

10. Pikrinsäureprobe.

Man setzt eine kleine Messerspitze der Krystalle zu dem mit Essigsäure angesäuerten Harne und schüttelt; ein deutlich gelbflockiger Niederschlag zeigt Eiweiß an. Besser setzt man eine gesättigte Pikrinsäurelösung tropfenweise oder von einer Lösung aus 1 g Pikrinsäure und 1 g Citronensäure: 100 g Wasser gleiche Teile zum Harne. G. Johnson, Galippe, H. Hager.)

Beurteilung.

Kreatinin, ein bei Fleischkost besonders reichlich vorhandener Harnbestandteil, wird durch Pikrinsäure in Form eines weißen bis weißlichgelben Niederschlages (pikrinsaures Kreatininkalium)

[1]) Boll. Chim. Farm. 1901. **40.** 789.
[2]) Berl. klin. Wochenschenschr. 1881. **18.** 205.
[3]) Wien. allgem. mediz. Ztg. 1890. **1.** 2.
[4]) a. a. O.
[5]) Chemie u. Mikroskopie am Krankenbett. Erlangen 1850.

ebenfalls gefällt, ebenso werden gefällt „Pepton", Mucin, Harnsäure, Alkaloide (Chinin). Bei Anwendung der Pikrinsäure in Krystallen ist 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 nicht vollständig lösen und auch normale Harne eine schwache Opalescenz zeigen.

11. Probe mit Asaprol, β-Naphthol-α-Sulfosäure (E. Riegler).

Man setzt zu 4—5 ccm Harn 1—2 Tropfen Salzsäure und 10 Tropfen einer 10%igen Asaprollösung oder man verwendet eine 10%ige Lösung mit 0,1 Volumen Salzsäure.

Ein anderes Reagens Rieglers besteht aus einer Lösung von 15 g β-Naphthalinsulfosäure in 300 ccm Wasser.

Auch in Substanz und in Tablettenform wird dieses Mittel empfohlen von F. Krauss, Landgraf, E. Fischer, Strunk und Budde.

Beurteilung.

Die Probe ist eine brauchbare. Die durch „Albumosen und Propeptone" entstandene Trübung verschwindet beim Erhitzen und kommt beim Erkalten wieder zum Vorschein; filtriert man heiß die entstandene Fällung ab und trübt sich das Filtrat beim Erkalten, so sind neben Eiweiß auch „Albumosen" vorhanden.

12. Barrals Probe, zuerst von E. Riegler empfohlen.

Eine 20%ige Aseptollösung (Orthophenolsulfosäure). Mit eiweißhaltigem Harne entsteht eine Fällung, bei der Schichtprobe ein weißer Ring.

13. Probe nach Bogomoloff-Wassilyew.

Lösung von 1 g Carminsäure in 2 g Wasser.

14. Carrez nimmt eine 33%ige Resorcinlösung. Schichtprobe: weißer Ring. A. Edelmann empfiehlt diese neuerdings.

Saure Anilinfarben (Violettschwarz, Natriumsalz der p-Phenylendiamin-azo-α-Naphthylamin-azo-1-Naphthol-4-Sulfosäure) gibt M. Heidenhain[1]) an. Vorsicht!

15. Owen Rees, Alménsche Probe.

Eine alkoholische, essigsäurehaltige Tanninlösung.

4 g Tannin, 8 ccm 25%ige Essigsäure und 190 ccm 40—50%iger Weingeist.

H. Tognetti verwendet eine salzsäurehaltige alkoholische Tanninlösung (1,5 g Gerbsäure in 100 ccm Alkohol), Christensen eine verdünnte Gerbsäurelösung.

Beurteilung.

Ist unbrauchbar, da normaler Harn damit auch Fällungen geben kann.

16. Phenolprobe (Mehu-Millard, Ilimow, Meymott-Tidy, Garrat, Colquhoun, Fuchs, Liebers, Eicke).

Man schichtet den Harn auf das Reagens (2 T. krystall. Phenol, 7 T. Eisessig, 22 T. Normallauge). (Millard.) 1 T. krystall. Phenol, 1 T. Eisessig und 2 T. 95%igen Alkohol wendet Mehu an; nach ihm werden 100 ccm Harn mit 2 ccm Salpetersäure und 10 ccm Reagens versetzt; das ausgeschiedene Eiweiß kann man sammeln und wägen.

Beurteilung.

Normaler Harn kann ebenfalls eine flockige Ausscheidung geben.

17. Ch. Tanrets (Bouchardat, Cardier) Reagens.

1,35 g Quecksilberchlorid werden mit möglichst wenig Wasser in 3,32 g Jodkalium gelöst, mit 60 ccm Wasser verdünnt und mit 20 ccm Eisessig versetzt. Man gibt das Reagens tropfenweise zum Harne bis zum Eintritte einer Trübung oder eines Niederschlages.

Beurteilung.

Es werden auch andere Stoffe gefällt; die Probe ist nicht zu empfehlen.

Cohen, Lugol verwenden eine Lösung von 1 g Jod, 2 g Jodkalium in 300 ccm 50%iger Essigsäure. Trübung, Niederschlag bei Anwesenheit von Eiweiß.

18. Sozojodolsäure in 10%iger alkohol. Lösung empfiehlt G. Guerin.

19. Kalium-, Natrium- oder Ammoniumpersulfat in 10%iger Lösung empfiehlt Strzyzowski, Eisenchlorid Haslam.

Man nimmt diese Reaktionen als Zonenreaktionen vor.

20. Formaldehyd nach Introna, Trétrôp.

21. Chondroitinschwefelsaures Natron wendet Pons an.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1902. 49. 437.

22. Y. Oguro fällt das Eiweiß in dem mit verdünnter Essigsäure angesäuerten Harne durch mit Natriumbisulfitlösung entfärbte und filtrierte alkohol. Jodlösung (1 T. Jod, 10 T. Alkohol).

23. O. Rosenbach schichtet Harn auf 5%ige Chromsäurelösung.

Auftreten eines trüben Ringes bei Vorhandensein von Eiweiß (Guérin, Kirk, Mandel). Raffaele Leone gibt eine Schichtprobe an mit einem Reagens aus 10 g Kalium dichromat, je 100 Tropfen Schwefelsäure und Essigsäure in 100 ccm Wasser gelöst.

24. Corzo verwendet als Reagens eine Lösung von 1,0 Ammoniummolybdat und 4 g Weinsäure in 40 g Wasser. An Stelle von Weinsäure nimmt Jaworowski Citronensäure.

25. 1%ige Quecksilbersuccinimidlösung nach Alpers. Der Harn wird mit Salzsäure angesäuert.

26. Eine wässerige Lösung von Jodkalium-Quecksilbercyanid nach Gouver. Weiße Fällung mit Eiweiß.

27. Uranylacetat (2:100) nach Kowalewsky.

28. E. Rudeck empfiehlt eine Lösung von je 5 g Citronensäure und Abrastol in 90 g Wasser.

29. Eine optische Methode der Eiweißbestimmung bei Albuminurie mit Hilfe eines von der Firma C. Zeiss hergestellten Mikroskopes von Siedentopf und Zsigmondy gibt E. Rählmann[1]) an. Es sei auf die Literatur verwiesen.

30. Potjan und Steffenhagen geben eine schon von A. Jolles früher veröffentlichte Eiweißprobe mit Chlorkalklösung und Salzsäure an.

II. Farbenreaktionen.

Diese Reaktionen kann man als weitere Bestätigung, daß die durch vorgenannte Reagenzien verursachten Fällungen aus Eiweiß bestehen, anwenden. Man nimmt hiezu das bei der Vorprobe oder das nach 2 erhaltene gut ausgewaschene Koagulum; wegen der Farbe desselben (Gallenfarbstoffe, Blut) können die Reaktionen nicht immer in Anwendung kommen.

1. Millonsche Reaktion.

Man erwärmt etwas Eiweiß mit Millons Reagens (Auflösen von 1 Teil Quecksilber in 1 Teil kalter rauchender Salpetersäure [spez. Gewicht 1,42] und Verdünnen mit 1—2 Teilen Wasser; von dem nach einigen Stunden gebildeten Niederschlage filtriert man ab; das Reagens enthält neben salpetersaurem Quecksilberoxyd salpetrigsaures Quecksilber); es entsteht beim Kochen eine rote Färbung des Eiweißes, auf der Anwesenheit der Tyrosingruppe im Eiweiß beruhend.

Beurteilung.

Die Reaktion kann durch Chloride und durch Ätherschwefelsäuren störend beeinflußt werden.

2. Biuretreaktion.

Fügt man zu einer eiweißhaltigen Flüssigkeit verdünnte Kali- oder Natronlauge im Überschusse zu oder wird das ausgeschiedene Albumin in Alkalilauge gelöst und zu der erwärmten Lösung tropfenweise 10%ige Kupfersulfatlösung (kein Überschuß) zugefügt, so wird nach dem Umschütteln die Flüssigkeit erst rosa, dann violett und zuletzt blau mit deutlichem rotem Stiche. Die Reaktion beruht auf der Anwesenheit von —CO-NH-Gruppen in bestimmten Bindungen im Eiweiß und auf der Bildung von Biuretkupferoxydkali F. Rose[2]) und H. Schiff.[3])

Ähnlich ist die Probe nach Brücke.

Beurteilung.

Diese Probe ist nur den Proteinsubstanzen eigen, doch können Arzneimittel, Santonin, Chinin infolge Bildung von Farbstoffen Eiweiß vortäuschen. Albumosen geben diese Reaktion schon in der Kälte.

3. Schwefelprobe.

Wenn man Eiweiß mit Lauge und Bleiacetat behandelt, so entsteht zuerst Braunfärbung und später eine schwarze Fällung von Schwefelblei (Anwesenheit von Cystingruppen im Eiweißmolekül). Lidow verwendet an Stelle von Bleiacetat Silbernitrat.

4. Xanthoproteinreaktion (Mulder), entdeckt von Fourcroy u. Vauquellin.

Eiweißlösung, mit konz. Salpetersäure erhitzt, wird infolge Bildung von Nitroderivaten (Anwesenheit von aromatischen Kernen, Tyrosin, Phenylanilin im Eiweiß-

[1]) Ann. f. Phys. **10.** 1.
[2]) Poggendorffs Annal. 1833. **28.** 132.
[3]) Berl. Bericht. 1896. **29.** I. 298; Ann. Chem. Pharm. 1897. **299.** 236; 1901. **319.** 300.

molekül) zitronengelb gefärbt, mit Ammoniak oder Alkalihydrat übersättigt rotgelb (Salkowski-Rohde).

Das Ammoniak muß, mit konz. Salpetersäure versetzt, farblos bleiben, nur dann ist dieses verwendbar.

5. Furfurolreaktion.

a) Eine mit 2 Tropfen einer 15—20%igen alkoholischen α-Naphthollösung und dann mit dem 4fachen Volumen konz. Schwefelsäure versetzte Eiweißlösung (man verwendet etwa 1 ccm) gibt beim Schütteln eine rubinrote bis violette Färbung; beim Verdünnen mit Wasser entstehen violette, in konz. Salzsäure mit der gleichen Farbe sich lösende Niederschläge (Molisch, Seegen).

b) Mit konz. Schwefelsäure und wenig Zucker auf etwa 60° erwärmt, entsteht Rotfärbung (Schultze).

c) Eine unter Erwärmen hergestellte Lösung von möglichst trockenem Eiweiß in Eisessig (oder in 1—2%iger Glyoxylsäure) nimmt auf Zusatz von $1^1/_2$ Volumen konz. Schwefelsäure entweder sofort oder nach dem Erwärmen eine schöne violette Färbung (Anwesenheit von Tryptophan im Eiweißmolekül) und schwach grünliche Fluorescenz an (Hammarsten-Adamkiewicz-Hopkins).

6. Liebermannsche Probe.

Beim Erhitzen von Eiweiß (am besten vorher mit Alkohol und Äther behandelt) mit konz. rauchender Salzsäure entsteht eine violette Färbung (Anwesenheit von Tryptophan im Eiweißmolekül). Wurster verwendet konz. Salzsäure mit $^1/_5$—$^1/_{10}$ Volumen konz. Schwefelsäure.

7. Reichelsche Probe.

Mit 2—3 Tropfen alkoholischer Benzaldehydlösung (oder Salicylaldehyd), der gleichen Menge verdünnter Schwefelsäure (1:1) und Ferrisulfatlösung (1 Tropfen) gibt Eiweiß eine blaue Färbung. Tryptophanreaktion.

8. Diazoreaktion (Petri). Man versetzt eine Eiweißlösung mit Soda und gibt 3—5 ccm einer Sodalösung zu, die einige Zentigramme Diazobenzolsulfosäure enthält (aus Sulfanilsäure frisch bereitet, s. Ehrlichsche Diazoprobe); es tritt eine kirschrote, beim Ansäuern orangerot werdende Färbung ein. (Reaktion auf Hystidin und Tyrosin (Pauly).

III. Reaktionen mit Reagenzien im trockenen Zustande.

Diese Reaktionen, die am Krankenbette ausgeführt werden können, sind für den Arzt zur vorläufigen Orientierung immerhin angenehm; sie gewähren aber nicht absolute Sicherheit und bedürfen erst noch einer Bestätigung des Befundes durch eine der unter I. erwähnten Proben.

1. Probe mit Pavys Reagens.

Zu dem nicht zu konzentrierten Harne wird eines der weißen Scheibchen (Citronensäure), dann werden allmählich kleine Stückchen des gelben Scheibchens (Ferrocyannatrium) so lange zugesetzt, als sich die entstandene Trübung zu vermehren scheint.

2. Probe mit Merckschen Tabletten, von der Firma Merck in Darmstadt hergestellt.

3. Geißlers Eiweißreagenzpapier.

Streifen Filtrierpapier werden mit konz. Citronensäurelösung getränkt; andere Streifen werden mit 3%iger Sublimatlösung, die 12—15% Jodkalium zugesetzt enthält, getränkt und getrocknet. In 5ccm des zu untersuchenden Harnes gibt man einen Streifen des sogen. Säurepapiers, dann einen solchen Sublimatpapier. Bei Anwesenheit von Albumin erfolgt Fällung oder Trübung.

Solche getränkte Papiere sind noch anderweitig empfohlen. Die Oliviers Reagenzpapiere sind mit sehr konz. Lösungen von Citronensäure, von Ferrocyankalium, von Kaliumquecksilberjodid, von wolframsaurem Natrium getränkt oder die Papiere sind sogen. zusammengesetzte, mit Säure und Fällungsmittel getränkte (Pikrinsäure, wolframsaures Natrium, Kaliumquecksilberjodid + Citronensäure).

Von der chemischen Fabrik von Eugen Dieterich in Helfenberg werden Eiweiß- und Zuckerreagenzpapiere hergestellt, die sich in einem Etui befinden; eine genaue Gebrauchsanweisung ist beigegeben.

Beurteilung.

Zu diesen Reaktionen ist zu bemerken, daß der Harn gleich verdünnt anzuwenden ist, da auch Niederschläge von Uraten entstehen können. Mucin scheidet sich allmählich in durchsichtigen Wölkchen aus.

4. Stützsche Kapseln.

Die Gelatinekapseln enthalten Quecksilberchlorid, Chlornatrium und Citronensäure. Man gibt den Inhalt der Kapsel in 3—4 ccm des Harnes, der nötigenfalls noch mit dem gleichen Teile Wasser verdünnt wird. Da im Überschusse vorhandenes Eiweiß den Niederschlag löst, so muß der Harn genügend verdünnt angewendet werden. Der bei Anwesenheit von Eiweiß erzeugte weiße Niederschlag ist Merkurialbuminat, das in Kochsalzlösung bei Gegenwart einer Säure unlöslich ist.

Wahl der Methode bei der Prüfung des Harnes auf Eiweiß.

Wie schon erwähnt, darf man sich bei der Prüfung auf Eiweiß nie mit einer Methode zufrieden geben, da keine der Eiweißreaktionen allein unbedingt beweisend ist; auch möchte ich entschieden und ausdrücklich davor warnen, sich etwa nur auf die Anwendung der als empfindlichste Methoden zum Eiweißnachweis bezeichneten zu beschränken; gerade Verwechslungen mit den bekannten anderen Proteinen, außer dem dem Blute entstammenden Eiweiß, werden durch die Anwendung der schon lange im Gebrauche befindlichen altbewährten Proben vermieden, während durch diese allzuscharfen Verfahren, durch die neuen Eiweißreagenzien, auch Eiweißmengen und -arten gefällt werden, die unter Umständen klinisch bedeutungslos sind; ein solcher Befund darf auch niemals ohne die genaue mikroskopische Prüfung eines vorhandenen Sedimentes schon als pathologisch angesprochen werden.

Übrigens weise ich noch besonders auf den Umstand hin, daß in allen zweifelhaften Fällen, am besten stets, wiederholte Prüfungen des Harnes zu erfolgen haben; jede Überwachung hat für Gesunde und Kranke nur Wert, wenn sie sich über einen größeren Zeitraum erstreckt. Man wird deshalb am besten beraten sein, wenn man zuerst die Probe 5 ausführt und, im Falle diese positiv ausfällt, die Proben 1, 2 und 3 anreiht. Man gewöhne sich daran, stets ein Glas mit dem gleichen Harne als Vergleichsflüssigkeit und ein Glas mit Harn, der mit 10 Tropfen 30%iger Essigsäure versetzt ist, neben der Kochprobe, Hellerschen Probe und Ferrocyankalium-Essigsäureprobe aufzustellen. Die Gläser füllt man mit gleichen Harnmengen. Aus dem Ausfalle der Proben kann man unter Berücksichtigung des bei den einzelnen Proben Gesagten leicht schließen, ob der Harn pathologisches Eiweiß, Albumosen oder ob er nur sog. Nukleoalbumin, ob er diese in größerer oder geringerer Menge enthält, man kann sich über das Bestehen oder Nichtbestehen einer Albuminurie unterrichten. Nicht zu vergessen ist, worauf ich wiederholt hinweisen muß, die genaue mikroskopische Prüfung selbst der geringsten vorhandenen Trübung.

Würde sich, um kurz das bei den einzelnen Proben Gesagte zu wiederholen, bei der Sulfosalicylsäureprobe eine Trübung oder Fällung zeigen, so könnte sie durch Eiweiß, Albumosen, durch das durch Essigsäure fällbare Eiweiß veranlaßt sein. Ein Verschwinden der Trübung oder Fällung beim Erwärmen würde die Anwesenheit der Albumosen ergeben (s. diese). Das Vorhandensein des durch Essigsäure fällbaren Eiweißes würde sich bei der besonders anzustellenden oder, wie empfohlen, schon angestellten Probe ergeben; die Kochprobe endlich würde den Beweis liefern, ob Eiweiß oder Albumosen vorliegen, da bei dieser Probe nur Eiweiß gefällt wird; Albumosen werden auch durch die Hellersche Probe oder durch Ferrocyankalium-Essigsäure entdeckt werden.

Zur raschen Orientierung für den Arzt am Krankenbette mögen die Proben mit Reagenzien im trockenen Zustande in Anwendung kommen mit der Vorsicht, daß man den Ausfall mit den sogenannten genauen Eiweißreaktionen kontrolliert; doch möchte ich dem Arzte für seine Zwecke besonders die Anwendung der Sulfosalicylsäure, da diese in der Krystallform bequem mitzuführen ist, anempfehlen. Diese Probe ist empfindlich und genau; ihr negativer Ausfall schließt abnorme Albuminurie aus.

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.

Es kann die Aufgabe zu lösen sein, in einem Harne Eieralbumin — wenn es sich um Simulation handeln soll — nachzuweisen oder von Albumin, Serumalbumin zu unterscheiden.

E. Salkowski[1]) gibt folgende unterscheidende Reaktionen an.

1. Beim Erhitzen zum Sieden trübt sich die Lösung weißlich und zwar stärker als die Serumlösung, eine Ausscheidung von koaguliertem Eiweiß tritt jedoch nicht ein; sie erfolgt bei vorsichtigem Zusatz von Essigsäure. Die Ausscheidung ist nicht so flockig, wie beim Serumalbumin, sondern sieht etwas gequollen aus. Ein weiterer Zusatz von Essigsäure löst den Niederschlag nicht so leicht, wie beim Serumalbumin.

2. Man versetzt den Harn mit so viel reiner Salpetersäure (1,2 spez. Gew.), ohne zu erhitzen, daß eine starke Trübung oder Fällung eintritt, alsdann mit dem gleichen Volumen 96%igem Alkohol. Der natürliche Eiweißharn wird klar, der eieralbuminhaltige trübt sich stärker, das Eiweiß oder ein Teil scheidet sich in Flöckchen aus. (Die Flüssigkeit gießt man weg, sie kann sich stürmisch erhitzen.)

---

[1]) Charité Annal. 33. Separatabdr. u. Praktikum der physiol. u. patholog. Chemie. A. Hirschwald, Berlin 1906.

3. Man schüttelt den Harn im Reagenzglase mit dem gleichen Volumen einer Mischung von 4 Vol. Äther und 1 Vol. Alkohol absolutus. Der natürliche Eiweißharn trennt sich von dem Äther ziemlich schnell ab. Harn und Äther erscheinen ganz klar, nur an der Berührungsgrenze findet sich meistens ein leichtes Häutchen. Beim eiweißhaltigen Harn entsteht ein dicklicher, mit Luftblasen vermischter Brei, aus dem sich der Äther nur sehr langsam klar abscheidet, zwischen dem Äther und dem Harn bleibt eine dickliche Zwischenschicht. Der Harn selbst erscheint trüb, nach längerem Stehen (am anderen Tage) findet man eine Abscheidung von Eiweiß am Boden des Reagenzglases.

4. Man gießt 10 ccm Harn in 100 ccm absol. Alkohol, filtriert das flockig ausgeschiedene Eiweiß nach etwa einer halben Stunde ab, breitet das noch stark alkoholfeuchte Filter auf einer Filtrierpapierunterlage aus und bringt das Eiweiß mit einem Spatel in ein Reagenzglas. Übergießt man es mit einigen Kubikzentimetern Wasser, so löst sich das natürliche Eiweiß bei starkem Schütteln vollständig oder so gut wie vollständig auf, das Eieralbumin nicht oder doch nicht merklich. Erhitzt man die so erhaltene Lösung des natürlichen Eiweißes unter leichtem Ansäuern mit Essigsäure und Zusatz von etwas konzentrierter Kochsalzlösung, so scheidet sich mehr oder weniger reichlich koaguliertes Eiweiß aus.

Beurteilung.

Salkowski sagt, man kann die Frage, ob beim Nachweis von Eieralbumin dieses dem Harne zum Zwecke der Täuschung zugesetzt worden ist, wohl unbedenklich bejahen, wenn auch von verschiedenen Beobachtern nach dem Genuß reichlicher Mengen von Eieralbumin, namentlich rohem, sehr geringe Mengen von Eiweiß im Harn nachgewiesen worden sind, die sich durch die biologische Reaktion als Eieralbumin charakterisierten.

Bei geringerem Eiweißgehalt als 0,2% können die Proben versagen. Nach meiner Ansicht wird auch vor allem die mikroskopische Prüfung berücksichtigt werden müssen; bei Hühnereiweiß kann man Platten und Fäden beobachten, die sich mit Eosin färben lassen; kennzeichnende Nierenepithelien usw. werden aber fehlen.

Nach E. Justin-Müller[1]) ist zum sicheren Nachweis eines Zusatzes von Eieralbumin das etwas abgeänderte Maurelsche Reagens geeignet, aus 25 ccm 33%iger Natriumhydroxydlösung, 5 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung, 70 ccm Essigsäure zusammengesetzt. 5 ccm des Harnes werden mit 5 ccm von dem Reagens vorsichtig unterschichtet, so daß deutlich abgesonderte Schichten bestehen; ist im Harne Ovalbumin vorhanden, so entsteht an der Berührungsstelle beider Schichten eine weiße Zone von koaguliertem Ovalbumin, beim Schütteln wird die Flüssigkeit trüb und setzt nach $^1/_2$ Stunde einen weißen Niederschlag ab, während die darüber stehende Flüssigkeit entfärbt und klar wird.

Ist pathologisches Eiweiß vorhanden, so kann an der Berührungsfläche eine geringe Fällung entstehen; sie löst sich aber beim Schütteln und die Flüssigkeit wird klar. Harne dürfen nicht mehr als 4‰ pathologisches Eiweiß enthalten, weiter können uratreiche Harne einen milchigen Ring geben, der allerdings beim Erwärmen verschwindet. In solchen Fällen wird man den Harn verdünnen.

Als weitere ergänzende Methode wird die von P. Godfrin[2]) empfohlen, beruhend auf der Beobachtung, daß pathologisches Harneiweiß in schwach saurer Flüssigkeit durch Kochsalz im Überschusse völlig, Eier-Eiweiß nur teilweise ausgefällt wird.

Mit diesem Nachweis haben sich Arbeiten beschäftigt von Gaillard, G. Tellerer, G. N Pettriot, C. Barbe, Fredoux und Laporte.

Quantitative Bestimmung des Eiweißes.

Über die Anwesenheit größerer oder geringerer Mengen Eiweiß geben bereits die qualitativen Reaktionen Aufschluß; man wird bei häufigerer Vornahme von solchen Prüfungen bald nicht unschwer mit einer gewissen Sicherheit aus dem Ausfall der Reaktion die ungefähr vorhandene Menge des Eiweißes bestimmen lernen.

Nach Serkowski[3]) erscheint es wichtig, das Verhältnis der Menge eines pathologischen Bestandteiles, besonders des Eiweißes, zur Menge des ausgeschiedenen Wassers in Betracht zu ziehen, als Norm 1 Ltr. Wasser angenommen Formel $\frac{a \cdot q}{1000}$, worin a = Eiweiß, q = 24stündige Harnmenge.

---

[1]) Journ. Pharm. 1918 [7] **18.** 201; Chem. Centralbl. 1919. **90.** I. 821.

[2]) Journ. Pharm. et Chim. 1917 [7] **17.** 14. 1918. **17.** 480; Pharm. Centralh. 1917. **58.** 40; Südd. Apoth.-Ztg. 1917. **57.** 430.

[3]) Semiotik des Harnes. S. Karger, Berlin 1905.

Bei Nephritis acuta beträgt die in 24 Stunden entleerte Harnmenge z. B. 200 ccm, der Harn enthält 5‰ Eiweiß; das Defizit des auf anderen Wegen ausscheidenden Wassers im Harne beträgt in diesem Falle etwa 800 ccm; während der Krankheit schwankt die in 24 Stunden entleerte Menge und steigt z. B. bis 400 ccm; dann wird die verhältnismäßige Ziffer bloß 2,5‰ Eiweiß aufweisen, im Verhältnis aber zur Menge des ausgeschiedenen Harnes kann $\frac{a \cdot q}{1000}$ sich nicht geändert haben, weil $\frac{2{,}5 \cdot 400}{1000} = \frac{5{,}0 \cdot 200}{1000}$ oder die absolute Menge des Eiweißes im ersten und zweiten Falle ist $= 1$, es wechselt bloß die Wassermenge.

Dieser Koeffizient kann eine ernste prognostische Bedeutung haben und veranschaulicht den Krankheitsverlauf bei gleichzeitiger Berücksichtigung der absoluten, von 24stündiger Harnmenge abhängigen Eiweißmenge.

1. Gewichtsanalytische Bestimmung nach Scherer.

Das richtige Gelingen der Ausführung dieser Bestimmung ist keineswegs so einfach, als es den Anschein hat; das vollständige Koagulieren und somit die Ausscheidung alles Eiweißes hängt wesentlich von dem hiefür geeigneten Grade der Acidität, der Ionenkonzentration des Harnes ab; auch gelingt die Bestimmung 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. Ist der Harn nicht klar, so ist er durch Filtrierpapier zu filtrieren. Ein Zusatz von Natriumchlorid begünstigt in vielen Fällen die vollständige und schöne Ausscheidung des Eiweißes.

Ausführung.

Man bringt 100 ccm des ursprünglichen oder bei höherem Eiweißgehalte von dem entsprechend verdünnten Harne in ein Becherglas, prüft die Reaktion und macht, im Falle der Harn nicht schon so sauer ist, diesen durch vorsichtigen Zusatz einiger Tropfen sehr verdünnter Essigsäure ganz schwach sauer (durch zu viel Essigsäure wird Eiweiß wieder gelöst). Zweckmäßig gibt man zum Inhalte im Becherglas noch etwa 10—20 ccm gesättigter Natriumchloridlösung. Man erhitzt den Harn im kochenden Wasserbade — das Becherglas mit dem Harn stellt man im Wasserbade auf einen darin befindlichen Dreifuß, Drahtdreieck mit Tonröhren überzogen, — 30 Minuten lang, bis eine großflockige Ausscheidung des Eiweißes und Klärung der darüber stehenden Flüssigkeit stattgefunden hat und kocht dann nochmals vorsichtig über freier Flamme auf. (Ist eine breiige Ausscheidung des Eiweißes erfolgt, so ist zu viel Eiweiß vorhanden und man beginnt den Versuch mit verdünntem Harne von neuem.) Ist noch keine vollkommene Abscheidung erfolgt, so kann man diese durch Zusatz von einem oder zwei Tropfen ganz verdünnter Essigsäure, die man am besten mit einem Glasstabe einbringt, und durch nochmaliges Kochen erreichen. Bei richtigem Arbeiten darf das Filtrat von der Eiweißfällung mit der Hellerschen Probe keine Reaktion auf Eiweiß mehr geben.

Der Niederschlag wird möglichst rasch, um das Antrocknen des Eiweißes an die Glaswand zu verhindern, auf einem vorher im Wägeglas bei 110—120° getrockneten und gewogenen Filter mit der Vorsicht gesammelt, daß man zuerst die Flüssigkeit durch das Filter filtriert, das im Becherglase zurückgebliebene Eiweiß nochmals mit heißem Wasser übergießt, umrührt und nun erst aufs Filter bringt, wobei am Becherglase haftende Eiweißreste mit Hilfe einer am Glasstabe befindlichen Gummifahne oder eines Stückchens Schlauches und heißen Wassers entfernt werden. Das Filter wird noch mit

heißem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion und nachher mit Alkohol und Äther gewaschen, im Wägeglase bei 110—120° getrocknet und nach dem Wägen im Platintiegel vorsichtig unter Erhitzen der Wandseite des Tiegels verbrannt; die gewogene Asche (mit dem Eiweiß mitgerissene Phosphate) wird von dem gewogenen Eiweiß in Abzug gebracht. Der Rest ist Eiweiß, das auf 100 Teile ursprünglichen Harnes, auf die übergebene Menge oder auf die ganze Tagesmenge berechnet wird. Das ausgewaschene koagulierte Eiweiß kann man auch nach Kjeldahl behandeln und den Stickstoff desselben bestimmen. Gef. N × 6,25 (richtiger 6,3) = Eiweiß. Das Eiweiß kann auch auf einem Goochfilter gesammelt werden.

Als bequeme Arbeitsweise wird von J. Bang folgende empfohlen: 50 ccm Harn, bei hohem Eiweißgehalt geringere Mengen, die mit Wasser auf 50 ccm ergänzt werden, werden mit 10 ccm der Acetatmischung, S. 412, versetzt; das Becherglas mit Inhalt wird in ein kochendes Wasserbad eingestellt. Nach einer halben Stunde filtriert man den Niederschlag ab usw.

Beurteilung.

Diese allerdings etwas umständliche Methode liefert richtige Resultate.

Nach A. Jolles kann die Abscheidung des Eiweißes leichter erreicht werden, wenn man diese unter Zusatz einer Mischung von 50 ccm 1%iger Essigsäure, 50 ccm Formol und 15 g Kochsalz vornimmt. 100 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 5 ccm von dem Reagens versetzt und dann 30 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt, bis die Abscheidung des Eiweißes und die Klärung der obenstehenden Flüssigkeit erreicht ist. Man filtriert in bekannter Weise ab usw.

C. Pégurier[1]) empfiehlt als Fällungsmittel eine Lösung von je 10 g krist. Karbolsäure und gepulverter Citronensäure in 20 g 95%igem Alkohol und beschreibt sein Verfahren.

H. Bellocq[2]) bringt folgendes Verfahren in Vorschlag.

100 ccm Harn versetzt man mit 1 g citronensaurem Kalk und mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion und kocht solange, bis nur ein leichter, beim Wegnehmen des Kolbens von der Flamme verschwindender Schaum sich bildet. Den aus Eiweiß, Calciumphosphat, -urat, -oxalat bestehenden Niederschlag filtriert man ab, spritzt ihn vom Filter in ein Gläschen von etwa 40 ccm Inhalt und setzt 3 ccm Salpetersäure hinzu, wodurch nur Eiweiß ungelöst bleibt. Nach Zusatz von Alkohol — nach Verschwinden der Rötung in ½ Stunde — filtriert man das Eiweiß in bekannter Weise auf einem gewogenen Filter ab und bringt es wie angegeben zum Wägen.

Um das Eiweiß bei jeder Reaktion — d. h. sauer muß der Harn sein — und vollständig zur Abscheidung bringen zu können, hat L. Devoto vorgeschlagen, dieses durch Ammoniumsulfat auszusalzen. In 100 ccm des sauer reagierenden Harnes (stark eiweißreicher wird ebenso wie bei der Schererschen Methode verdünnt) werden 75 g Ammoniumsulfat aufgelöst, die Lösung wird 30—40 Minuten in einem Dampftopf erhitzt und durch ein gewogenes Filter filtriert; man bringt auch hier die Asche in Abzug.

Noch weiter empfohlene Fällungsmittel haben keine Vorzüge vor den angegebenen.

Beurteilung.

Bei harnsäurereichen Harnen ist aber das Verfahren nach Devoto nicht zu gebrauchen, zumal bei geringem Eiweißgehalt, da Urate mit ausgefällt und gewogen werden.

2. Eine von A. Jolles[3]) angegebene Bestimmung beruht auf folgender Voraussetzung.

Das abgeschiedene Eiweiß wird mit Permanganat in schwach saurer Lösung zu Harnstoff, auch zu Ammoniak und Kohlensäure oxydiert, der Stickstoff in einem Azotometer durch unterbromigsaures Natrium freigemacht und gemessen. Durch Multiplikation des Stickstoffes mit dem durch Versuche gefundenen Faktor 7,68 berechnet sich der Eiweißgehalt.

---

[1]) Répert. d. Pharm. 1920. **8.** 226; Pharm. Centralh. 1921. **62.** 100.
[2]) Ann. chim. analyt. appl. 1904. **9.** 384.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1902. **41.** 589.

3. Bestimmung durch Polarisation.

Ausführung.

Man bestimmt die Linksdrehung des schnell filtrierten, nötigenfalls mit etwas Blutkohle behandelten und filtrierten, durch den positiven Ausfall der qualitativen Proben als eiweißhaltig befundenen Harnes direkt und dann die etwa vorhandene Drehung des vom Eiweiß befreiten Harnes. Die Differenz ergibt den Eiweißgehalt. Liegt zuckerhaltiger Harn vor, so bestimmt man die Drehung des Harnes direkt und dann die des vom Eiweiß befreiten Harnes.

Die Entfernung des Eiweißes nimmt man in der S. 36 angegebenen Weise vor.

Eiweißlösungen drehen die Polarisationsebene ungefähr um ebenso viel nach links, wie Traubenzuckerlösungen gleicher Konzentration nach rechts. Dreht z. B. ein Harn 0,5° nach links, so beträgt der Eiweißgehalt in 100 ccm = 0,5 g. Dreht ein Harn direkt im 200 mm-Rohr (oder 189,4 mm-Rohr beim Gebrauche des Lippichschen oder Mitscherlichschen Apparates) + 2,9°, nach dem Entfernen des Eiweißes + 3,3°, so wäre der Gehalt an Zucker 3,3%, an Eiweiß 0,4%.

Beurteilung.

Das Verfahren gibt ungenaue Werte, da das Drehungsvermögen der verschiedenen Eiweißstoffe (Albumin, Globulin) ein verschiedenes ist — $[\alpha]_D$ für Albumin − 63,6°, für Globulin − 47,8° — und auch die Anwesenheit anderer Stoffe störend einwirken kann.

4. Die densimetrische Bestimmung des Eiweißes.

Das Prinzip dieses von Lang, Haebler und Bornhardt, Budde, Huppert und Zahor in Anwendung gezogenen, näher studierten und umgeänderten Verfahrens beruht darauf, daß man das spezifische Gewicht des Harnes vor und nach der Abscheidung des Eiweißes durch Koagulation mit dem Pyknometer genau bestimmt und die Differenz in dem spezifischen Gewichte mit der Zahorschen Zahl (400) multipliziert.

Th. Lohnstein[1]) hat diese Methode wesentlich abgeändert; das ausgeschiedene Eiweiß wird in einer bestimmten Menge einer Natronlauge und mit Wasser zu einem bestimmten Volumen gelöst, andererseits wird die gleiche Menge der Natronlauge zu dem gleichen Volumen verdünnt und von den beiden Lösungen das spezifische Gewicht mit dem genauen, von Lohnstein konstruierten Aräometer bestimmt. Aus der Differenz berechnet sich der Eiweißgehalt.

Ausführung.

Aus 50 ccm Urin wird das Eiweiß durch Koagulation, wie angegeben, abgeschieden, die überstehende Flüssigkeit erst für sich durch das Filter filtriert, das abgesetzte Eiweiß mit heißem Wasser unter Umrühren gewaschen, die Flüssigkeit wieder filtriert und mit dem Eiweißniederschlag nochmals in der schon angegebenen Weise verfahren; schließlich bringt man das Eiweiß auf das Filter und wäscht mit heißem Wasser gut aus.

Den Filtrierrückstand, das Eiweiß, spritzt man, was sehr einfach zu bewerkstelligen ist, sogleich mit der Spritzflasche mit kleinen Mengen Wassers vollständig in das Becherglas, in dem man die Abscheidung vornahm, gibt dazu genau abgemessen 5 ccm einer konz. Natronlauge (1,15—1,20 spez. Gew. = etwa 15%) und löst nötigenfalls unter gelindem Erwärmen im Wasserbade das Eiweiß auf. Nach dem Abkühlen bringt man diese Lösung am besten mit einem Kapillartrichter in ein Meßkölbchen von 50 ccm Inhalt, dessen Hals eine lichte Weite von höchstens 3 mm haben soll, spült die dem Becherglase noch anhängenden Reste der Eiweißlaugenlösung vorsichtig mit kleinen Mengen Wassers nach und füllt schließlich unter Umschütteln zum Zwecke gleichmäßiger Mischung bis zur Marke unter Einhaltung der Temperatur, bei der das Meßkölbchen geeicht wurde, auf. Ein zweites Meßkölbchen, oder wenn man nur über eines verfügt, das von der Eiweißlösung mit dem gleichen Trichter entleerte — die Eiweißlösung wird in einem trockenen Becherglase verwahrt, das sofort mit Uhrglas bedeckt wird — wird nach dem Reinigen mit destilliertem Wasser mit genau 5 ccm der gleichen Natronlauge gefüllt, destilliertes Wasser hinzugegeben und nach dem Umschütteln genau zur Marke aufgefüllt usw. In den beiden Lösungen (also Eiweißlösung in Lauge und Lauge für sich verdünnt) bestimmt man mit dem Lohnsteinschen Präzisionsurometer (S. 305) das spezifische Gewicht, nachdem man die Gefäße mit den beiden Lösungen 5—10 Minuten in ein Wasserbad bei etwa 15° eingestellt hatte.

Multipliziert man ihre Differenz mit 0,400, so erhält man den gesuchten Eiweißgehalt in Prozenten.

Bei den spezifischen Gewichtsbestimmungen liest man zweckmäßig auch die Temperaturen ab. Ist t_1 die Temperatur der Eiweiß-Laugenlösung, t_2 die der verdünnten Natronlauge, so hat man zwischen 15° und 20° C. von der Differenz der spezifischen Gewichte (s_1 und s_2) noch den Betrag $\frac{t_2 - t_1}{5}$ in Abzug zu bringen.

---

[1]) Archiv Physiol. 1895. 59. 479 und nach übersandtem Separatabdrucke aus dem Medizinalkalender 1901.

Beispiel: $s_1 = 1017{,}8 \quad t_1 = 18^\circ$ C.
$s_2 = 1016{,}5 \quad t_2 = 18{,}5^\circ$ C.

$s - s_2 = 1{,}3$; Temperaturkorrektion $= \frac{0{,}5}{5} = 0{,}1$;

korrigierte Differenz der spezifischen Gewichte 1,3—0,1 = 1,2.

Eiweißgehalt: $1{,}2 \times 0{,}400 = 0{,}48\,\%$.

Um die Bestimmung für kleinere Eiweißmengen genauer zu gestalten, verwendet man anstatt der 50 ccm Urin das 2-, 3- bis 10fache und verfährt genau, wie angegeben; man hat nur die nach obiger Rechnung erhaltene Eiweißmenge durch die entsprechende Zahl zu dividieren (also bei Anwendung von 100 ccm Harn durch 2, von 250 ccm Harn durch 5), um den richtigen Eiweißgehalt zu erfahren.

Beurteilung.

Ich habe die Probe mit anderen verglichen und sie für brauchbar befunden. Sie ist aber umständlicher wie I.

5. Annähernde Bestimmungsmethoden für klinische Zwecke.

Es ist auch bei der Vornahme der genauen quantitativen Bestimmungsmethoden von Wert, den Eiweißgehalt des Harnes annähernd zu kennen.

Hiezu, sowie für klinische Zwecke überhaupt sind verschiedene derartige Verfahren in Vorschlag gebracht worden; zu bemerken ist, daß man mit jedem nach einiger Übung nicht unschwer die vorhandene ungefähre Menge Eiweiß schätzen lernen kann.

a) Die einfachste Methode wäre allerdings die der Abschätzung des bei der Kochprobe abgeschiedenen Eiweißkoagulums nach Seifert und Müller. Man läßt 12 Stunden ruhig stehen

Ein kompaktes Koagulum der ganzen Harnmenge	etwa 2—3 %
„ solches über die Hälfte	„ 1 %
„ Koagulum zu $^1/_2$	„ 0,5 %
„ $^1/_4$ Volumen einnehmendes Koagulum	„ 0,25 %
„ $^1/_{10}$ Volumen „ „	„ 0,1 %
„ Koagulum nur in der untersten Wölbung des Glases	„ 0,05 %
Eine Trübung, weniger als	„ 0,01 % Eiweiß

Beurteilung.

Der Ausfall dieser Prüfung kann selbstverständlich nur erkennen lassen, ob größere oder geringere Eiweißmengen vorhanden sind. Da der Niederschlag von verschiedener Dichte sein kann, sind Fehler unvermeidlich. L. Lichtwitz hält sie aber als genügend für die Praxis und geeigneter wie die Esbachsche.

b) Die annähernde Bestimmung nach Roberts[1]) und Stolnikoff[2]), abgeändert von O. Hammarsten und J. Brandberg.[3])

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, und zwar in der unten angegebenen Weise, berechnet.

Ausführung.

Man bringt in eine Anzahl Reagenzgläser, hinter denen ein schwarzer Hintergrund (Glanzpapier) sich befindet — man kann die S. 413 erwähnten, von Hugershoff hergestellten wählen — mit einer Pipette, ohne die Glaswandungen zu benetzen, eine etwa 1 cm hohe Schicht konzentrierter Salpetersäure und fügt mit einem in eine sehr feine Spitze ausgezogenen Glasröhrchen etwa das gleiche Volumen des eiweißhaltigen unverdünnten und des verschieden verdünnten Harnes (1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 5) mit der Vorsicht zu, daß keine Mischung der beiden Flüssigkeiten eintritt; man verfolgt mit der Uhr in der Hand das Eintreten eines eben sichtbaren bläulich weißen Ringes und legt die Probe, bei der die Ringbildung innerhalb 2—3 Minuten eintritt, für die Berechnung zugrunde.

Tritt bei einer der angegebenen Verdünnungen der Niederschlag oder der Ring sofort auf, so ist der Harn stärker zu verdünnen; man stellt sich dann von dem zu prüfenden Harne eine

[1]) The Lancet 1876. **1.** 313.
[2]) Jahresber. f. Tierchem. 1877. **6.** 148.
[3]) Ebenda 1881. **10.** 265.

10fache Verdünnung her; von dem Harne mißt man 10 ccm mit einer Pipette in einen 100 ccm fassenden Meßkolben und füllt bis zu 100 ccm mit destilliertem Wasser auf. Mit dieser Verdünnung stellt man die erste Probe an; erscheint der Ring zu früh, dann ist der Harn noch weiter zu verdünnen; man mißt in Reagenzgläser je 10 ccm destilliertes Wasser, läßt hiezu der Reihe nach je 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 usw. ccm des 10fach verdünnten Harnes zufließen und mischt. Mit diesen Verdünnungen stellt man in der angegebenen Weise die Ringprobe an und beobachtet, welche Probe den Ring etwas zu früh und welche diesen etwas zu spät gibt. Es trete z. B. in der Probe, die 5 ccm des 10fach verdünnten Harnes in 10 ccm Wasser enthielte, die Ringprobe zu früh, in der mit 6 ccm aber zu spät ein; es liegt der richtige Wert also zwischen diesen beiden. Nun wird man in 8 Gläser mit 10 ccm Wasser je 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8 ccm des 10fach verdünnten Harnes geben und mit diesen Verdünnungen die Ringprobe vornehmen. Es trete jetzt die Trübung rechtzeitig bei 5,5 ccm ein. Der Berechnung des Eiweißgehaltes in 100 ccm liegt folgende einfache Gleichung zugrunde:

$\frac{10 + V}{30\,V}$ V = Volumen des nötigen 10fach verdünnten Harnes, das zu den 10 ccm Wasser zugesetzt wurde; im Beispiel 5,5.

$$\frac{10 + 5{,}5}{30 \cdot 5{,}5} = \frac{15{,}5}{165} = 0{,}0933\,\%\text{ Eiweiß.}$$

Die Zahl 30 trägt der Verdünnung Rechnung, da immer in 100 ccm der Mischung, mit der die Reaktion eintritt, 0,0033 g Eiweiß vorhanden sind.

In einer ähnlichen Weise verfährt auch Mittelbach.[1])

Beurteilung.

Daß die erhaltenen Resultate keine absolut genauen sein können, liegt auf der Hand; doch vermag die Methode in der Praxis für schnelle Vergleichsanalysen immerhin Aufschluß zu geben und ist zu empfehlen; jedenfalls ist mit dieser Methode der Eiweißgehalt rascher und genauer zu bestimmen, wie mit der Esbachschen Probe, zumal wenn man sich darauf eingearbeitet hat.

c) Eiweißbestimmung nach O. Mayer.[2])

Prinzip.

Diese Bestimmungsmethode beruht auf dem gleichen Prinzipe, wie die von Brandberg u. Mittelbach abgeänderte Methode nach Roberts und Stolnikoff. In Anwendung kommt aber eine in ihrer Zusammensetzung von dem Spiegler-Jollesschen Reagens etwas verschiedene Lösung. Bei einer Verdünnung von 1 : 100000, entsprechend 0,001% Eiweiß, bildet sich beim Zusammenbringen von Reagens und Harn (Schichtprobe) an der Grenze beider Flüssigkeiten nach Ablauf von etwa 2—3 Minuten vom Beginne des Zufließenlassens an gerechnet, ein scharf begrenzter, weißlicher Ring.

In eiweißreicherem Harne wird der Ring schon früher sichtbar; man verdünnt dann je nach dem Ausfalle der Vorprobe den Harn mit einer gemessenen Menge Wasser, bis die Reaktion in der genannten Zeit eintritt und berechnet aus dem Verdünnungsgrade den Gehalt an Eiweiß, der mit Hilfe der Tabelle leicht gefunden wird.

Notwendige Lösung.

10 g Sublimat, 25 g Citronensäure und 65 g Chlornatrium werden in 500 g heißem Wasser gelöst; die Lösung wird nach mehrtägigem Stehen filtriert; sie besitzt ein spezif. Gewicht von 1,113, so daß auch ungewöhnlich schwerer Harn glatt darüber geschichtet werden kann; doch müssen die meisten Harne, die eiweißhaltig sind, wegen der Empfindlichkeit der Probe recht beträchtlich verdünnt werden.

Ausführung.

Etwa 5 ccm Reagens werden in konischen Gläschen[3]) langsam und vorsichtig aus fein ausgezogener Pipette mit etwa 5 ccm Harn überschichtet; man verfährt hier in ähnlicher Weise wie nach der Methode b); man verfolgt mit der Uhr das Eintreten des scharf begrenzten weißlichen Ringes.

Um am schnellsten zum Ziele zu gelangen, bereitet man die mit * bezeichneten Verdünnungen und erfährt aus dem Ausfalle der Schichtprobe die Grenzen, innerhalb welcher sich der Gehalt an Eiweiß bewegt.

Angenommen, der Harn lasse bei der qualitativen Prüfung (Kochprobe) nur Spuren von Eiweiß erkennen, so wird die Ringprobe nach Ablauf von $1^1/_2$—2 Minuten oder nur schwach eintreten; es ist dann Eiweiß unter 0,001% vorhanden. Ferner wird man bei leichter Trübung der Kochprobe 5 ccm Harn im Becherglase mit 20 ccm Wasser verdünnen und mit einem Teile dieser

[1]) Prag. med. Wochenschr. 1898. Nr. 30. 31.
[2]) Südd. Apoth.-Ztg. 1907. 47 350; Zeitschr. anal. Chem. 1919. 58. 337.
[3]) Von der Firma Johannes Greiner in München zu beziehen.

Mischung die Schichtprobe ausführen; entsteht die Zone gleich nach dem Zusammenbringen der Flüssigkeiten, so enthält der Harn erheblich mehr als 0,005% und man gehe zur nächsten mit * bezeichneten Verdünnung über. Zeigen sich schließlich bei der Kochprobe flockige Ausscheidungen, so mißt man mit der Pipette 5 ccm Harn in ein Becherglas ab und läßt aus der Bürette 45 ccm Wasser zufließen. Bei den weiteren Verdünnungen mißt man diesen zehnfach verdünnten Harn mit der Pipette ab und vermischt im Reagiercylinder mit der nötigen Menge Wasser aus jener Bürette. Im übrigen verfährt man in der aus der Tabelle ersichtlichen Weise.

Verdünnung	Herstellung	% Eiweiß
*1 fach	Unverdünnt	0,001
2 „	4 ccm Harn + 4 ccm Wasser	0,002
3 „	3 „ „ + 6 „ „	0,003
4 „	2 „ „ + 6 „ „	0,004
*5 fach	5 ccm Harn + 20 ccm Wasser	0,005
6 „	5 „ „ 5 fach + 1 „ „	0,006
7 „	5 „ „ „ + 2 „ „	0,007
8 „	5 „ „ „ + 3 „ „	0,008
9 „	5 „ „ „ + 4 „ „	0,009
*10 fach	5 ccm Harn + 45 ccm Wasser	0,01
20 „	5 „ „ 10 fach + 5 „ „	0,02
30 „	2 „ „ „ + 4 „ „	0,03
40 „	2 „ „ „ + 6 „ „	0,04
50 „	2 „ „ „ + 8 „ „	0,05
60 „	2 „ „ „ + 10 „ „	0,06
70 „	2 „ „ „ + 12 „ „	0,07
80 „	2 „ „ „ + 14 „ „	0,08
90 „	2 „ „ „ + 16 „ „	0,09
*100 fach	5 ccm Harn 10 fach + 45 ccm Wasser	0,1
150 „	4 „ „ 100 fach + 2 „ „	0,15
200 „	4 „ „ „ + 4 „ „	0,2
250 „	4 „ „ „ + 6 „ „	0,25
300 „	2 „ „ „ + 4 „ „	0,3
350 „	2 „ „ „ + 5 „ „	0,35
400 „	2 „ „ „ + 6 „ „	0,4
450 „	2 „ „ „ + 7 „ „	0,45
*500 fach	10 ccm Harn 100 fach + 40 ccm Wasser	0,5
550 „	10 „ „ 500 fach + 1 „ „	0,55
600 „	10 „ „ „ + 2 „ „	0,6
650 „	10 „ „ „ + 3 „ „	0,65
700 „	10 „ „ „ + 4 „ „	0,7
750 „	10 „ „ „ + 5 „ „	0,75
800 „	10 „ „ „ + 6 „ „	0,8
850 „	10 „ „ „ + 7 „ „	0,85
900 „	10 „ „ „ + 8 „ „	0,9
950 „	10 „ „ „ + 9 „ „	0,95
1000 „	10 „ „ „ + 10 „ „	1,0

Beurteilung.

Es gilt für diese Methode das bei dem Verfahren b) Gesagte.

d) Die Senatorsche Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe zur quantitativen Bestimmung von Eiweiß nach Th. Lohnstein.[1])

Prinzip.

Diese Senatorsche Probe beruht darauf, daß 4—5 ccm einer Eiweißlösung vom Eiweißgehalte 0,01%, mit etwa $^1/_5$ ihres Volumens konzentrierter Essigsäure versetzt, auf Zusatz von 1 Tropfen einer 5%igen Ferrocyankaliumlösung eine diffus stark ausgesprochene Opalescenz geben.

[1]) Archiv Physiol. 1895. 59. 479.

Notwendige Lösung.

Man stellt eine Eiweißlösung dadurch her, daß man natürliches Hühnereiweiß, das einen Eiweißgehalt von 11—13% hat, durch destilliertes Wasser auf das 6fache Volumen bringt und filtriert; hiebei findet ein solcher Eiweißverlust auf dem Filter statt, als ob die ursprüngliche Lösung nur eine Konzentration von etwa 10% gehabt hätte. Verdünnt man das Filtrat einer mit dem 5fachen Volumen destillierten Wassers versetzten Menge natürlichen Hühnereiweißes auf das 165fache, so hat man eine Eiweißlösung, deren Eiweißgehalt mit einer gewissen Annäherung 0,01% beträgt. Übrigens erhält man nach mehrmaliger Prüfung mit einer 0,01%igen Eiweißlösung eine hinreichende Übung in der Beurteilung des Grades der Opalescenz, um für annähernde Zwecke auch ohne Vergleichslösung auszukommen.

Ausführung.

Man verdünnt eine Probe des zu untersuchenden Urins so, daß eine Probe dieser Verdünnung im Reagenzglase — man bedient sich gleich dicker Reagenzgläser — mit $^1/_5$ Volumen konz. Essigsäure und 1 Tropfen 5%iger Ferrocyankaliumlösung versetzt, die gleiche Opalescenz gibt, wie dieselbe Menge der 0,01%igen Normallösung in gleich dickem Reagenzglase mit derselben Menge der Reagenzien behandelt. War hiebei eine n-fache Verdünnung des Urins notwendig, so betrug der Eiweißgehalt desselben $p = n \times 0{,}01$.

Beurteilung.

Die Methode gibt nach Lohnstein für die Zwecke der klinischen Praxis brauchbare Resultate.

e) Eiweißbestimmung nach O. Rößler.[1])

Prinzip.

Das Verfahren beruht auf dem Messen der Höhe des trüben Ringes oder der Zone, die beim Schichten von Harn auf verdünnte Essigsäure, die mit 2—3 Tropfen des Reagens von Spiegler-Jolles (S. 416) versetzt ist, entsteht.

Bei sehr großen Mengen von Eiweiß versagt die Methode, es muß dann eine entsprechende Verdünnung des Urins vorgenommen werden.

Ausführung.

Den filtrierten Harn schichtet man vorsichtig auf 5 ccm verdünnte Essigsäure, die 3 Tropfen des Reagens nach Spiegler-Jolles enthält. Je mehr Eiweiß vorhanden ist, desto schneller und um so stärker wird die weiße Zone der Quecksilbereiweißverbindung eintreten, deren Höhe man stets in der gleichen Zeit (nach 10 Minuten) und in gleichweiten Reagenzgläsern mit Hilfe eines Zirkels abnimmt und die man auf eine gerade Linie auftragen kann.

Da die Höhe der Zone in direktem Verhältnis zum jeweiligen Eiweißgehalte des Harnes steht, so erhält man, wenn man den Harn einer Person in gleichen Zwischenräumen prüft, ein Bild der täglichen Eiweißschwankungen in Form einer Kurve und diese zeigt deutlich die Einwirkung der Ruhe und Bewegung, von Bädern usw.

Kußmaul verwendete diese Methode, wobei der Harn stets genau mikroskopisch kontrolliert wurde, in folgender Weise:

1. Tag. Bestimmung des Eiweißes bei möglichster Ruhe des Patienten.
2. Tag. Bestimmung des Eiweißes, nachdem der Patient in der Ebene gegangen war.
3. Tag. Bestimmung des Eiweißes nach etwa zweistündigem mäßigem Bergsteigen des Patienten.

Es wurden in solchen Fällen nebenstehende Eiweißhöhen gefunden (Fig. 63).

Wie aus den verschiedenen Eiweißhöhen zu ersehen ist, verursacht Bewegung eine vermehrte Eiweißabscheidung, die schon bei eben beginnender Erkrankung der Niere mit dieser Methode mit großer Sicherheit zu erkennen ist. Ist es schon da möglich, Nierenkrankheiten im Anfangsstadium festzustellen, so läßt sich auch noch das Vorhandensein von Eiweiß aus der Niere neben anderem Eiweiß, das auf Sperma, auf Spaltungsprodukte des Schleims, auf Eiter usw. zurückzuführen ist, erkennen.

f) E. Riegler[2]) gründet auf die vollständige Fällung des Albumins durch ein Gemisch gleicher Teile Asaprol und Citronensäure eine annähernde Bestimmungsmethode des Eiweißes. In den Zylinder (Fig. 64) gibt man von dem Gemische (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 Zylinder. Man verschließt mit dem Kautschukstopfen und dreht den Zylinder zehnmal langsam um. Nach 24stündigem Stehen gibt die Zahl des Teilstriches am Zylinder, den der Niederschlag erreicht, die Gramme Albumin in einem Liter Harn an. Das Asaprolreagens kann auch als 10%ige Lösung angewendet werden.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1903. **29.** 335; Zentralbl. f. Harn- u. Sexualorg. **5.** Heft 6.
[2]) Apoth.-Ztg. **72.** 89.

Beurteilung.

Die Methode (f) ist, wie alle anderen ähnlichen, selbstverständlich keine exakte; sie wird aber für den Arzt zur Orientierung bei vergleichenden Versuchen immerhin brauchbaren Aufschluß geben.

g) Bestimmung nach G. Buchner.[1])

Prinzip.

Aus eiweißhaltigem Harne wird durch Kochen, durch nachfolgenden Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure und von der nötigen Menge gesättigter Kochsalzlösung das Eiweiß aus

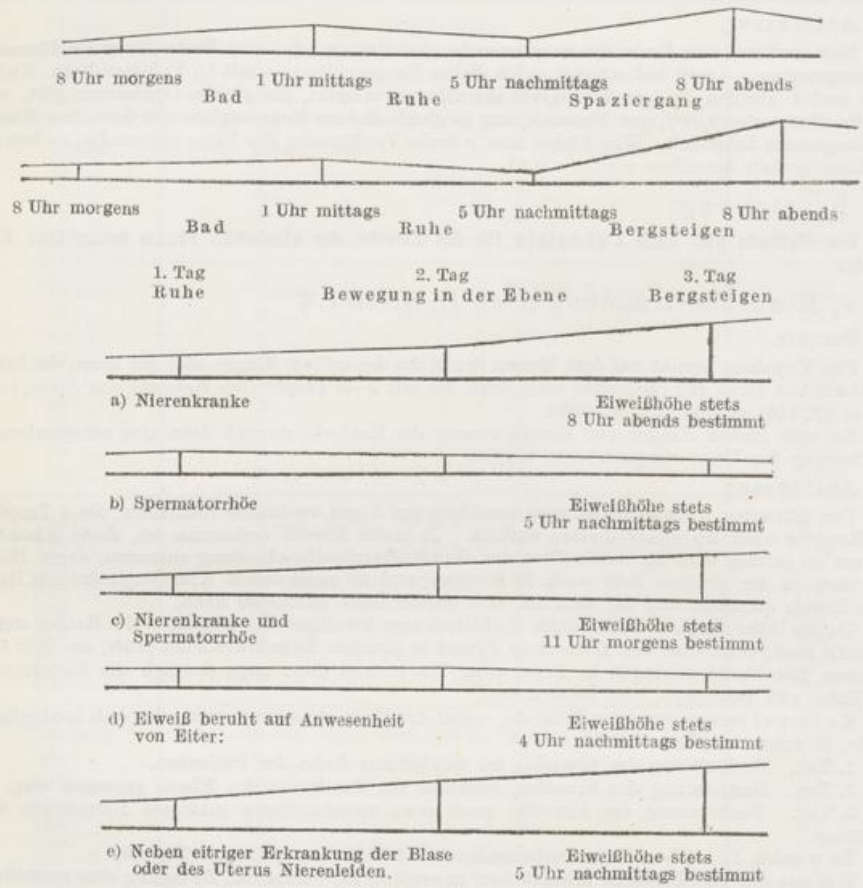


Fig. 63.

geschieden; dieses Eiweiß setzt sich dicht und gleichmäßig in einer Stunde ab; aus der Höhe dieser Eiweißschicht läßt sich der Eiweißgehalt des Harnes im Albuminimeter ermitteln. Es kommen Harne mit 0,1—3,0‰ Eiweiß in Betracht. Nach weiteren Mitteilungen des Verf. dürfen eiweißreichere Harne nicht einfach mit Wasser, z. B. auf das doppelte Volumen verdünnt und das Resultat mit 2 multipliziert werden; das gleiche gilt von der Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel; es spielt beim Absetzen und Zentrifugieren des abgeschiedenen Eiweißes die Viskosität des Harnes eine große Rolle. Wenn eine Verdünnung vorzunehmen ist, dann verdünnt man mit dem gleichen Harne, aus dem vorher das Eiweiß durch Kochen entfernt worden ist.

Ausführung.

Man bringt in das Reagenzrohr genau 8 ccm (Marke 1) klaren filtrierten Harn und erhitzt diesen vorsichtig zum Kochen; sodann setzt man 2—3 Tropfen Salpetersäure zu (Marke 2) (bei

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 1167; der Apparat ist von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin N., Chausseestr. 3, zu beziehen.

alkalischem Harne selbstverständlich soviel, daß deutlich saure Reaktion eintritt) und 2 ccm (Marke 3) gesättigte Kochsalzlösung; hierauf mischt man sorgfältigst durch Umschütteln oder Umrühren mit einem Glasstäbchen; nun gießt man unter Umschütteln den Inhalt der Kochröhre in den Albuminimeter, der in den Kork eingestellt wird. Man notiert die Zeit und befördert das Absetzen des Eiweißes durch öfteres gelindes Aufstoßen des Albuminimeters. Genau nach einer Stunde liest man mit Hilfe der Lupe die Höhe der abgesetzten Eiweißschicht ab. Jeder ccm = 1,0‰ Eiweiß, 0,1 ccm = 0,1‰.

Wenn sich in einzelnen Fällen das Eiweiß nicht zusammenhängend absetzt, wenn sich voneinander getrennte Flocken bilden, dann rührt man mit einem dünnen Glasstäbchen vorsichtig um oder führt mit dem Albuminimeter rotierende Bewegungen aus.

Setzt sich nach 1 Stunde kein Eiweiß ab, ist nur eine Opalescenz oder minimale feinflockige Ausscheidung zu bemerken, dann enthält der Harn unter 0,1‰ Eiweiß, sofern es sich um Eiweiß und nicht um die mucinähnliche Substanz handelt, die ähnliche Trübung veranlassen, die man aber vorher in bekannter Weise entfernen kann.

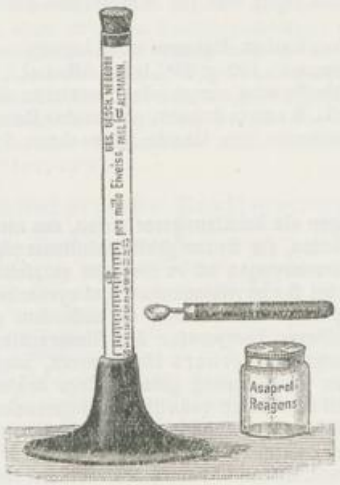


Fig. 64.

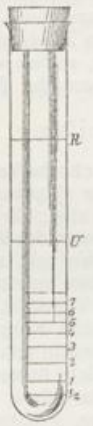


Fig. 65.

Beurteilung.

Nach seinen vieljährigen Erfahrungen und Versuchsergebnissen glaubt Buchner diese Art der Eiweißbestimmung für klinische Zwecke empfehlen zu können. Die nicht immer gleiche Dichte der Fällung wird natürlich auch hier die unvermeidlichen Fehler bedingen.

R. v. Hoeßlin[1]) verwendet besondere, von J. Greiner in München (Mathildenstraße) zu beziehende graduierte Röhrchen, in die der gekochte Harn (10 ccm mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert) gegossen und in denen zentrifugiert wird.

h) Bestimmung nach Esbach.[2])

Prinzip und notwendige Lösung.

Aus der Höhe eines erhaltenen Eiweißniederschlages wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harnes an Eiweiß geschätzt.

Das Esbachsche Reagens, mit dem das Eiweiß gefällt wird, ist eine Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Citronensäure im Liter Wasser. Harn mit höherem spez. Gewicht wie 1,008 und einem Eiweißgehalte über 0,4% ist entsprechend zu verdünnen; es werden dadurch auch die oft zu beobachtenden krystallinischen oder krystallisierten Ausscheidungen verhindert.

Ausführung.

Sauer reagierender Harn — wenn dies nicht der Fall ist, so säuert man ihn deutlich mit Essigsäure an — wird in ein graduiertes reines trockenes Rohr (Albuminimeter), das inzwischen in verschiedenen Formen zur Anwendung gelangt (Fig. 65) — das spitz zulaufende von 10,5 cm Skalenlänge ist dem halbkugeligen vorzuziehen — , bis zur Marke *U* eingegossen, darauf wird

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **56.** 1674.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. **23.** 117.

bis zur Marke *R* die Reagenzlösung nachgefüllt, das Glas mit dem Kautschukstopfen verschlossen und, ohne zu schütteln, 10—12mal langsam, zur Vermeidung von Luftblasen, umgekehrt. Man läßt das Glas in einem Gestell aufrecht stehen und liest in dem graduierten Rohre nach 24stündigem Stehen die Höhe des Niederschlages ab. Die Striche geben in Grammen die Eiweißmenge in 1000 ccm Harn an. Die Bestimmung ist am besten in einem Zimmer mit konstanter Temperatur bei 18° C vorzunehmen, da die Temperatur von Einfluß ist; bei vorgenommener Verdünnung ist der Verdünnungsgrad in Rechnung zu ziehen.

Gawalowski empfiehlt 10 g Pikrinsäure, 20 g Citronensäure in 500 ccm destillierten Wassers zu lösen, 350 ccm 95%igen Alkohol zuzusetzen und auf 1 Liter aufzufüllen. Wenn die Reaktion bei 40—60° C vorgenommen wird, so verkürzt sich bei Anwendung von diesem Reagens die Zeit der Resultatablesung um die Hälfte.

Es sind noch verschiedene Abänderungen des Nachweises nach Esbach versucht und empfohlen worden. Kwilecki[1]) setzt in seinem Apparate dem sauren Harne 10 Tropfen einer 10%igen Eisenchloridlösung zu und nimmt die Abscheidung bei etwa 72° vor; die Bestimmung soll in wenigen Minuten fertig sein. Den Apparat stellt man ins Wasser, das auf die angegebene Temperatur erhitzt ist.

Tsuchiya[2]) empfiehlt an Stelle des Esbachschen Reagens eine Lösung von 1,5 g Phosphorwolframsäure und 5 g konzentrierter Salzsäure in 100 g 96%igem Alkohol. Von Mehring wird die gleiche Mischung angegeben. Die Methode wird verschieden beurteilt; die einen finden sie brauchbarer, andere weniger. E. Pfeiffer, L. Krauss bringen erneut das Reagens; Pfeiffer benützt einen von der Firma Stoss in Wiesbaden in den Handel gebrachten Apparat.

Beurteilung.

Das Esbachsche Verfahren ist wie die vorigen ein Schätzungsverfahren, das nicht viel genauer ist, als das unter a) genannte, da die dort erwähnten, die Genauigkeit beeinflussenden Fehler auch hier vorhanden sind; für halbwegs genaue Untersuchungen ist es nicht zu empfehlen. Vor allem ist notwendig, wenn das Verfahren zur Diagnose bei der physiologischen und cyclischen Albuminurie verwendet werden soll, stets bei gleicher Temperatur zu arbeiten, da außerdem ganz verkehrte Resultate erhalten werden können, weil bei höherer Temperatur der Niederschlag infolge Verminderung der Viscosität sich stärker zusammenballt. Mörners Harnmucoid, auch der Heller-Bence-Jonessche Körper können zu Irrtümern Veranlassung geben. Zum Schlusse mag noch aufmerksam gemacht sein, daß die Gradteilung mit dem durch quantitative Untersuchung ermittelten Eiweißgehalte nicht immer übereinstimmt, und daß auch Alkaloide (nach Einnehmen solcher) sowie Basen, ferner Harnsäure, Kreatinin gefällt werden, die meist krystallinisch (besonders Chinin, Antipyrin, Harnsäure, Kreatinin als pikrinsaures Kreatininkalium) ausgeschieden werden; auch Hexamethylentetramin usw. soll stören; zweckmäßig wäre es deshalb, den Niederschlag noch mikroskopisch zu prüfen; die Eiweißfällung ist amorph.

Bei manchen Harnen, besonders in salzarmen, setzt sich der Eiweißniederschlag nicht oder nicht vollständig ab; hier ist das Verfahren unbrauchbar. Bei reichlicherer Anwesenheit von Kaliumsalzen (im Harne fiebernder Patienten) kann sich ein schwerer Niederschlag von Kaliumpikrat absetzen; es ist also auch hierauf Rücksicht zu nehmen.

i) Eiweißbestimmungsmethode nach A. Aufrecht.[3])

Das Verfahren ist dem Esbachschen ähnlich; durch die Anwendung der Zentrifuge wird die Bestimmung in kurzer Zeit (2—3 Minuten) erledigt.

Der Apparat besteht aus einem oben erweiterten, dann engeren, unten geschlossenen Reagenzrohr; der weitere Teil trägt die Marke *R*, der engere die Bezeichnung *U* und die Skala. 4 ccm des sauer reagierenden, außerdem mit Essigsäure angesäuerten Harnes (Einfüllen bis zur Marke *U*) und 3 ccm des Reagens (1,2 g Pikrinsäure und 3 g Citronensäure auf 100 g dest. Wasser) (Aufschichten bis zur Marke *R*) werden in das Röhrchen gebracht, das mit dem Gummistopfen verschlossen wird. Die Flüssigkeiten werden durch mehrmaliges langsames Umwenden des Glases gemischt; letzteres wird in eine Zentrifuge gebracht und 2 Minuten bei 5000, 3 Minuten bei 2000 bis 2500 Umdrehungen zentrifugiert. Man liest an der Skala direkt aus der Höhe des Eiweißniederschlages die Eiweißmenge in Prozenten ab.

Zur Bestimmung von Albumosen, Propeptonen oder richtiger gesagt von nicht koagulierbaren, biuretgebenden Eiweißstoffen werden 4 ccm Harn durch Erhitzen in einer Reagenzröhre vom Albumin befreit, das kalte Filtrat wird in den Apparat gebracht, bis zur Marke U wird absoluter Alkohol zugesetzt und 2 Minuten lang zentrifugiert.

Den Gehalt an Albumosen liest man ab.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **56.** 1330.

[2]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1908. **29.** 105.

[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1909. **35.** 2018. Der Apparat ist von der chem. Fabrik Goedecke & Co., Leipzig u. Berlin N. 24 zu beziehen.

Beurteilung.

Das Aufrechtsche Verfahren ist jedenfalls sehr einfach, führt schnell zum Ziel, ein Verdünnen des Harnes ist unnötig. die Fehler bei der Abscheidung der Fällung fallen größtenteils weg, es erfüllt seinen Zweck als klinisches Verfahren. In gleicher Weise wird das Verfahren von B. Wienss[1]) beurteilt.

k) Bestimmung nach L. E. Walbum[2]) mit dem Albuminimeter.

Das Verfahren gründet sich auf die Trübung, die Trichloressigsäure in Eiweißlösungen erzeugt; eine solche Trübung, einen ganz bestimmten Gehalt an Eiweiß darstellend, ist durch ein ebenso stark getrübtes Normalglas festgestellt, das zum Vergleiche dient; diese Vergleichung wird in einem Holzgestell vorgenommen, neben dem Normalglas befindet sich das graduierte zylindrische Gefäß, das Meßrohr. Bei zu großem Eiweißgehalte muß der Harn entsprechend verdünnt werden.

In das Meßrohr bringt man mit der beigegebenen Pipette 2 ccm vom klaren Harne und füllt vom Reagens I, einer 10%igen Trichloressigsäure, bis zur Marke 0,1 auf. Man schüttelt das Meßrohr um und vergleicht die Trübung mit der des Normalvergleichglases in dem Apparate, der von der Fa. P. Altmann in Berlin NW. zu beziehen ist. Ist die Mischung weniger durchsichtig wie das Glas, dann wird sie mit dem Reagens II, einer 25%igen Kochsalzlösung so lange verdünnt, bis die Durchsichtigkeit die gleiche, wie die des Normalglases ist.

Albuminimeter beschreiben auch K. Braungard, A. Jonass und A. Edelmann, R. Weiss, C. Strzyzowski.

l) Maßanalytische Bestimmungsmethoden.

Boedeker, neuerdings auch E. Justin Müller, verwenden 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, Wassilyew verwendet die Salicylsulfonsäure. K. Kollo benutzt ebenfalls diese und als Indicator eine Lösung von Cersulfat, das mit Phenolen rotbraun wird. Man mißt 25—50 ccm klar filtrierten oder entfärbten Harn ab und verdünnt je nach dem größeren oder geringeren Eiweißgehalte mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers. Man verteilt mehrere Tropfen Cersulfatlösung auf eine Porzellanplatte und läßt von der genau eingestellten 25%igen Sulfosalicylsäurelösung so lange dem Harne zufließen, bis ein herausgenommener Tropfen mit einem Tropfen des Indicators zusammengebracht eine rotbraune Färbung oder einen Niederschlag von gleicher Farbe hervorruft. Man multipliziert die verbrauchten Kubikzentimeter Lösung mit dem Faktor 0,0106.

Beurteilung.

Die drei erst erwähnten maßanalytischen Methoden geben unrichtige Resultate, sie sind unbrauchbar. Ob das von Kollo angegebene Verfahren brauchbare Ergebnisse liefert, habe ich nicht geprüft.

Kolorimetrische Verfahren empfehlen M. Claudius (Kolorimeter und Reagenzien von Dr. Grübler & Cie. in Leipzig), W. Autenrieth und Frieda Mink[3]). (Kolorimeter Autenrieth-Koenigsberger).

Proteometer nennt T. Morikawa einen Apparat, der auf dem Prinzip beruht, daß Eiweiß mit alkalischer Kupferlösung die Biuretreaktion gibt und daß je nach der vorhandenen Menge eine verschieden große Menge Wasser erforderlich ist, um die aufgetretene Rosafärbung zum Verschwinden zu bringen.

Wahl der Methode für die quantitative Eiweißbestimmung.

Genaue Resultate gibt die Methode I. Für klinische Zwecke genügt die Aufrechtsche Probe oder eines der annähernden Bestimmungsverfahren, und zwar empfiehlt es sich, sich auf eine der erwähnten Methoden (oder auch auf eine qualitative Probe, im Vergleiche mit einer Eiweißlösung von bekanntem Gehalte) einzuarbeiten, da man dann nach einiger Übung die ungefähr vorhandene Eiweißmenge schätzen lernt. Ich empfehle die Methode 5b oder 5c, die Probe 5e wird für die dort angegebenen Zwecke vorteilhaft benützt werden können.

Nach L. Lichtwitz[4]) genügt eine Abschätzung wie unter 5a genannt allen Anforderungen der Praxis. Die quantitative Eiweißbestimmung wird nach seiner Ansicht von vielen Ärzten und Patienten überschätzt. Es ist für die Beurteilung einer Albuminurie natürlich nicht gleichgültig, ob ein Kranker 1‰ oder 20‰ Eiweiß ausscheidet, unwesentlich ist aber, ob die Ausscheidung

---

[1]) Pharm. Centralh. 1920. **61.** 535.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1908. **34.** 1728.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1915. **62.** 1417.
[4]) Praxis der Nierenkrankheiten. J. Springer, Berlin 1921.

10‰ oder 20‰ beträgt und es ist, wenn man nicht gerade den Einfluß einer besonderen Maßnahme (etwa eines Marsches) prüfen will, ohne jeden Belang, ob der Mann 1/4 oder 3/4‰ ausscheidet. Die quantitative Bestimmung, richtiger gesagt, Abschätzung ist von Wichtigkeit bei allen akuten Fällen, weil das Abklingen der Albuminurie allen Beteiligten Freude macht. Bei der chronischen Eiweißausscheidung sind aber nur erhebliche Änderungen der Eiweißmenge von Bedeutung, die gewöhnlich nicht als einzige Erscheinung, sondern zusammen mit anderen Symptomen (Harnmenge, Allgemeinbefinden) auftreten.

Trennung des Albumins vom Globulin. Nachweis des letzteren.

Das Globulin ist stets Begleiter des Serumalbumins in jedem eiweißhaltigen Harne. Ob der eine oder der andere Eiweißstoff bei den verschiedenen Albuminurien eine vorwiegende Rolle spielt, kennt man mit Sicherheit nicht; nur bei der akuten Nephritis, ebenso bei der Amyloidentartung unter den chronischen Nierenleiden ist nach Senator u. a. das Globulin in größerer Menge vorhanden, ebenso bei Pneumonie.

Nochmals kurz zusammengefaßt und gesagt sind die wesentlichen Eigenschaften und Unterschiede zwischen den beiden kolloidalen Eiweißkörpern folgende:

Weitere Eigenschaften siehe Seite 408.

Die Albumine sind koagulierbare, neutrale, in salzfreiem Wasser, in verdünnten Salzlösungen, Säuren und Alkalien lösliche Eiweißkörper. Die reinen Lösungen sind neutral. Sie sind schwerer fällbar, als die Globuline. Sie werden nicht gefällt durch Sättigen ihrer Lösungen bei neutraler Reaktion mit Kochsalz, mit Magnesiumsulfat, dagegen nach Starke durch Sättigen mit Magnesiumsulfat und Natriumsulfat kombiniert, und durch Sättigen mit Kochsalz oder mit Magnesiumsulfat bei saurer Reaktion.

Durch Halbsättigen ihrer Lösungen mit Ammoniumsulfat werden sie nicht ausgesalzen; bei saurer Reaktion wird die Fällungsgrenze herabgesetzt, die Fällung tritt viel leichter ein.

Die Globuline sind koagulierbare, saure (Säuren), in reinem Wasser, in verdünnten Säuren unlösliche, in verdünnten Alkalien, in Neutralsalzlösungen und stärkeren Säuren lösliche Eiweißkörper. Aus ihren salzhaltigen Lösungen werden sie durch Verdünnen mit Wasser, weit vollständiger nach dem Entfernen der Salze durch Dialyse, gefällt In Salzlösungen sind sie wieder löslich. Durch Ansäuern der Lösungen, auch durch Durchleiten von Kohlensäure, werden sie gefällt und sind in neutralen Lösungen wieder löslich. Sie werden aber, gefällt, rascher unlöslich oder denaturiert, wie die Albumine.

Bei vollständiger Sättigung der Lösung werden sie durch Magnesiumsulfat, auch durch Chlornatrium (hier teilweise) ausgesalzen. Durch Halbsättigung ihrer Lösungen mit Ammoniumsulfat werden sie vollständig gefällt.

Qualitativer Nachweis.

1. Zum qualitativen Nachweis kann man die Eigenschaft des Globulins benützen, sich beim Verdünnen des Harnes durch eine Ausscheidung bemerkbar zu machen, da Globulin in Wasser schwer löslich ist. Verdünnt man den filtrierten Harn (50 ccm) mit der 10fachen Menge destillierten Wassers, so macht sich gewöhnlich — noch schneller nach Zusatz von 1—2 Tropfen verdünnter Essigsäure oder Borsäurelösung — die Anwesenheit von Globulin durch einen flockigen Niederschlag bemerkbar.
2. Siehe bei Trennung.
3. Der Nachweis kann auch durch Einleiten von Kohlensäure in schwach mit Essigsäure angesäuerten Harn gelingen, wobei nach längerem Stehen flockige Ausscheidung erfolgt und das Globulin in Protein umgewandelt wird.

4. Man kann die Anwesenheit von Globulin auch noch daran erkennen, daß bei der Ferrocyankaliumessigsäureprobe oder bei der Probe nach Roberts schon nach Zusatz von Spuren Essigsäure eine Trübung eintritt, die weder beim Erhitzen, noch auch nach Zusatz von Alkohol verschwindet.

Ausführung der Trennung der beiden Eiweißstoffe.

Der Harn darf nicht sauer reagieren und keine Albumosen enthalten; stark sauere Harne versetzt man daher bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit Kali- oder Natronlauge oder Ammoniak, läßt einige Zeit stehen und filtriert einen entstandenen Phosphatniederschlag ab; harnsäurereiche Harne kühlt man einige Stunden auf + 1° ab und entfernt die ausgeschiedene Harnsäure durch Filtrieren.

1. Von dem so vorbereiteten Harne mißt man nach O. Hammarsten[1]) je nach dem Eiweißgehalte des Harnes 25—100 ccm in ein Becherglas ab und füllt, wenn man weniger Harn verwendet als 100 ccm, auf 100 ccm auf. Man trägt 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 die Mischung auch in der Wärme bei 40° behandeln, es geht die Lösung schneller vor sich, nur muß man erkalten lassen, damit im Überschusse vorhandenes, gelöstes Salz erst vor dem Filtrieren auskrystallisiert —, dann bringt man die Flüssigkeit mit den Globulinflocken auf ein gewogenes, vorher mit Bittersalzlösung angefeuchtetes Filter, rührt 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 Trockenschranke getrocknet, um das Paraglobulin in den unlöslichen Zustand überzuführen, der Filterrückstand durch Auswaschen mit heißem Wasser vom Magnesiumsulfat vollständig befreit, mit Alkohol und Äther gewaschen, das Filter mit Rückstand bei 110° getrocknet und schließlich gewogen. Das Filter mit Rückstand verascht man und bringt die Asche vom gefundenen Globulin in Abzug. Selbstverständlich kann man auch in dem salzhaltigen Globulin nach Kjeldahl den Stickstoff bestimmen.

2. Nach Hofmeister und Pohl[2]) wird das Globulin durch Ammoniumsulfat ausgefällt.

Ausführung.

Der Harn wird mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaktion versetzt — bei saurer Reaktion wird auch das Serumalbumin gefällt —, vom entstandenen Phosphatniederschlage wird abfiltriert und das Filtrat mit dem gleichen Volumen einer kalt gesättigten Ammoniumsulfatlösung

[1]) Archiv Physiol. **17**. 431 und 447; **22**. 437.
[2]) Archiv exp. Patholog. 1886. **20**. 426.

versetzt. Sobald sich der weiße, flockige Niederschlag abgesetzt hat (nach einer Stunde), bringt man ihn unter den bei der Eiweißbestimmung angegebenen Vorsichtsmaßregeln auf ein vorher gewogenes Filter und wäscht mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung, bis im Filtrate durch Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiß mehr nachzuweisen ist. Man trocknet Trichter mit Filter etwa $^1/_2$ Stunde lang bei 110°, um das Globulin unlöslich zu machen, wäscht dann das Filter mit heißem Wasser zur Entfernung des Ammoniumsulfates und behandelt weiter wie oben angegeben.

Beurteilung.

Das zweite Verfahren 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. Übrigens sind beide Methoden nicht genau, da auch „Albumosen" ganz oder teilweise gefällt werden können.

Man kann im Filtrate vom Globulin das Albumin bestimmen; am einfachsten ist es, von dem gefundenen Gesamteiweiß die gefundene Globulinmenge in Abzug zu bringen; der Rest ist Albumin.

Annähernd kann man das Globulin nach der Stolnikoff-Brandbergschen Methode aus der Differenz bestimmen; es wird nach Lecorrhé und Talamon das Filtrat von der Magnesiumsulfatbehandlung verwendet und in diesem das Albumin bestimmt; dieser gefundene Eiweißgehalt von dem Gesamteiweiß in Abzug gebracht, ergibt als Rest Globulin.

Man glaubt, annehmen zu können, daß im Globulin wenigstens zwei verschiedene Globuline vorhanden sind. Wenn man das Serumglobulin dialysiert, so scheidet sich nicht alles Globulin aus, ein Teil bleibt gelöst, der auch nach Säurezusatz nicht gefällt wird. Der leichter lösliche Teil wird auch durch Ammoniumsulfat schwerer, der schwerlösliche oder unlösliche durch Ammoniumsulfat leichter ausgesalzen. Ersteren nannte man Pseudoglobulin, den letzteren Euglobulin.

Zur getrennten Bestimmung dieser beiden soll man nach E. Zak und F. Necker[1]) eine abgemessene Menge Harn mit Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion und das Filtrat von den ausgeschiedenen und einmal mit Wasser nachgewaschenen Phosphaten mit dem halben Volumen einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung versetzen. Das Euglobulin soll sich ausscheiden, das nach mehrstündigem Stehen auf einem gewogenen Filter abfiltriert und mit $^1/_3$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und bei 110° getrocknet wird. Den Niederschlag behandelt man weiter, wie bei der Bestimmung der Globuline angegeben. Zieht man diese gefundene Globulinmenge von der gefundenen Gesamtmenge ab, so bleibt als Rest das Pseudoglobulin.

Verschiedene Forscher (E. Fuld, K. Spiro, O. Porges, E. Freund, J. Joachim, O. Rostoski u. a.) fanden, daß besonders durch Fraktionieren usw. wohl noch weitere Globuline abzutrennen sein möchten. Nach O. Hammarsten ist es aber nicht bewiesen, daß es sich um verschiedene chemische Körper handelt.

Aus dem Verhältnis von Globulin zum Albumin im Harne wollen C. Patein und E. Roux Anhaltspunkte über den Verlauf verschiedener Nierenerkrankungen gewinnen, was nach dem früher Erwähnten unwahrscheinlich ist.

C. *Fibrin.*

Fibrin kann neben Paraglobulin bei Erkrankungen der Nieren, bei Blutungen in den Harnwegen, sowei bei Chylurie, auch bei hochgradigen Exsudationsprozessen der Harnwege, bei Nierentuberkulose, bei Diphtherie, bei amyloider Nieren- und Nierenbeckendegeneration, bei Zottenkrebs der Blase, nach Gebrauch von Cantharidenpflaster vorkommen; das Fibrin wird manchmal schon durch das Fibrinferment in der Blase koaguliert (Fibringerinnung) und in Flocken ausgeschieden, oder es koaguliert erst nach der Entleerung, indem sich aus der fibrinogenen Substanz festes flockiges oder gallertartiges Fibrin abscheidet, das mitunter mit Blut vermischt als feineres oder gröberes Blutkoagulum erscheint. (Fibrinurie.)

[1]) Archiv klin. Mediz. 1907. 88. 545.

Nachweis.

1. Wenn sich Gerinnsel im meist blutig oder gelbrot gefärbten Harne vorfindet, sei es in Flocken oder Fasern, so sammelt man dies auf einem Filter und wäscht den Rückstand tüchtig mit 5—10%iger thymolisierter Kochsalzlösung zur Entfernung von Blutfarbstoff aus, bis die Lösung keine Eiweißreaktion mehr gibt. Ein bleibender Rückstand deutet auf Fibrin, der sich in der Wärme, nicht in der Kälte, mit 1%iger Sodalösung oder 0,5%iger Salzsäure digeriert, allmählich lösen und dann in der Lösung die Eiweißreaktionen geben muß; schnellere Lösung erzielt man, wenn man zu der sauren Gallerte etwas Pepsin zusetzt.
2. Siehe mikroskopische Untersuchung bei Fibrin.

Eigenschaften.

Im Gegensatze zu den genuinen Eiweißkörpern (Albumin, Globulin) löst sich das Fibrin in neutralen Salzlösungen nicht, auch nicht in verdünnten Laugen und Säuren, es entsteht nur eine Gallerte. Nur in der Wärme wird es durch letztere Lösungsmittel, allerdings unter Denaturierung gelöst.

D. Die durch Essigsäure fällbaren Eiweißstoffe des Harnes.

Schon Seite 399 ist eingehend auseinandergesetzt worden, daß es sich bei der Fällung, die durch Zusatz von Essigsäure zum Harne in häufigen Fällen beobachtet wird, nicht etwa um einen bestimmten Körper handeln kann, sondern daß hier mehrere in Betracht kommen können; es wurde auch bereits erwähnt, daß diese fällbaren Stoffe Eiweißkörper darstellen, deren Eiweiß im Gegensatze zu den aus dem Blute stammenden Eiweißkörpern zum Teil aus anderer Quelle kommt, zum Teil wieder genuines Eiweiß in Verbindung mit anderen Stoffen darstellt. Man hat diese Körper, weil durch Essigsäure auf kaltem Wege ausscheidbar, einfach auch als „Essigsäurekörper", als „Essigsäureeiweiß" bezeichnet. Ihre diagnostische Bedeutung ist zum Teil eine ganz andere, als die der echten Eiweißstoffe.

I. Echtes Mucin, Schleim, typisches Harnmucoid K. A. Moerners.

Mucine sind Verbindungen der eigentlichen Eiweißstoffe mit Substanzen der Kohlenhydratgruppe. Sie kommen im normalen Harne, besonders in dem der Frauen, häufig, wenn auch in nicht zu großer Menge — aus 260 Liter Harn gewann Moerner etwa 4,5 g — vor und stammen aus der Schleimhaut der Harnwege. Wir bemerken das Vorhandensein von Schleim, Mucin schon an den sich bildenden Wölkchen (nubeculae) beim längeren Stehen des Harnes; die Nubecula des normalen Harnes besteht aus diesem typischen Mucin, dem Schleim, dem Harnmucoid, dessen Ausscheidung freiwillig erfolgt. Bei verschiedenen Krankheiten kann das Mucin in manchmal sehr vermehrter Menge auftreten, so bei den verschiedenen Cystitisformen, bei Tripper, bei Katarrhen der Harnröhre und der Scheide, bei Nieren- und

Leberkrankheiten, bei akuten Infektionskrankheiten (Scharlach, Diphtherie), bei Leukämie, bei Vergiftungen (Canthariden,) nach Auflegen von Senfteigen, Einreibungen mit Terpentinöl.

Was die Namen Mucin, Mucoid, Harnmucoid anbelangt, so besagen diese hier das gleiche.

Mucine, Mucoide sind saure, phosphorfreie Eiweißkörper, aus denen beim Kochen mit Säuren eine reduzierende Substanz hervorgeht; das Kohlenhydrat ist meist in nicht unbeträchtlicher Menge vorhanden. Sie sind also Glykoproteide.

Im allgemeinen unterscheiden sich die Mucoide von den Mucinen durch ihre mangelnde Fällbarkeit mit Säuren. Die Abgrenzung der eigentlichen Mucoide von den Mucinen ist eine willkürliche; eigentlich soll man mit Mucinen nur die von Epithelien sezernierten Schleimstoffe bezeichnen (O. Cohnheim). Hier haben wir es mit solchen Schleimstoffen zu tun; hier beim Harne bedeuten die beiden Begriffe das gleiche; man könnte am zweckmäßigsten von Mucin reden.

Das aus dem Harne isolierte Mucin oder Harnmucoid war oder ist eben, wie wir es auch bei anderen Proteinen und Proteiden gesehen haben, nicht immer wegen der verschiedenen verunreinigenden Stoffe von gleicher Eigenschaft, besonders was die Löslichkeit betraf, und so kam es eben auch hier zu den verschiedenen Bezeichnungen.

Das Harnmucoid verhält sich aber gegen Essigsäure, wie das typische Mucin, es steht also diesem mindestens sehr nahe, es wird auch durch wenig Essigsäure (30 %ige) zum klaren kalten Harne gefällt; die Fällung kann nur ausbleiben, wenn zuviel Salze vorhanden sind; gibt man Chloroform hinzu und schüttelt, so erfolgt gegebenenfalls nach entsprechender Verdünnung eine Ausscheidung einer flockigen klebrigen Substanz.

Die durch wenig Essigsäure hervorgerufene Trübung oder Fällung löst sich in im Überschusse zugegebener Essigsäure wieder; noch leichter erfolgt die Lösung durch Mineralsäuren.

Darstellung und Nachweis. (A. C. Andersen, C. Neuberg.)[1])

Man läßt den Harn, der mit Chloroform konserviert ist, zum Absetzen der Nubecula stehen, hebert den Harn ab und verwahrt die schleimige Substanz in Alkohol, bis eine größere Harnmenge verarbeitet ist. Dann schüttelt man die isolierte Substanz mit Wasser an, gibt Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion zu und leitet nach erfolgter Lösung Kohlensäure in die nicht filtrierte Lösung bis zur schwach sauren Reaktion ein. Man läßt einige Tage in der Kälte stehen und entfernt ausgeschiedene Harnsäure und andere Verunreinigungen durch Filtrieren. Die Lösung versetzt man mit Essigsäure bis zu etwa 0,4 % und schüttelt mit Chloroform in reichlicher Menge tüchtig durch; die durch Zentrifugieren abgeschiedene und mit 0,2 bis 0,4 %iger chloroformgesättigter Essigsäure gewaschene klebrige Fällung

[1]) Der Harn usw. J. Springer, Berlin 1911.

wird in Wasser, wenn nötig nach Zusatz von wenig Ammoniak, gelöst und noch einmal wie angegeben gefällt. Zuletzt wäscht man die Substanz mit Alkohol und Äther und trocknet sie über Schwefelsäure. In den Mutterlaugen findet sich ein lösliches Mucoid, das von dem anderen unwesentlich verschieden ist; es hängt ganz vom Salzgehalt ab, ob in der Mutterlauge mehr oder weniger Mucoid gelöst bleibt. Aus den im Wasserbade konzentrierten Mutterlaugen, die neutral sein müssen, kann man durch Alkohol bei schwach saurer Reaktion das darin enthaltene Mucoid fällen. Die Lösung des Niederschlages dialysiert man und fällt durch Alkohol. Die Fällung wird oft stärker nach Zusatz von etwas Kochsalz. Man löst nochmals in Wasser, fällt wieder durch Alkohol, behandelt mit Äther und trocknet über Schwefelsäure.

Nachweis und Unterscheidung von den durch Essigsäure fällbaren Eiweißstoffen, den sog. Mucinen, dem sog. Nucleoalbumin. (Siehe nachstehend unter II.)

1. Die gereinigte, mehrmals mit Alkohol gewaschene Substanz wird mit sehr verdünnter Salzsäure erhitzt und die Lösung auf das Verhalten gegen Fehlingsche Lösung geprüft. Starke Reduktion beim Vorhandensein von Mucin.

   Die Lösung darf keine Schwefelsäure enthalten.

   Die sog. Mucine, die mucinähnliche Substanz usw. reduzieren ebenfalls Fehlingsche Lösung, nur weit geringer, sie geben aber infolge der Anwesenheit der Chondroitinschwefelsäure eine deutliche Schwefelsäurereaktion.

2. Im Überschusse der zur Fällung dienenden Essigsäure lösen sich die echten Mucine. Die Verbindungen mit der Chondroitinschwefelsäure geben mit Essigsäure (Metaphosphorsäure, Sulfosalicylsäure u. a.) Niederschläge, die im Überschusse der Fällungsmittel unlöslich sind.

Eigenschaften.

Das Mucin besitzt, wie die Eiweißstoffe, sauren Charakter, löst sich in reinem Wasser nicht, leicht nach Zusatz von sehr wenig Alkali, Ammoniak oder Natriumacetat; beim Kochen tritt keine Koagulation ein, wodurch es sich scharf von den nativen Eiweißstoffen unterscheidet. Gegen Säuren ist das Mucin widerstandsfähiger, wie die anderen Eiweißstoffe. Nach dem Erhitzen mit sehr verdünnter Salzsäure wird die Kohlenhydratgruppe abgespalten, die Lösung wirkt stark reduzierend; auch beim Erhitzen des Mucins direkt mit Fehlingscher Lösung im Wasserbade tritt Reduktion ein.

Die Lösungen sind stark linksdrehend $[\alpha]_D = -62^0$—$67{,}1$, je nachdem die wässerige Lösung allein oder eine mit Zusatz von Ammoniak hergestellte benutzt wurde. (A. C. Andersen, C. Neuberg.) Beim Erhitzen der Lösung auf 100° oder darüber erleidet das Harnmucoid eine deutliche Veränderung.

Große Mengen Salze können die Abscheidung durch sehr wenig Essigsäure oder Mineralsäure verhindern. Mucine geben die Farbenreaktionen der Eiweißstoffe. Bleiessig fällt das Mucin, ebenso fällen es Jodjodkali und Salzsäure.

II. Die mucinähnliche Substanz. Sogenanntes Nucleoalbumin.

Bei dem durch Essigsäure ebenfalls fällbaren Körper, der fälschlich als Mucin, Paralbumin, als Nucleoalbumin angesehen und bezeichnet wurde, handelt es sich nach den Untersuchungen K. A. H. Moerners[1]) um im Harn in geringen Mengen vorhandenes Albumin, das infolge des Essigsäurezusatzes durch gewisse im Harne ebenfalls in kleinen Mengen vorkommende Säuren, die Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure, Taurocholsäure niedergeschlagen und ausgeschieden wird. Die erstgenannte Säure findet sich immer im Harne und stets in größerer Menge, als die Nucleinsäure, die manchmal zu fehlen scheint. Die Taurocholsäure fehlt im normalen Harne, ist aber im ikterischen Harne reichlicher vorhanden und ist dort an der Bildung des „Essigsäurekörpers" vor allem beteiligt. Nach Moerners Untersuchungen kommen nur diese drei genannten Säuren, die sich an der Bildung der durch Essigsäure fällbaren Eiweißkörper beteiligen, in Betracht.

Bei der mucinähnlichen Substanz, dem sog., nicht wahren Nucleoalbumin handelt es sich in den meisten Fällen um die Verbindung von Eiweiß mit der Chondroitinschwefelsäure. Im Liter Harn fand Moerner 58—155 mg davon.

Dieser durch Essigsäure in der Kälte fällbare Körper erscheint vor allem als integrierender Bestandteil bei der physiologischen Albuminurie (orthotische, cyklische, juvenile Albuminurie).

In vermehrter Menge fand sich dieser Eiweißkörper im Harne Neugeborener, nach angestrengter Muskeltätigkeit, unter pathologischen Verhältnissen bei Blasenkatarrh, bei hochgradiger Leukämie, bei Nephritis, bei verschiedenen akuten Krankheiten, wo eine Schädigung der Niere in Mitleidenschaft gezogen ist (Scharlach, Diphtherie, bei Giften, Arsen, Sublimat, Naphthol usw.); regelmäßig kommt er bei Abdominaltyphus, so lange hohes Fieber besteht, vor, verschwindet aber bald nach der Entfieberung. Auch nach mechanischen Zirkulationsstörungen nach Chloroformnarkose tritt er häufig in beträchtlicher Menge auf. In größerer Menge findet er sich bei Ikterus, hier besteht der durch Essigsäure hervorgerufene Niederschlag aber wohl meist aus gallensaurem (taurocholsaurem) Eiweiß.

Die Unsicherheit, die auf diesem Gebiete herrschte, läßt sich leicht erklären, da eben wohl seltener nur der einheitliche Chondroitineiweißkörper ganz rein vorliegen wird, weil er öfters mit dem durch vorhandene Nucleinsäure hervorgerufenen Eiweißkörper (falsches Nucleoalbumin, falsches Nucleoproteid) verunreinigt sein wird. Moerners Untersuchungen bestätigen

[1]) Skand. Archiv 1895. 6. 332.

dies; er fand in seinen Präparaten wesentlich chondroitinschwefelsaures Albumin mit einer geringen Menge des falschen Nucleoalbumins.

Im ikterischen Harne käme, wie schon angegeben, noch der dritte Körper, das taurocholsaure Albumin hinzu.

Im allgemeinen besteht der „mucinähnliche Substanz" genannte Eiweißkörper aus Chondroalbumin.

Nachweis.

1. Harn trübt sich auf Zusatz von Essigsäure im Überschusse, besonders beim Verdünnen; durch letzteres wird die lösende Wirkung der Harnsalze auf die Eiweißkörper beschränkt und die Uratausscheidung verhütet.
2. Siehe die Hellersche Probe S. 413.
3. Siehe Trennung nach Hammarsten S. 442.
4. Nach P. Ploss bildet sich beim Schütteln des mit Essigsäure stark angesäuerten Harnes mit Äther oder Chloroform oder Alkohol an der Grenzschicht der Flüssigkeit ein Häutchen oder Niederschlag beim Vorhandensein der mucinähnlichen Substanz.

III. Phosphorproteide (Phosphoproteide) und Nucleoproteide.

Hieher gehören die Nucleoalbumine im eigentlichen Sinne und die Nucleoproteide (Nucleohistone). Sie dürfen, auch wenn sie Eigenschaften gemeinsam haben, doch nicht miteinander verwechselt werden; dasselbe gilt von dem eigentlichen wahren Nucleoalbumin und dem unter II. besprochenen sogenannten Nucleoalbumin, das durch Einwirkung von Nucleinsäure auf Eiweiß erst infolge des Essigsäurezusatzes entstanden dem Chondroalbumin, der mucinähnlichen Substanz, in geringer Menge beigemischt sein kann. Dadurch sind wohl die Unsicherheit und Verwechslung, auch die Angaben über ihr Vorkommen veranlaßt worden.

Nach Moerner ist nicht daran zu zweifeln, daß gelegentlich echte Nucleoproteide im Harne auftreten. Fälle von echter „Nucleoalbuminurie" wurden bei Chlorose, bei perniciöser Anämie, myelogener Leukämie usw. beobachtet. Jedenfalls liefern, was allerdings noch nicht sichergestellt ist, Nierenepithel und auch Leukocyten, letztere bei ihrem Zerfalle, Nucleoproteide.

Unter Nucleoalbumin im eigentlichen Sinne versteht man phosphorhaltige saure Eiweißstoffe, aus denen der Phosphor in komplexer Form abgeschieden werden kann.

Von den ebenfalls phosphorhaltigen echten Nucleoproteiden unterscheidet sich das Nucleoalbumin dadurch, daß es bei der hydrolytischen Spaltung weder Nucleinsäure, noch deren kennzeichnende Spaltungsprodukte, Purin- und Pyrimidinbasen gibt. Mit den Zellkernen haben die Nucleoalbumine gar nichts zu tun. Sie sind als Verbindungen von Eiweiß mit einem nicht näher bekannten phosphorhaltigen, eiweißartigen Komplex aufzufassen und sind ausgesprochene Säuren, die als solche in Wasser nicht löslich sind, wohl aber in Form ihrer Salze mit Alkalien und Ammoniak; aus diesen

Lösungen werden sie durch Säuren wieder ausgeschieden. Die Salzlösungen koagulieren nicht. Die Nucleoalbumine haben Ähnlichkeit mit den Globulinen, so daß Cohnheim dafür den Namen Phosphorglobulin vorschlug.

Durch Einwirkung von Pepsinsalzsäure wird das Nucleoalbumin gelöst und teilweise in „Albumosen" umgewandelt; bei weiterer Einwirkung wird ein entstandener Niederschlag (Paranucleinsäure) wieder gelöst und das übrige Nucleoalbumin peptonisiert.

Der Nachweis wäre mit dem durch Essigsäurefällung, auch Aussalzen usw. dargestellten Eiweißkörper vorzunehmen. Verhalten gegen Pepsinsalzsäure und bei der Spaltung mit Salzsäure. Siehe Trennungsweise von Hammarsten.

Von dem zu den Glykoproteiden gehörenden Mucin und Mucoid unterscheidet sich das Nucleoalbumin, daß es bei der Behandlung mit Säure keine reduzierende Substanz, kein Kohlenhydrat liefert.

Nucleoproteide sind Verbindungen von Nucleinsäure mit Eiweiß mit ausgesprochenem saurem Charakter, in Wasser und Salzlösungen löslich; durch Säuren werden sie gefällt, im Überschusse besonders von Mineralsäuren wieder gelöst. Durch die gewöhnlichen Fällungsmittel für Eiweißstoffe werden sie gefällt.

Sie geben bei der hydrolytischen Spaltung neben den gewöhnlichen Spaltungsprodukten der Eiweißstoffe Nucleinsäure bzw. Nucleinbasen und Phosphorsäure.

Ich erinnere nochmals kurz an folgendes:

Durch Essigsäure fällbare Substanzen, früher sog. Nucleoalbumin, sog. Mucin benannt, sind meist Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit Eiweiß Seite 399 (Nachweis von Eiweiß, Schwefelsäure).

Wirkliches Nucleoalbumin ist ein saurer phosphorhaltiger Eiweißkörper, dessen Phosphorsäure durch 1%ige Natronlauge leicht abspaltbar ist, s. unten (Nachweis von Eiweiß, Phosphorsäure).

Wahres Mucin, Harnmucoid, das sich im Harne freiwillig ausscheidet, ist ein Glykoproteid, eine Verbindung von Eiweiß mit einem Kohlenhydrat, Seite 437 (Nachweis von Eiweiß, Zucker).

Nucleoproteide sind Verbindungen aus Eiweiß mit Nucleinsäure; letztere, eine phosphor- und stickstoffhaltige, schwefelfreie organische Säure, zerfällt bei der Spaltung durch Säuren oder Fermente in Phosphorsäure, in Purinbasen und in ein Kohlenhydrat.

Nucleohistone sind Verbindungen von Eiweiß mit Nucleinsäure und einem Histon S. 443.

O. Hammarsten[1]) gibt folgende Trennungsweise an.

Wenn die Vorproben auf die Anwesenheit der sog. Nucleoalbumine hinweisen, kann man zur Trennung und zum Nachweise folgendermaßen vorgehen.

Da die Salze des Harnes die Ausfällung der fraglichen Substanzen durch Essigsäurezusatz sehr erschweren, muß man sie erst durch Dialyse entfernen. Man unterwirft deshalb eine möglichst große Menge Harn der Dialyse (unter Zusatz von Chloroform), bis die Salze entfernt sind. Darauf setzt man Essigsäure bis zu etwa 2‰ hinzu und läßt stehen. Der Niederschlag wird in Wasser mit möglichst wenig Alkali gelöst und von neuem mit Säure gefällt. Zur Prüfung auf Chondroitinschwefelsäure erwärmt man einen Teil längere Zeit im Wasserbade mit etwa 5%iger reiner Salzsäure und prüft die Lösung auf das Vorhandensein von Schwefelsäure und von reduzierender Substanz. Die Anwesenheit der letzteren und das Fehlen von Schwefelsäure läßt auf das Vorhandensein von echtem Mucin schließen; sind Schwefelsäure und reduzierende Substanz nachzuweisen, dann ist Chondroproteid vorhanden.

Ist weder Schwefelsäure, noch reduzierende Substanz nachweisbar, so wird ein Teil des Niederschlages der Pepsinverdauung unterworfen und ein anderer Teil zur Bestimmung etwa vorhandenen organisch gebundenen Phosphors (Schmelzen mit Soda und Salpeter, Phosphorsäurebestimmung) verwendet. Fallen diese Proben positiv aus, so muß man

[1]) Lehrbuch der physiologischen Chemie. J. Bergmann, München u. Wiesbaden 1922.

zur Unterscheidung zwischen Nucleoalbumin und Nucleoproteid eine besondere Untersuchung auf Nucleinbasen (s. Xanthinbasen) anstellen.

Ein sicherer Entscheid kann nur durch Verarbeitung großer Harnmengen erreicht werden.

Nach R. H. Aders Plimmer und W. M. Bayliss und F. H. Scott[1]) spalten die Phosphorproteide mit 1%iger Natronlauge behandelt ihren gesamten Phosphor als Phosphorsäure ab; wie die Phosphorsäure mit dem Eiweiß vereinigt ist, weiß man nicht, auch nicht, ob sie nicht etwa erst aus einem anderen Körper hervorgeht. Der Phosphor der Phosphorproteide unterscheidet sich durch die eben erwähnte Abspaltbarkeit von anderen organischen Phosphorverbindungen.

E. Salkowski[2]) hat über den Nachweis sehr kleiner Eiweißmengen im Harne bei gleichzeitiger Gegenwart von Nucleoalbumin Versuche und Untersuchungen angestellt, deren Ergebnisse mir wertvoll erscheinen. Im Harne von Scharlachrekonvaleszenten wird oft ein Nucleoalbumin, richtiger aber Phosphorproteid, bezeichneter Körper gefunden, der auf Zusatz von Essigsäure zum Harne eine Trübung, bei längerem Stehen einen Niederschlag gibt. Um zu einem sicheren Urteil zu kommen, empfiehlt Salkowski, den Harn bis auf ein spez. Gewicht von 1,007—1,008 mit Wasser zu verdünnen und ihn nach dem deutlichen Ansäuern mit Essigsäure bis zum nächsten Tage an einem kühlen Orte (auch im Eisschranke) stehen zu lassen. In der klar abgehobenen Flüssigkeit, oder, wenn sich der Niederschlag auf Essigsäurezusatz nicht vollkommen in der Kälte abgesetzt haben sollte, auch nicht nach dem Zentrifugieren, in der mit Kieselgur, Magnesia usta, Magnesiumsulfat und Sodalösung, auch Chlorcalcium und Sodalösung geschüttelten und filtrierten Harnlösung stellt man die Eiweißreaktion nach Zusatz von $^1/_3$—$^1/_6$ Vol. konz. Kochsalzlösung an. Man nimmt die Proben mit Essigsäure und Ferrocyankalium, mit Tanninlösung, mit Sulfosalizylsäure vor.

Der mit Essigsäure gefällte Körper erwies sich in allen Fällen von Scharlach als stark phosphorhaltig, er enthielt also Nucleoalbumin, Phosphorproteid. Salkowski erklärt sich das Vorkommen des Eiweißkörpers dahin, daß dieser aus zugrunde gehenden Nierenepithelien stammt, daß also der desquamative Prozeß in den Nieren noch nicht zum Abschluß gelangt ist.

Eigenschaften.

Die Nucleoalbumine, Phosphoproteide, besitzen noch ausgeprägter den Charakter von Säuren, als die Eiweißstoffe; sie sind unlöslich in Alkohol, in Äther und in Chloroform usw., fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in wenig Alkali. In im starken Überschusse zugesetzter Essigsäure lösen sie sich zum Unterschiede von anderen sauren Eiweißstoffen. Diese Eigenschaft ist zur Trennung von den Mucinen von O. Hammarsten empfohlen worden. Durch Magnesiumsulfat, bis zur Sättigung eingetragen, werden sie aus ihren Lösungen gefällt (Unterschied von Nucleohistonen).

Durch Behandeln mit Salzsäure, ebenso durch den Magensaft erfolgt schon in der Kälte Lösung, wobei sie aber gespalten werden.

IV. *Die Nucleohistone.*

Zu den Nucleoproteiden, Verbindungen aus Eiweiß und Nucleinsäure, gehören die Nucleohistone, Substanzen, die nach Lilienfeld in allen Zellkernen vorkommen und die nach diesem Forscher unter gewissen Umständen im Organismus in ihre Komponenten, in ein sogenanntes Kernnuclein, eine Verbindung der Nucleinsäure mit Eiweiß, und in eine albumoseartige Substanz, Histon genannt, zerfallen. Diese Umwandlung kann stattfinden bei Krankheiten, bei denen ein gesteigerter Zerfall von Blutkörperchen nachzuweisen ist (bei Fieber nach L. Krehl und M. Matthes). Im Harne wurde in einem Falle von Leukämie von R. Kolisch und R. Burian und in einem solchen von Pseudoleukämie, sowie in eitrigen Harnen von A. Jolles Nucleohiston aufgefunden.

---

[1]) Journ. of Physiol. 1906. **33.** 439; 1909. **38.** 247; O. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. F. Vieweg u. Sohn, Braunschweig 1911.

[2]) Charité-Annal. **30.** 385. Jahresber. Fortschr. Tierchem. 1907. **36.** 346.

Nachweis und Bestimmung im Harne.

1. Nach A. Jolles[1]) werden 600—1200 ccm Harn etwa $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade bei 60—70° erwärmt und dann filtriert. Das Filtrat wird in einem Schüttelcylinder mit Essigsäure vorsichtig und, um den fein verteilten Niederschlag zum Absetzen zu bringen, mit etwas Kieselgur geschüttelt. Der abgesetzte Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, mit Filter in ein Erlenmeyerkölbchen gebracht, mit etwa 4%iger Natronlauge digeriert und die Lösung filtriert. Aus dem Filtrate wird erneut durch Essigsäure der Eiweißkörper gefällt und die Reinigung desselben noch zweimal wiederholt. Bei der letzten Fällung mit Essigsäure wird das Gemisch 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 die Phosphorsäure bestimmt (siehe S. 97).

Gefundenes $Mg_2P_2O_7 \cdot 0{,}2783 = P$.

Nach Lilienfeld zeigt das reine Nucleohiston einen Phosphorgehalt von 3,025%.

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 gibt.

2. Nachweis des Nucleohistons im Harne bei Eiterungsprozessen.

50—100 ccm eiweißfreier Harn werden nach A. Jolles[2]) mit 4%iger Essigsäure schwach angesäuert, dann gibt man 10%ige Chlorbariumlösung zu, bis keine Trübung mehr entsteht, rührt um und läßt absitzen. Man filtriert und bringt den Niederschlag mit Filter (dieses nicht auswaschen!) in ein Becherglas, übergießt den Niederschlag mit 10 ccm 1%iger Salzsäure und läßt 3—4 Stunden stehen. Zur Ausfällung des Chlorbariums setzt man festes Natriumcarbonat zu bis zur Bläuung von Lackmuspapier und filtriert. In einem Teile des Filtrates stellt man die Biuretreaktion an, den anderen säuert man vorsichtig mit verdünnter Salzsäure an und setzt Ammoniak hinzu; bei Histonanwesenheit entsteht Trübung (s. unten). Eiweißhaltigen Harn versetzt man mit Kieselgur, das den mit Essigsäure hervorgerufenen Eiweißniederschlag mit niederreißt. Den abfiltrierten Niederschlag behandelt man samt Filter mehrere Stunden mit 1%iger Salzsäure und filtriert. Im Filtrate wird neben Mineralstoffen etwa vorhandenes Histon durch Ammoniak ausgefällt; in dem abfiltrierten, in Essigsäure gelösten Niederschlage kann durch die Biuretreaktion, durch Koagulation Histon nachgewiesen werden.

3. Der Nachweis des Histons.

Der Nachweis der Spaltungsprodukte, der Nucleinsäure, der Basen Adenin und Hypoxanthin, wird wegen der geringen Mengen niemals möglich werden; doch kann das basische Spaltungsprodukt, das Histon, nachgewiesen werden.

a) Der wie angegeben gereinigte Niederschlag wird mit etwa 1%iger Salzsäure mehrere Stunden behandelt; dann wird filtriert und zu einem Teile des salzsäurehaltigen Filtrates Ammoniak zugesetzt. Das Auftreten eines starken flockigen Niederschlages oder einer Trübung ist für das Histon charakteristisch (Kossel).

b) Ein anderer Teil des salzsäurehaltigen Filtrates gibt mit Natronlauge und mit Kupfersulfat in der Kälte starke Biuretreaktion.

c) In der Hitze koaguliert der Eiweißkörper; das Koagulum löst sich leicht in Mineralsäuren.

Zum Unterschiede von den Eiweißkörpern wird das Histon aus neutraler wässeriger Lösung durch Ferrocyankalium, Jodjodkalium usw. gefällt. In Wasser ist Histon löslich. Salpetersäure gibt einen Niederschlag, der beim Erwärmen verschwindet, beim Erkalten wiederkommt.

Eigenschaften des Nucleohistons.

Das Nucleohiston ist, wie die Nucleoproteide, in Wasser löslich, ebenso in im Überschusse vorhandenen Mineralsäuren, in Alkalien und in Neutralsalzen; es koaguliert in neutraler oder schwach alkalischer Lösung in der Hitze. Aus seiner neutralen Lösung wird es durch Kohlensäure, durch Essigsäure, durch Mineralsäuren (kein Überschuß!) und durch Alkohol gefällt. Es gibt die Farbenreaktionen der Eiweißstoffe, schwach die Biuretreaktion. Mit Salzsäure behandelt, spaltet es sich in Histon und in ein in im Überschusse

[1]) Berl. Bericht. 1897. **33.** 172.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **25.** 236.

vorhandener Salzsäure und in verdünnten Neutralsalzlösungen lösliches Nuclein, Leukonuclein, das weiter in Eiweiß und Nucleinsäure zerlegt werden kann. Die Nucleinsäuren liefern als Spaltungsprodukte Phosphorsäure und Nucleinbasen (Xanthin, Guanin).

E. *Der Heller-Bence-Jonesche Eiweißkörper.*[1]) *Das Harneiweiß von Heller-Bence-Jones.*

Nach den Forschungsergebnissen von E. Ebstein[2]) hat J. Fl. Heller den Eiweißkörper wohl schon im Jahre 1846 aufgefunden.

Der von Heller und dann von Bence-Jones im Jahre 1848 im Harne aufgefundene, später von einer Reihe anderer Forscher ebenfalls beobachtete Eiweißkörper wurde zuerst für einen digestiven, abgebauten Eiweißkörper, für eine Albumose gehalten. Dies ist unrichtig. Nach den weiteren Angaben, besonders nach den Forschungsergebnissen von A. Magnus-Levy[3]), A. Grutterinck und C. J. Weevers de Graaff[4]) gehört der Körper zu den genuinen Eiweißkörpern; er ist kolloidales Eiweiß und dialysiert nicht. Nach E. Abderhalden und O. Rostoski[5]) ist der Körper kein abgebautes Eiweiß, er gibt vielmehr bei der Hydrolyse die gleichen Spaltungsprodukte und dieselben für reines Eiweiß bei der Spaltung erhaltenen Aminosäuren.

Der Eiweißkörper wurde bei sarkomatösen Knochenmarkserkrankungen (Myelomen), Osteosarcomen beobachtet; er tritt gar nicht so selten auf, als man anfangs glaubte. Abderhalden und Rostoski meinen, daß der Körper einen spezifischen Eiweißkörper darstellt, der an das Blut unverändert abgegeben wird und als blutfremdes, aber körpereigenes Eiweiß zur Ausscheidung kommt. Der Eiweißkörper wurde im Harne meist in größerer Menge, $^1/_4$—$^1/_2$ ‰, von Bence-Jones sogar zu 6,7 %, vorgefunden.

Bemerkenswert ist, daß das Eiweiß außer im Harne auch im Marke des angegriffenen Knochens, im Blute, in Exsudaten nachweisbar ist.

Daß man das Heller-Bence-Jonessche Harneiweiß früher für ein abgebautes Eiweiß, für eine Albumose hielt, wird wohl von seinem Verhalten beim Erhitzen und bei einigen Reaktionen abhängen; die Ursachen dieses Verhaltens sind nun aufgeklärt, sie rührten davon her, daß verschiedene im Harne vorhandene Stoffe zu diesem besonderen Verhalten beitrugen.

Nach O. Schumm ist nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse der Eiweißkörper als das Produkt eines pathologischen Stoffwechsels aufzufassen.

Der Eiweißkörper koaguliert bei 50—58°, löst sich aber bei höheren Temperaturen wieder auf, wenn reichlichere Mengen von Ammoniumsalzen oder Harnstoff vorhanden sind; ebenso lösen sich die durch Salpetersäure und Alkohol veranlaßten Fällungen bei Gegenwart genannter Salze; beim

---

[1]) A. Ellinger, Archiv klin. Mediz. 1899. **62.** 255; hier die ganze ältere Literatur.
[2]) Zur Entwicklung der klinischen Harndiagnostik. G. Thieme, Leipzig 1915.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **30.** 290.
[4]) Ebenda. 1901. **34.** 393; 1905. **46.** 472.
[5]) Ebenda. 1905. **46.** 125.

Abkühlen tritt die Fällung wieder ein. Da der Harn nun stets Ammoniumchlorid und Harnstoff enthält, auch der isolierte Körper meist durch diese Stoffe noch verunreinigt ist, so kam man dazu, in ihm eine Albumose zu vermuten. Magnus-Levy hat aber gefunden, daß der vollkommen rein hergestellte Körper vollständig koaguliert und sich bei Säure- und Alkalieinwirkung wie anderes Eiweiß verhält, daß er bei der digestiven Spaltung, bei der Pepsinverdauung, die gewöhnlichen, nicht koagulierbaren biuretgebenden Eiweißkörper („Albumosen und Peptone") gibt.

Man mag aus diesem Falle ersehen, zu welchen unrichtigen Vermutungen und Ansichten man kommen kann, wenn man keine reinen, einheitlichen Körper vor sich hat.

Nachweis und Darstellung.

Das Vorhandensein des in Frage stehenden Eiweißkörpers im Harne ist leicht an dem ganz besonderen Verhalten beim Erhitzen des Harnes zu erkennen, so daß er nicht übersehen und nicht verwechselt werden kann; auf sein Vorhandensein wird man aufmerksam gemacht durch das Eintreten der allgemeinen Eiweißreaktionen (Hellersche Probe, Probe mit Ferrocyankalium, die langsamer eintritt, als beim Vorhandensein von Eiweiß).

1. Wird der deutlich sauer reagierende Harn, der auch genügenden Salzgehalt besitzt — nötigenfalls setzt man noch etwas konzentrierte Kochsalzlösung zu —, bis auf 45—50° C erhitzt (— Kontrolle durch Thermometer, man kann das Erwärmen im Wasserbade vornehmen —), so trübt sich der Harn anfangs milchig und scheidet dann bei 50—60° (60—65°) einen nicht flockigen, sondern klebrigen, der Wand des Becherglases anhaftenden Niederschlag aus, der zu einer krümeligen, auf der Harnoberfläche schwimmenden Masse wird.

   Beim weiteren Erhitzen der trüben Flüssigkeit löst sich die Trübung und Fällung vollkommen wieder auf, es entsteht eine klare Lösung, aus der beim Abkühlen dieser Eiweißkörper wieder ausgeschieden wird. Mikroskopisch stellt der Niederschlag Kugeln ohne krystallinische Struktur dar. Hie und da wurde die Abscheidung eines krystallinischen starken Niederschlages beobachtet.

   Aus verdünntem Harne erfolgt die Ausscheidung viel besser. Nach E. Abderhalden und O. Rostoski beeinflussen die Reaktion nicht unwesentlich die Temperaturen, bei denen die Ausscheidung des Eiweißkörpers beginnt; so erfolgt z. B. bei einem neutral reagierenden Harne bei 55—60° eine leichte, schleierartige Trübung, dann bei 60° ein dicker, flockiger Niederschlag; bei dem leichten Ansäuern des gleichen Harnes ging die Trübung bei 48—49°, die Ausfällung bei 52—53° vor sich; bei noch stärkerem Säuregehalte trat die erste Ausfällung schon bei 42° ein.

2. Fügt man zum Harne, der diesen Eiweißkörper enthält, starke Salzsäure, so tritt Gerinnung ein. Beim Vorhandensein nur geringer Mengen des Heller-Jonesschen Körpers führt man diese Reaktion am besten als Schichtprobe aus (J. R. Bradshave).[1])

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1907. 54. 336; Pharm. Centrlh. 1907. 48. 345.

Magnus Levy und Grutterinck und de Graaf geben noch folgende weitere Reaktionen an, die der im Harne vorhandene (bei Verwendung des Harnes, nicht des daraus isolierten Eiweißkörpers) Eiweißkörper gibt.

25%ige Salpetersäure, ebenso 12½%ige Salzsäure geben Fällungen, die beim Sieden teilweise löslich sind, beim Abkühlen aber noch deutlicher hervortreten.

Konzentrierte Kochsalzlösung und Essigsäure bewirken vollständige Ausfällung, ebenso Ammoniumsulfat durch Zusatz von 2 Volumen gesättigter Lösung zum Harne.

96%iger Alkohol bewirkt (2 Volumen zu 1 Vol. Harn) völliges Ausfällen des Eiweißkörpers, der nach und nach unlöslich wird.

1. Darstellung nach R. Neumeister.

Man salzt den Eiweißkörper durch Ammoniumsulfat aus und trägt den abgepreßten, noch feuchten Niederschlag in 3%ige siedende Kochsalzlösung ein unter tropfenweiser Zugabe von Salzsäure, bis Lösung erfolgt ist. Man filtriert mit Hilfe eines Heißwassertrichters; aus dem völlig klaren Filtrate scheidet sich dann beim Abkühlen der Eiweißkörper als ganz weißer Niederschlag aus, der durch Dekantieren und Zentrifugieren von der Mutterlauge getrennt und wiederholt noch mit Wasser gewaschen und zentrifugiert wird, bis der Niederschlag von Salzen frei ist, was daran zu erkennen ist, daß er sich beim Zentrifugieren nicht mehr vollkommen absetzt und sich durch milchige Trübung zu lösen beginnt. Dann bringt man den Niederschlag in einen Pergamentschlauch oder in einen Dialysator und dialysiert mehrere Wochen, bis in der Außenflüssigkeit (gesättigtes Chloroformwasser, das häufig zu wechseln ist) kein Kochsalz mehr nachweisbar ist. Der neutral reagierende Inhalt des Schlauches oder des Dialysators wird in einem Becherglase mit absolutem Alkohol versetzt, der abgeschiedene Eiweißkörper abfiltriert, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet.

2. Darstellung nach A. Magnus-Levy.

Man salzt ebenfalls den neutral gemachten Harn mit dem doppelten Volumen kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung aus, wäscht den abfiltrierten Niederschlag mit Ammoniumsulfatlösung, preßt ab und löst ihn in Wasser; man fällt wieder aus und wiederholt dies, da man nur dann ein reines Produkt erwarten kann.

3. Man kann den Harn auch mit Alkohol (auf 1 T. Harn 2 T. Alkohol) versetzen und den Niederschlag zentrifugieren; der Alkohol ist möglichst bald zu entfernen, sonst wird der Eiweißkörper schwerer löslich. Den Niederschlag suspendiert man in Wasser und dialysiert; der Eiweißkörper löst sich bald, ohne zu diffundieren; auch dieses Verfahren muß etwa 4mal wiederholt werden.

Eigenschaften.

Der so hergestellte Eiweißkörper ist phosphorfrei (direkt aus dem Harne abgeschieden, konnte Phosphor nachgewiesen werden, weil er eben nicht rein war). Nicht getrocknet ist er in kaltem Wasser in erheblicher Menge löslich; zu lange Berührung mit absolutem Alkohol veranlaßt seine Unlöslichkeit in neutralen Lösungsmitteln; er ist dann nach Zusatz von etwas Natriumcarbonat in Lösung zu bringen. Getrocknet löst sich der Eiweißkörper in

heißem Wasser nach Zugeben einiger Tropfen Sodalösung. In verdünnten Säuren und Alkalien ist er sehr leicht löslich.

Diese Lösungen bleiben bei der Dialyse unverändert.

Der reine Eiweißkörper zeigt im allgemeinen die bekannten Fällungsreaktionen des Eiweißes. Durch Magnesiumsulfat wird er nicht ausgesalzen, wohl durch Chlornatrium bei saurer und neutraler Reaktion; Essigsäure und konz. Kochsalzlösung bewirken vollständige Ausfällung. Ammoniumsulfat fällt den Heller-Bence-Jonesschen Körper durch 2 Volumen gesättigter Lösung.

Grutterinck und de Graaff erhielten den Körper in krystallisiertem Zustande, indem sie Ammoniumsulfat zusetzten, bis die Lösung 10% enthielt, und dann Schwefelsäure zufügten. In 60%igem Alkohol ist der Körper löslich.

Magnus-Levy bekam nach seinem Verfahren den Eiweißkörper schon 1900 krystallisiert. O. Schumm[1]) gelang die Herstellung des Körpers in krystallisiertem Zustande durch Abkühlen und Stehenlassen einer heißen Lösung des mit Alkohol ausgeschiedenen Eiweißes.

Der krystallisierte Eiweißkörper — die jedenfalls dem hexagonalen System angehörenden Krystalle waren doppelbrechend, optisch positiv — zeigte in wässeriger Lösung außer den schon bereits genannten noch die folgenden Reaktionen, die etwas verschieden sind von den Befunden, die mit dem im Harne vorhandenen Eiweißkörper erhalten werden. Mit 25%iger Salpetersäure tritt eine Trübung ein, die in der Hitze verschwindet, in der Kälte wieder erscheint. Durch Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure entstehen beim Erhitzen lösliche Niederschläge; durch Alkohol, im Überschusse zugesetzt, erfolgt Fällung.

F. *Albumosen, Proteosen, Propeptone (Peptone).*

Bei der Einwirkung verschiedener Stoffe und durch verschiedene Eingriffe, so durch die Einwirkung von Säuren, von Enzymen usw. werden die kolloidalen, koagulierbaren Eiweißstoffe verändert und gespalten; als erste Produkte entstehen ebenfalls Eiweißkörper, die wir früher mit dem Namen Albumosen und Peptone bezeichneten. Diese Eiweißkörper, die im allgemeinen die gleichen Reaktionen mit den nativen Eiweißstoffen teilen, sind dadurch von diesen unterschieden, daß sie und ihre Salze, je weiter sie sich von dem Eiweiß entfernen, um so löslicher werden und infolgedessen um so schwerer gefällt und ausgeschieden werden können.

Nach W. Kühne sind die dem Eiweiß noch näherstehenden Albumosen, auch Proteosen, Propeptone genannten Produkte der Eiweißhydratation dadurch gekennzeichnet, daß sie die kolloidale Eigenschaft des Eiweißes nicht mehr zeigen, daß sie in ihren Lösungen beim Erhitzen, weder bei neutraler noch bei saurer Reaktion, nicht gerinnen, daß sie aber durch gewisse Salze,

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1914. **61.** 1901.

besonders Ammoniumsulfat und Zinksulfat bei saurer Reaktion ausgeschieden werden können.

Peptone wurden die Umwandlungsprodukte genannt, die auch nicht mehr ausgesalzen werden können, die also in Lösung bleiben, die die Endprodukte der Zersetzung von Eiweißstoffen durch proteolytische Enzyme, insofern als diese Endprodukte noch Eiweißstoffe sind, darstellen. Die Biuretreaktion geben diese beiden Übergangsprodukte sehr schön.

Bei den Albumosen unterschied man, je nachdem die digestiven Spaltungsprodukte mehr den Albumosen oder den Peptonen näher standen, primäre Albumosen und sekundäre Albumosen oder Deuteroalbumosen; man nahm an, daß zunächst zwei verschiedene primäre Albumosen, die Protoalbumose und die Heteroalbumose hervorgehen, daß aus jeder dieser primären Albumosen infolge weitergehender Umwandlung durch die Pepsinverdauung je eine unter sich wenig verschiedene Deuteroalbumose entsteht, die erst durch weitere Spaltung in die eigentlichen Peptone übergehen. Echte Peptone entstehen nach Kühne rasch und in reichlicher Menge bei der Pankreasverdauung, bei der Pepsinverdauung erst bei anhaltender Digestion.

Diese Unterscheidungsmerkmale und die Trennung in die verschiedenen Gruppen dürften nach den jetzigen Kenntnissen von den Abbauprodukten des Eiweißes der Kritik nicht mehr Stand halten. Wie wir gesehen haben (S. 396), stößt schon die Scheidung, die sich auf die Aussalzbarkeit stützt, auf Schwierigkeiten und Bedenken, da nach den Untersuchungsergebnissen von E. Fischer Polypeptide, so ein Tripeptid und ein Tetrapeptid aussalzbar sind. Durch die Untersuchung synthetischer Polypeptide (Fischer und seine Schüler) wurde nachgewiesen und festgestellt, daß nicht die Molekulargröße für die Aussalzbarkeit maßgebend ist, sondern der Gehalt an gewissen, ganz bestimmten Aminosäuren. Die frühere Annahme, daß mit Ammoniumsulfat kompliziertere von weniger komplizierten Spaltungsprodukten (Albumosen, Proteosen von Peptonen) unterschieden werden können, kann nicht mehr Gültigkeit beanspruchen.

Dazu kommt nun auch, daß man es bei allen den erwähnten Produkten sicher nicht mit vollkommen reinen und einheitlichen zu tun hatte, sondern daß die Stoffe, die man auf Grund der einen oder der anderen abweichenden Reaktion mit besonderen Namen belegte, eben Gemenge mehrerer Stoffe gewesen sein werden; nun steht ohne weiteres fest, daß die durch Sättigung mit Ammoniumsulfat fällbaren, als Albumosen bezeichneten Substanzen in der Tat Gemenge verschiedener Abbauprodukte der Proteine sind. Weiter ist darauf aufmerksam zu machen, daß besonders, was das Vorkommen der zu besprechenden Stoffe gerade im Harne betrifft, hier ins Gewicht fällt, ob einerseits die Entfernung des Eiweißes eine vollständige war, ob nicht dieses die Biuretreaktion gab und so die Anwesenheit digestiver Eiweißspaltungsprodukte vortäuschte und ob andererseits durch die Vorbehandlung des Harnes zur Entfernung des kolloidalen Eiweißes (Verwendung von Säuren) keine Beeinflussung des Eiweißes stattgefunden hat.

Daß es z. B. Albumosen von verschiedenen Eigenschaften mit Beziehung auf die Aussalzbarkeit, sowie Fällbarkeit gibt, ist wohl erwiesen (Rona und Michaelis, Zunz u. a.) und ist durch das Gesagte begründet, ebenso auch, daß zwischen den Albumosen, die dem ursprünglichen Eiweiß am nächsten stehen, den stärker abgebauten Albumosen und den Peptonen, die die letzten Spaltungsprodukte darstellen, verschiedene und sogar zahlreiche Zwischenglieder bestehen. Unter solchen Umständen hält es O. Hammarsten[1]) für eine mißliche Aufgabe, eine scharfe Grenze zwischen der Pepton- und der Albumosengruppe zu ziehen, und ebenso schwierig hält er es, heutzutage die Begriffe Peptone und Albumosen in exakter und befriedigender Weise zu definieren. Daß die Reindarstellung dieser verschiedenen Abbauprodukte des Eiweißes gerade aus dem Harne möglich sein dürfte, möchte ich sehr bezweifeln.

Wie ich schon früher erwähnte, hat man unter dem sogenannten Harnpepton sicher nicht das typische Pepton, das wir als Endprodukt der Verdauung ansahen, zu verstehen, da dieses nach den verschiedenen Ergebnissen der Forscher, die sich mit dem Vorkommen des Peptons im Harne beschäftigten, nicht im Harne vorzufinden sein soll. Nur M. Ito[2]) will im Harne echtes Kühnesches Pepton gefunden haben, was noch der Bestätigung bedarf.

Nach Brugsch und Schittenhelm soll man auf eine Unterscheidung zwischen Albumosen und Peptonen verzichten und soll nur von unkoagulierbaren, biuretgebenden Eiweißkörpern, sogenannten Albumosen und Peptonen sprechen oder man soll den Begriff „Albumosen" ganz fallen lassen und nur von durch Ammoniumsulfat fällbaren Peptonen sprechen (Abderhalden). Andererseits kann man aber mit O. Cohnheim übereinstimmen, der erwähnt, daß die Trennung der Albumosen und der Peptone auf Grund ihrer Aussalzbarkeit mit Beziehung auf das oben Gesagte zwar ihre Bedenken hat, daß er es aber doch nicht für ganz begründet hält, auf diese Unterscheidung zu verzichten. Diesen Standpunkt nimmt O. Hammarsten[3]) noch neuerdings ein; man soll vorerst den Begriff Albumosen nicht vollkommen ausschalten.

Ich werde daher im folgenden ebenfalls die seither gebrauchten Bezeichnungen, auch die angegebenen Trennungsmethoden der einzelnen digestiven Spaltungsprodukte noch beibehalten und aufzählen.

Vorkommen.

Mit Hinweis auf die eingangs erwähnte Tatsache, daß das wirkliche Pepton bisher im Harne nicht nachgewiesen wurde, können wir auch nicht von einer eigentlichen Peptonurie reden, sondern diese Peptonurie ist eben eine Albumosurie, bedingt durch das Vorkommen verschiedener sogenannter Albumosen und albumoseartiger Stoffe, wohl vorwiegend Deuteroalbumose, die in einer besonderen Weise isoliert wurden.

---

[1]) Lehrbuch d. physiol. Chem. J. F. Bergmann, München und Wiesbaden. 1922.
[2]) Archiv klin. Mediz. 1901. 71. 36.
[3]) a. a. O.

„Albumosen oder Peptone" finden sich im normalen Harne wie im Blute gar nicht vor, dagegen treten sie, was die mit Salzen ausfällbaren Stoffe („Albumosen") betrifft, nicht selten im Harne, und zwar im pathologischen auf, wenn die Absorptionsbedingungen im Magen und Darm anormal sind, wenn also eine Rückverwandlung der Albumosen infolge ulceröser Prozesse des Darmes in der Darmwand zu Eiweiß nicht oder ungenügend stattfindet; man spricht dann auch von einer „wirklichen Nahrungsalbumosurie" (aliment. Albumosurie). Die im Organismus nicht assimilierbaren Stoffe werden dann unverändert aus der Blutbahn durch die Nieren in den Harn befördert (Neumeister).

Eine solche Bildung findet statt oder wurde fast stets beobachtet bei Geschwüren des Darmes, bei Magengeschwüren, bei Magenkrebs; dieses Vorkommen der „Albumosen und Propeptone" hat man auch als „enterogene Peptonurie" bezeichnet, als „pyogene", auch als Gewebsalbumosurie, wenn sich diese Stoffe vorfinden infolge bakterieller Tätigkeit in Abhängigkeit vom Zellenzerfall, besonders bei den Leukocyten, z. B. bei Eiterungsprozessen, bei großen Abscessen, bei tuberkulösen Prozessen, bei croupöser Pneumonie, bei eitriger Phthise u. dergl., wobei die aus dem Gewebseiweiß durch seinen Zerfall entstandenen Albumosen in den Kreislauf und nach den allgemeinen biologischen Gesetzen durch die Nieren zur Ausscheidung durch den Harn gelangen. Eine „endogene, hämatogene Peptonurie" beobachtete man bei Stoffwechselstörungen nach Phosphorvergiftungen, nach Einführung größerer Mengen von Guajacol und Antipyrin in den Organismus, bei akuter Leberatrophie, bei Lebercarcinomen u. dergl.

Albumosen (Deuteroalbumosen) wurden nachgewiesen bei fast allen fieberhaften Krankheiten mit reichlichem Zellenzerfall — nach L. Krehl und M. Matthes, E. Schultess sollen 90% fiebernder Kranken Albumosen ausscheiden, doch gelangten spätere Untersucher zu anderen Ergebnissen —, bei Pneumonie, bei Scharlach, bei Influenza, bei Diphtherie, bei Typhus, bei Tuberkulose, bei Masern („Albumosurie, Propeptonurie").

Noch zu erwähnen ist, daß nach Serumbehandlung, nach Tuberkulininjektion Albumosen im Harne auftreten können.

Beobachtet wurden ausgeschiedene Mengen von 0,06—0,6%, letztere Menge wurde bei Empyem und bei croupöser Pneumonie gefunden.

Eigenschaften.

Die Albumosen bilden, wie die Eiweißstoffe im trockenen Zustande, luftbeständige amorphe weiße Pulver, sie sind leicht löslich wie die Eiweißstoffe, und zwar lösen sich die „Protoalbumose" und die „Deuteroalbumose" leicht in Wasser, während die „Heteroalbumose" sich wenig löst und sich somit wie das Globulin verhält; sie löst sich erst nach Zusatz von Neutralsalzen, scheidet sich aber, wie die Globuline, nach Zusatz von viel Wasser zum Teil aus. Wohl nur die Protoalbumose und die Heteroalbumose dürften ziemlich einheitlichere Produkte sein, die anderen sind,

wie schon erwähnt, Gemenge. Die Albumosen, die Säuren und Basen sind, wodurch die Reindarstellung der einzelnen wesentlich erschwert wird, da sie sich miteinander zu Verbindungen, Salzen vereinigen können, lösen sich alle leicht in schwach sauren oder alkalischen Flüssigkeiten und in nicht zu konzentrierten Neutralsalzlösungen; durch Sättigen mit Ammoniumsulfat werden sie ausgeschieden; unvollständig ist die Ausscheidung der aus der Protoalbumose entstandenen Deuteroalbumose. Alkohol fällt die Albumosen nur aus neutraler Lösung; hiebei wird nur die Heteroalbumose teilweise koaguliert (Dysalbumose). Das Diffusionsvermögen der Albumosen ist gering; durch die meisten der für Eiweiß bekannten Fällungsmittel werden, wenn auch schwieriger, die Albumosen gefällt. Die Ebene des polarisierten Lichtes drehen sie nach links, und zwar beträgt die spezifische Drehung 60,7°—68,7° (Kühne und Chittenden) für die Heteroalbumose, 70,5—81,2° für die anderen Albumosen, wie man sieht und wie aus dem Gesagten auch erklärlich wird, bestehen große Schwankungen in der spezifischen Drehung.

Von den Eiweißstoffen unterscheiden sich die Albumosen wesentlich dadurch, daß sie durch Erhitzen ihrer neutralen oder sauren Lösung nicht koagulierbar sind, auch durch Alkohol tritt nur Fällung, keine Koagulation ein (mit Ausnahme der Heteroalbumose).

Weiter löst sich die durch Salpetersäure veranlaßte Fällung in der Hitze auf, erscheint aber beim Abkühlen wieder; das gleiche ist der Fall bei der Fällung mit Neutralsalzen aus saurer Lösung, bei der Ferrocyankalium-Essigsäureprobe. Dies hat aber nicht ganz allgemeine Gültigkeit, da die verschiedenen Albumosen sich verschieden verhalten.

Von den primären Albumosen wird die Heteroalbumose aus ihrer neutralen Lösung durch Kochsalzzusatz fast ganz, die Protoalbumose zur Hälfte ausgeschieden, die sekundären Albumosen werden durch diesen Zusatz aus ihren neutralen Lösungen gar nicht gefällt, eine Fällung erfolgt erst nach Säurezusatz.

Die primären Albumosen geben in wässeriger Lösung mit Salpetersäure eine Fällung, nicht so die Deuteroalbumosen, die nur nach reichlichem Zusatz eines Salzes (Kochsalz) und da nur zum Teil ausfallen. Ebenso verhalten sich die primären und sekundären Albumosen bei der Ferrocyankalium-Essigsäureprobe und bei der Probe mit Pikrinsäure; erstere fallen leicht aus, die sekundären sehr schwierig und ganz unvollständig; ganz charakteristisch ist nach Neumeister das Verhalten gegen 2%ige Kupfersulfatlösung, noch empfindlicher ist Kupferacetatlösung; mit dieser Lösung werden noch Spuren der Protoalbumose (1 : 10,000), und aus der Lösung mit Neutralsalzen die Heteroalbumose gefällt, während die Deuteroalbumose selbst in konzentrierter Lösung nicht gefällt wird. Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure fällen die primären Albumosen vollständig, die Deuteroalbumose nur in geringer Menge (Neumeister). Alménsche Tanninlösung fällt die Albumosen; die Deuteroalbumosenfällung ist wie die des Kühneschen Peptons im Überschusse vom Reagens löslich, wenn salzfreie

Lösungsflüssigkeit vorhanden ist (Kutscher). Von den Farbenreaktionen kommen die sämtlich S. 419 angegebenen in Betracht, besonders die Biuretprobe.

Das „Harnpepton" in dem schon mehrmals erwähnten Sinne teilt die meisten Eigenschaften der im vorstehenden angeführten, den einzelnen Albumosen zukommenden.

Alkohol fällt aus neutraler Lösung in Wasser wieder leicht lösliche Flocken; eine Koagulation der wässerigen Lösung in der Siedehitze findet auch nicht statt. Aus einer mit Magnesiumsulfat gesättigten Lösung erfolgt eine Ausscheidung erst nach Säurezusatz; bei Gegenwart von Neutralsalzen entsteht durch Essigsäure und Ferrocyankalium keine Fällung (Verhalten wie das der sekundären Albumosen); Ammoniumsulfat gibt einen Niederschlag. Tannin fällt bei Gegenwart von Neutralsalzen, Phosphorwolframsäure beim Vorhandensein einer Mineralsäure das Harnpepton leicht aus.

Salpetersaures Quecksilberoxyd, Bleiacetat und Ammoniak, Platinchlorid scheiden das Harnpepton ebenfalls aus. Die Farbenreaktionen gibt dieses schon in der Kälte.

Trennung der primären und sekundären Albumosen.

Aus der gemeinschaftlichen neutralen wässerigen Lösung salzt man nach R. Neumeister die primären Albumosen durch Kochsalz, soweit als dies möglich ist, aus, filtriert und setzt mit Kochsalz gesättigte Salzsäure oder Essigsäure zum salzgesättigten Filtrat, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Diese Fällung besteht aus dem Reste der primären Albumosen, der erst durch die Säure noch gar ausgefällt wurde, und aus einem Teile der Deuteroalbumosen; ein Teil dieser bleibt in Lösung; diese wird nach Filtration des harzig ausgeschiedenen Rückstandes mit Natronlauge genau neutralisiert, eingedampft, die von dem ausgeschiedenen Salze abgesaugte Lösung wird durch Dialysieren vom Kochsalz befreit, dann konzentriert und in viel absoluten Alkohol eingegossen. Diese ausgeschiedene Deuteroalbumose filtriert man ab, wäscht sie mit absolutem Alkohol aus und trocknet sie im Vakuum über Schwefelsäure.

Die Kochsalzfällung wird zur Isolierung der beiden primären Albumosen in Wasser gelöst und die Lösung dialysiert; die Heteroalbumose scheidet sich unlöslich ab, sobald alles Kochsalz entfernt ist, und wird durch Filtrieren oder Zentrifugieren von den löslichen Protoalbumosen getrennt; diese, ebenso die Heteroalbumose, erhält man rein in der bei der Gewinnung der Deuteroalbumosen angegebenen Weise.

Nachweis.

Beim Nachweis dürfte man nach den vorhandenen und erwähnten Tatsachen in den meisten, wenn nicht in allen Fällen auf eine Unterscheidung zwischen dem Vorkommen von „Albumosen und Peptonen" im Harne verzichten, um so mehr, als auch feststeht, daß unsere zu diesem Zwecke empfohlenen Verfahren unzureichend sind.

Der ganz sichere einwandfreie Nachweis der nicht koagulierbaren, biuretgebenden Eiweißstoffe oder der durch Ammoniumsulfat fällbaren Peptone (Albumosen), zumal kleinerer Mengen, bedingt die vorsichtige — sekundär könnten schon aus dem Eiweiß Albumosen

gebildet werden, wenn z. B. bei der Koagulation das Kochen zu lange dauert, wenn eine ungeeignete Wasserstoff-Ionenkonzentration vorliegt, beim Kochen auf freier Flamme — und vollständige Entfernung vorhandener Eiweißstoffe, des Albumins und Globulins und der durch Essigsäure fällbaren Substanzen, da wir zum Nachweise der Umwandlungsprodukte der eigentlichen Eiweißstoffe auch allgemeine Eiweißproben in Anwendung ziehen. Auf die Anwesenheit der „Albumosen" kann allerdings geschlossen werden, wenn die Kochsalzprobe, die Ferrocyankaliumprobe, die Salpetersäureprobe, die Probe mit der Salicylsulfosäure in der bei der Beurteilung dieser Proben angegebenen Art ausfielen, wenn ein entstandener Niederschlag beim Erwärmen sich löst und beim Erkalten wieder zum Vorschein kommt. Die verschiedenen Albumosen zeigen aber, worauf wiederholt hingewiesen werden muß, bei diesen Reaktionen verschiedenes Verhalten. So trübt sich der Harn beim Kochen nicht, wenn nur Deuteroalbumose oder Protoalbumose vorhanden ist, dagegen tritt diese Trübung, die sich bei saurer Reaktion in der Siedehitze löst und beim Erkalten wieder erscheint, auf, wenn Heteroalbumose zugegen ist.

Die Hellersche Probe gibt Harn mit nur sekundären Albumosen (Deuteroalbumose) nicht; bei Anwesenheit von Protoalbumose, Heteroalbumose gibt der Harn diese Reaktion.

Durch Zusatz von Neutralsalzen (Kochsalz) wird Protoalbumose und Heteroalbumose zum Teil oder fast ganz gefällt, die Deuteroalbumose aber erst, und auch da nicht vollständig, nach Zusatz von Säure, von salzgesättigter Essigsäure.

Bei der Ferrocyankalium-Essigsäureprobe fallen die primären Albumosen (Proto- und Heteroalbumose) leicht, die sekundären (Deuteroalbumose) nur schwierig und ganz unvollständig aus.

Da nun häufig oder wohl immer Gemische dieser verschiedenen Albumosen vorliegen, wird durch die genannten Reaktionen auch wohl stets die Anwesenheit von Albumosen nachzuweisen sein. Den Befund wird man aber noch durch einen einwandfreien Nachweis bestätigen. Man hat dann am besten diese digestiven Eiweißspaltungsprodukte zu isolieren, wozu folgende Methoden empfohlen sind.

In erster Linie hat die Entfernung der oben erwähnten Eiweißstoffe stattzufinden. Das Eiweiß kann man nach der Hofmeisterschen Methode abscheiden; hiebei können aber auch primäre Albumosen mit ausgefällt werden, auch werden die bei der Biuretreaktion störenden Farbstoffe nicht vollständig entfernt; besonders das Urobilin kann Täuschungen veranlassen.

Wirkliches und „sogenanntes Mucin und Nucleoalbumin" können durch Zusatz von wenig neutralem Bleiacetat — kein Überschuß — abgeschieden werden.

1. Verfahren nach Hofmeister.[1])

Nach F. Hofmeister wird ein halbes Liter Harn (— man kann auch geringere Mengen Harn nehmen und dann entsprechend geringere Mengen von Natriumacetat —) 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; die saure Reaktion wird durch Zusatz verdünnter Natronlauge bis zur neutralen oder ganz schwach sauren Reaktion abgestumpft; es wird zum Sieden erhitzt und filtriert. Im Filtrate darf weder Eisen noch Eiweiß vorhanden sein. (Man prüft mit Essigsäure und Ferrocyankalium; eine geringe Blaufärbung wird man immer erhalten; sie ist nicht von Schaden.) Das Filtrat wird nun mit $^1/_{10}$ seines Volumens konzentrierter Salzsäure und dann mit einer sauren Lösung von Phosphorwolframsäure (man löst 200 g wolframsaures Natrium und 120 g phosphorsaures Natrium in 1000 ccm Wasser und versetzt diese Lösung mit 100 ccm konzentrierter Schwefelsäure) versetzt, solange ein Niederschlag entsteht. Der abfiltrierte, mit etwa 5% Schwefelsäure enthaltendem Wasser gewaschene Niederschlag wird feucht mit festem Barythydrat verrieben, nach Zusatz von etwas Wasser kurze Zeit schwach erwärmt,

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1880. 4. 253; 1881. 5. 195; 1882. 6. 51. 264.

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 eingeengt, die Lösung alkalisch gemacht und unter Umschütteln vorsichtig und tropfenweise mit verdünnter 1%iger Kupfersulfatlösung versetzt; bei Anwesenheit von „Harnpepton" (nicht unter 0,1 g) tritt eine zuerst rosa, dann violett werdende Färbung auf (Biuretreaktion).

Die Probe kann auch als Ringprobe vorgenommen werden. Man überschichtet die alkalische Lösung mit einer stark verdünnten Lösung von Kupfersulfat; an der Berührungsstelle entsteht die angegebene Färbung.

Man kann den Phosphorwolframsäureniederschlag auch in kohlensaurem Natron lösen; man hat dann keinen Baryt auszufällen.

Die Lösung, die zur Biuretreaktion Anwendung finden soll, muß möglichst farblos sein und darf nicht Urobilin enthalten, da dieses die Reaktion beeinträchtigt und selbst eine ähnliche Reaktion gibt. H. Sahli nimmt die Entfernung des Farbstoffes durch einige Tropfen Chlorbariumlösung vor; er verwendet das Filtrat.

Vorhandenes Eiweiß muß unbedingt vollständig entfernt sein, da sonst die gröbsten Täuschungen entstehen können.

Ich konnte das Urobilin durch Schütteln mit etwas Chloroform entfernen.

Nach G. Denigès soll man die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß auch Arzneimittel, die durch Alkalien beeinflußt werden, eine ähnliche Reaktion veranlassen können (nach Einnehmen von Santonin und Chinin z. B.).

2. Salkowski[1]) und v. Aldor[2]) empfehlen bei urobilinreichem Harne folgende Arbeitsweise:

6—10 ccm Harn werden mit 1—2 Tropfen Salzsäure und mit soviel 5%iger Phosphorwolframsäurelösung, als zur völligen Ausfällung nötig ist, versetzt und einige Sekunden zentrifugiert. Die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit wird abgegossen, der Niederschlag mit einigen Kubikzentimetern absoluten Alkohols kräftig geschüttelt und abermals zentrifugiert; dies wird mit frischem Alkohol mehrmals wiederholt, bis der Alkohol farblos, bis das Urobiiin entfernt ist. Der vom Alkohol befreite Bodensatz wird in etwas Wasser verteilt, in konzentrierter Natronlauge gelöst, zur Beseitigung der Blaufärbung mit Luft geschüttelt und Kupfersulfat zugesetzt. Bei Anwesenheit von Albumosen entsteht die angegebene violette Färbung.

Durch Vermeiden des Erhitzens und Entfernen des Urobilins, das die Biuretreaktion vortäuschen kann, werden Fehlschlüsse vermieden. Vorhandenes Eiweiß, durch Essigsäure fällbare Körper müssen natürlich zuerst entfernt werden.

Eiweiß entfernt v. Aldor durch Ausfällen mit Trichloressigsäure.

3. J. Bang[3]) hat eine von Devoto empfohlene Methode für den Albumosennachweis umgearbeitet.

10—20 ccm Harn werden mit 8—16 g festem Ammoniumsulfat gesättigt, zum Kochen erhitzt und einige Sekunden im Sieden erhalten. Die ausgeschiedenen Albumosen und das koagulierte Eiweiß schwimmen auf der salzgesättigten Flüssigkeit und setzen sich beim Sieden an den Wandungen des Proberöhrchens ab. Dann gießt man die Flüssigkeit mit dem im Überschusse zugesetzten Salzer asch weg (früher wurde Zentrifugieren

[1]) Centralbl. med. Wissensch 1894. Nr. 7. 113; Berl. klin. Wochenschr. 1897. **34.** 353.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1899. **36.** 764 u. 785.
[3]) a. a. O.

angegeben). Um aus dem Niederschlage, der, wenn er nicht vollständig dem Röhrchen anhaftet, abfiltriert werden müßte, das störende Urobilin zu entfernen, versetzt man den Niederschlag reichlich mit Alkohol und rührt mit einem Glasstäbchen den Bodensatz mit dem Alkohol tüchtig um. Ist Urobilin in größerer Menge vorhanden, dann zieht man zuerst mit Alkohol, dann mit Chloroform und schließlich wieder mit Alkohol aus. Der Rückstand wird mit 3—4 ccm Wasser versetzt, aufgekocht und filtriert; das vorhandene genuine Eiweiß bleibt zurück, im Filtrate sind vorhandene Albumosen zugegen, die man mit der Biuretreaktion — man nehme starke Natronlauge — nachweist.

Wäre noch etwas Urobilin vorhanden, so müßte man die erhaltene wässerige Lösung erst nochmals mit Chloroform schütteln.

Mit diesem Verfahren soll man bis zu 0,05% Albumosen in 20 ccm Harn nachweisen können; gegebenenfalls kann man größere Harnmengen verwenden.

Enthält der Harn Hämatoporphyrin, so scheidet man dieses vorher durch Zusatz einiger Tropfen Bariumchloridlösung ab.

4. A. Jolles[1]) läßt 10 ccm eiweißarmen Harn mit etwas Blutkohle kräftig durchschütteln, das Filtrat mit 2 Tropfen Bleiessig versetzen und filtrieren. Von eiweißreichem Harn (über 0,1%) versetzt man 10 ccm mit einigen Tropfen 10%iger Essigsäure (Vorsicht!), läßt aufkochen, neutralisiert mit einigen Tropfen 10%iger Natronlauge, schüttelt mit Tierkohle kräftig um, filtriert und versetzt nun das Filtrat mit 2 Tropfen Bleiessig. Mit dem urobilinfreien, fast ganz farblosen Filtrate stellt man die Biuretreaktion an.

Beurteilung.

Die Methode gibt brauchbare, für klinische Zwecke genügend empfindliche Resultate. In ganz ähnlicher Ausführung wurde die Methode auch von G. Freund[2]) empfohlen.

5. P. Morawitz und R. Dietschy[3]) verfahren folgendermaßen:

Der Harn wird unter Toluol gesammelt und sofort frisch verwendet.

500 ccm mit saurem phosphorsaurem Kalium schwach angesäuerten frischen Harnes werden mit dem doppelten Volumen 96%igem Alkohol im Wasserbade am Rückflußkühler 5—6 Stunden erhitzt (80—90°). Nach dem Erkalten wird filtriert, das Filtrat bei 50—60° auf etwa 300 ccm eingeengt und dann nach Hinzufügen von wenig verdünnter Schwefelsäure (2 ccm einer Schwefelsäure — 1 ccm konz. und 4 ccm Wasser — zu 100 ccm Urin) mit Zinksulfat in Substanz (80 g auf die eingeengten 100 ccm) gesättigt; man läßt über Nacht stehen, erwärmt dann auf dem Wasserbade, filtriert rasch mit der Saugpumpe, extrahiert den Niederschlag zur Entfernung des Urobilins 24 Stunden mit absolutem Alkohol (man läßt ihn in Alkohol suspendiert stehen), löst die helle Substanz in Wasser und stellt damit die Biuretreaktion an.

Beurteilung.

Durch dieses Verfahren soll das Eiweiß vollkommen abgeschieden und aus dem Eiweiß sollen keine Albumosen abgespalten werden. Das Urobilin muß entfernt sein; besser behandelt man die Fällung nochmals mit Alkohol in der angegebenen Weise. Das Verfahren wird man wegen des großen Alkoholverbrauches kaum verwenden können, zumal der Alkohol durch Destillation nicht wieder gewonnen werden kann.

Wahl der Methode.

Wie schon wiederholt erwähnt worden ist, erscheint es unbedingt erforderlich, daß zu einem einwandfreien Nachweis der eben behandelten Eiweißkörper im Harne vorhandenes Eiweiß entfernt sein und daß hiebei derartig vorsichtig zu Werke gegangen werden muß, daß eine etwaige Beeinflussung und Umwandlung des Eiweißes ausgeschlossen erscheinen. Hiezu kann eine der aufgeführten Methoden — am besten führt man die Prüfung nach zwei Methoden aus — ausgesucht werden. H. Sahli möchte dem Vorhandensein von „Albumosen" im Harne nur dann eine klinische Bedeutung beigemessen wissen, wenn nicht auch Eiweiß vorhanden ist; die Albumosen könnten möglicherweise erst durch Einwirkung von im Harne vorhandenem Pepsin (nach der Entleerung des Harnes) oder durch etwaige Einwirkung der beim Entfernen des Eiweißes angewendeten Reagenzien entstanden sein.

Eine quantitative Bestimmung der nichtkoagulierbaren, biuretgebenden Eiweißkörper gelingt mit Sicherheit nicht.

---

[1]) Pharm. Centrlh. 1896. **37.** 432.
[2]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1901. **22.** 647.
[3]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1906. **54.** 88.

Zur Ermittelung des ungefähren Gehaltes könnte das hiezu empfohlene Aufrechtsche Verfahren Anwendung finden. S. 432.

Gang zum Nachweise der einzelnen Eiweißstoffe im Harne.

Ich möchte folgende Arbeitsweise empfehlen:

Man behandelt 30 ccm des vollkommen klaren, nötigenfalls vorher filtrierten (Vorsicht s. S. 410) Harnes, der am zweckmäßigsten mit dem gleichen Volumen Wassers verdünnt wird, mit 3—4 Tropfen Essigsäure und läßt nach dem Umschütteln ruhig stehen; eine Trübung und Fällung zeigt die Anwesenheit von den durch Essigsäure fällbaren Substanzen (sog. Nucleoalbumin, mucinähnlicher Substanz, auch Mucin, wirklichem Nucleoalbumin [dieses wohl seltener], von Nucleohiston) an, deren Trennung und Nachweis in der S. 442, 439, 444, angegebenen Weise erfolgen kann. Wirkliches Mucin wird beim Stehen des Harnes an der Nubecula erkannt. Bleibt der Harn klar, so verwendet man ihn direkt, enthält er sog. Mucin und Nucleoalbumin, dann scheidet man diese durch Stehenlassen des unverdünnten Harnes mit 3—4 Tropfen Essigsäure ab und nimmt das Filtrat. Dieses prüft man in der S. 421 empfohlenen Weise auf die Anwesenheit von Eiweiß. Den nicht eiweißhaltigen, erhitzten Harn oder das Filtrat von dem ausgeschiedenen Eiweiß, das aber, wie erwähnt, vollkommen und vorsichtig entfernt sein muß, läßt man erkalten; sind „Albumosen" vorhanden, dann scheiden sich diese aus, doch s. S. 454. Man sammelt den Niederschlag, löst ihn in wenig Wasser und prüft diese Lösung in der S. 454 u. ff. empfohlenen Weise. Der Heller-Bence-Jonessche Eiweißkörper wird an seinem sehr kennzeichnenden Verhalten beim Erhitzen des Harnes (S. 446) erkannt und ist weder zu übersehen, noch mit den „Albumosen" bezeichneten, nicht koagulierbaren Eiweißprodukten zu verwechseln.

Das Filtrat vom abgeschiedenen Eiweiß kann man auch zur Prüfung auf die letztgenannten neutralisieren und die Lösung mit Ammoniumsulfat sättigen. Ein entstandener Niederschlag wird abfiltriert und kann in der angegebenen oder noch besser genau nach den S. 454 u. ff. erwähnten Methoden geprüft werden.

Das mit Ammoniumsulfat gesättigte neutrale Filtrat der „Albumosenfällung" prüft man nach Zugeben des gleichen Volumens Wassers mit frisch bereiteter Gerbsäurelösung; entsteht keine Fällung, so ist „Harnpepton" nicht vorhanden; entsteht eine solche, so kann diese auch durch eine Deuteroalbumose bedingt sein.

Es finden sich verschiedene Verfahren und Vorschläge zu einem getrennten Nachweis der besprochenen Eiweißstoffe angegeben; es wird in einzelnen dieser Anweisungen auch noch eine solche Anzahl verschiedener Substanzen aufgezählt, es werden so viele weitere Bezeichnungen eingeführt, daß mir dies zum Verständnis der so wie so nicht ganz einfachen und leichten Materie nicht beizutragen scheint. Es ist dringend wünschenswert, daß nicht immer von neuem Namen für Körper, deren Existenz, deren Reinheit nicht erwiesen ist, eingeführt werden; dies schafft bloß Verwirrung; wir haben gesehen, wie wenig solche neu geschaffenen Stoffe (u. Namen) oft einer eingehenden Kritik Stand halten.

G. *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 (Hämatoglobin, 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, dem Eiweißpaarling Globin, 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 (siehe S. 459).

Im Harne kann sich vorfinden unverändertes Blut mit noch nicht zerstörten Blutkörperchen; in diesem Falle kann die Farbe des Harnes je nach der vorhandenen Blutmenge heller oder dunkler sein; derartiger Harn ist mehr oder weniger trübe und enthält auch Faserstoff und Eiweiß, so daß es hier öfters von Wichtigkeit ist, durch quantitative Eiweißbestimmung festzustellen, ob das Eiweiß dem Blutgehalte entsprechen kann, also nur vom Blute herrührt oder ob noch andere pathologische Zustände vorliegen. 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 Blut enthaltenden Harnes vorfindet, ist meist rotgefärbt; in diesem lassen sich unter dem Mikroskope die charakteristischen roten Blutkörperchen, wohl auch noch Blutcylinder, mit roten Blutkörperchen besetzte Abgüsse der Harnkanälchen, nachweisen; hiezu ist nur zu bemerken, daß man die Blutkörperchen nicht selten, veranlaßt durch die Einwirkung des Harnes, in gequollenem, geschrumpftem, gezacktem Zustand, auch ausgelaugt als sog. „Schatten" vorfinden wird. Derivate des Hämatins findet man nicht selten in einzelnen Schollen von braungelblicher Färbung ausgeschieden, auch sind Harncylinder damit gefärbt. Die Erscheinung, bei der wirkliches Blut, also noch Erythrocyten im Harne vorgefunden werden, bezeichnet man als Hämaturie.

Enthält der Harn nur ausgelaugten Blutfarbstoff, Hämoglobin, sehr häufig Methämoglobin aus den gelösten Erythrocyten, keine intakten Blutkörperchen, also gelösten Blutfarbstoff, so bezeichnet man diesen Zustand als Hämoglobinurie, die bei allen Zuständen entsteht, die veranlassen, daß rote Blutkörperchen innerhalb der Blutbahn untergehen und ihren Farbstoff an das Blutserum abgeben. Der stets saure Harn ist hier rot, schwarzrot (Methämoglobin), reichlich eiweißhaltig und enthält neben ausgeschiedenem Hämoglobin (Hämoglobinkörnern) auch Blutfarbstoff (krystallinisch), oxalsauren Kalk, öfters Gallenfarbstoff, Cylinder.

Die mikroskopische Untersuchung entscheidet in erster Linie die Frage, ob eine Hämaturie (das Vorhandensein roter Blutkörperchen) oder Hämoglobinurie vorliegt.

Mit Ausnahme einer zufälligen Beimengung (Menstrualblut, Blut bei Hämorrhoiden, Blut im Sputum, Blut bei gleichzeitigem reichlichem Oxalatniederschlag, Blutung nach physischer Ermüdung, nach Märschen, Ritten, langem Stehen, Velocipedfahren u. dergl.) ist ein Blut enthaltender Harn wohl immer als Symptom einer vorhandenen Krankheit zu betrachten.

Die Quelle der Blutung bei der Hämaturie ist eine verschiedene; das Blut kann aus den verschiedensten Teilen der Harnwege stammen; eine

Oxyhämoglobin[1])	Hämoglobin	Methämoglobin	Hämatin
Krystallisierbarer, zu den Eiweißstoffen (Proteiden) gehörender Körper von scharlachroter Farbe, löslich in Wasser mit feuriger blutroter Farbe, nicht in Alkohol, in Äther und in Chloroform; erleidet in wässerigen Lösungen sehr bald Zersetzung; beim Erhitzen der wässerigen Lösung scheidet sich schon bei 80° C ein aus koaguliertem Eiweiß (Globin genannt) und Hämatin bestehender brauner Niederschlag aus. Die verdünnten Lösungen sind gelbrot und zeigen charakteristische Streifen im Spektralapparat.	Hämoglobin, in den Blutkörperchen eingeschlossen oder im freien Zustande im Harne gelöst, ist eine Verbindung eines histonähnlichen Eiweißkörpers (Globin) mit Hämatin (einem eisenhaltigen Farbstoff); geht mit Sauerstoff in das Oxyhämoglobin über. Krystallisiert in violettroten, in durchfallendem Lichte in grünen Krystallen; die Lösungen sehen violettrot aus und zeigen gleichfalls charakteristische Absorptionsstreifen (Spektraltafel); beim Erhitzen einer Lösung erfolgt Zersetzung in Hämatin und in koaguliertes Eiweiß, ebenso durch Alkalihydroxyde. Durch Licht wird es stark beeinflußt (K. A. Hasselbach). Eine Spur Hämoglobin, mit Eisessig und einer Spur Kochsalz erwärmt, gibt Hämin (der salzsaure Ester des Hämatins, dunkelbraune rhombische Täfelchen), S. 466.	Krystallisiert in braunen, nur mit dem Mikroskope erkennbaren Nädelchen oder Tafeln. Die Lösung ist braun, besitzt dieselbe Zusammensetzung, wie das Hämoglobin und zeigt ein charakteristisches Spektrum (Spektraltafel). Unterscheidet sich vom Oxyhämoglobin und Hämoglobin dadurch, daß es durch Bleiessig und Ammoniak gefällt wird. Nach Hoppe-Seyler enthält jeder Harn mit gelöstem Blutfarbstoff in frischem Zustande Methämoglobin, das beim Stehen des Harnes aber zu Hämoglobin und weiterhin zu Sauerstoff-Hämoglobin wird.	Blutfarbstoff, ein eisenhaltiges Pigment. Ist in reinem Zustande blauschwarz, metallglänzend, unlöslich in Wasser, in Alkohol, in Äther, in wässerigen Säuren, nur in geringer Menge löslich in Eisessig, leicht löslich in Alkalihydraten und Carbonaten. Zeigt in saurer und alkalischer Lösung, sowie nach der Reduktion charakteristische Absorptionsstreifen (s. Spektraltafel). Durch Einwirkung konz. Schwefelsäure und durch Behandlung der Lösung in säurehaltigem Alkohol mit Zinn oder Zink entsteht eisenfreies Hämatin — Hämatoporphyrin, das im Harne aufgefunden wurde; braunrote Flocken, in Alkohol leicht mit schön roter Farbe löslich. Durch Oxydation konnte W. Küster zwei krystallisierte Säuren, Hämatinsäuren, erhalten.

[1]) Über Blutfarbstoffe siehe auch O. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper.

Kenntnis des Ursprunges der Blutung ist für die Beurteilung von großem diagnostischem Werte; auch hier gibt die Untersuchung mit dem Mikroskope wertvollen Aufschluß. Für eine Nierenblutung, Haematuria renalis, spricht eine geringe und gleichmäßige Blutmenge, innig mit dem meist fleischwasserfarbenen, mehr braun als rot erscheinenden, im auffallenden Lichte grünlich schimmernden Harne gemengt ohne makroskopisch sichtbare Gerinnsel — findet man ein solches, so ist anzunehmen, daß die Quelle der Blutung weiter abwärts von der Niere ihren Ursprung hat —; im Sedimente finden sich die charakteristischen, aus geronnenem Blute bestehenden Abgüsse der Harnkanälchen, Blut- und Faserstoffcylinder mit eingeschlossenen Blutkörperchen neben weißen, wie roten, in ihrer Gestalt öfters veränderten (kugelig, zum Teil zertrümmert) Blutkörperchen und neben anderweitigen Epithelcylindern, Nierenepithel, das manchmal fettig entartet ist; hier ist eine größere Menge Eiweiß vorhanden, als dem Blutgehalte entspricht.

Der Harn zeigt in dem ersten und letzten Anteile der Entlerung keine Verschiedenheit.

Bei diesem Befunde ist die renale Herkunft des Blutes deutlich gekennzeichnet.

Solche Blutungen finden sich bei akuter und parenchymatöser Nephritis (fleischwasserfarben bis blutrot gefärbter Harn), bei Intoxikationen mit nierenreizenden Giften (Canthariden, Sublimat, Terpentinöl), bei Nierenkrebs, bei Tuberkulose der Nieren, bei hämorrhagischer Diathese (Skorbut, im Verlauf schwerer Infektionskrankheiten).

Kennzeichnend für eine abklingende akute Nephritis ist wieder das Sediment, das Cylindroide mit aufgelagerten, häufig aufgereihten kleinen Erythrocyten und daneben kleine Erythrocyten in Häufchen enthält. (L. Lichtwitz.)

Bei Blutungen aus den Nierenbecken und aus den Ureteren finden sich stets Eiter, auch kleinere Blutgerinnsel, da diese Blutungen meistens durch Nierensteine — hier mit Koliken verbunden — veranlaßt werden, ferner Krystalle von Harnsäure, von oxalsaurem Kalk. Kleine Blutgerinnsel können im Nierenbecken entstanden, dünne längere Gerinnsel von mindestens 10 cm durch Blutausgüsse der Harnleiter veranlaßt sein. Auch von tuberkulösen Erkrankungen können Blutungen herrühren.

Bei Blasenblutungen, vesikaler Hämaturie, fehlen die organisierten Stoffe (Cylinder) und die innige Mischung von Harn und Blut; wir beobachten einen geringen Eiweißgehalt, vor allem das Vorhandensein von Epithelien der Blase, auch von geronnénem Blute (Fibrin) und zwar von größeren Gerinnseln; hier kommt es vor, daß der Harn anfangs klar gelassen wird und daß erst am Schlusse der Harnentleerung ein stärkerer Blutgehalt sich zeigt. Sind die Blasenblutungen durch Blasensteine bedingt, so sind die Blutungen meist von eitriger Cystitis begleitet; die Blutung tritt auch hier meist erst gegen das Ende der Blasenentleerung auf.

Bei Blutungen aus der Harnröhre, urethraler Hämaturie, endlich kommt Blut meist im Anfange der Entleerung des Harnes; auch werden

durch Gerinnung des Blutes im Urethralkanal wurmförmige Gerinnsel ausgeschieden. Wenn mit dem ersten Urinstrahl das Blut weggespült ist, folgt meist ein klarer Harn.

Über den Ort der Blutung kann unter Umständen auch die Zwei-, noch besser die Dreigläserprobe Aufschluß geben; man läßt den Harn in drei Teilen entleeren, in das dritte vollständig.

Sind alle drei Gläser gleich stark gefärbt, dann handelt es sich meist um eine Nierenblutung. Bei einer Blasenblutung — bei Cystitis am stärksten im 3. Glas, ebenso bei Blasentumoren, Blasentuberkulose, Blasensteinen — ist gewöhnlich die letzte entleerte Harnmenge blutig oder viel blutreicher, veranlaßt durch das Sedimentieren in der Blase. Eine vorwiegende Blutbeimischung im ersten, auch im letzten Glas, während der Harn im zweiten Glas, im mittleren, hell ist, rührt in der Regel von Blutungen der Harnröhre (pars prostatica) her. Bei blutenden Stellen unmittelbar vor dem Blasenhals oder in der hinteren Harnröhre kann sogar reines Blut der Harnentleerung folgen.

Bei Blutungen aus der vorderen Harnröhre tropft das Blut unabhängig von der Miktion.

Sehr wichtig für die Beurteilung der Hämaturie ist die Beobachtung bei der Entleerung des Harnes, deswegen ist es angezeigt, daß der Kranke jede Harnportion gesondert auffängt und aufbewahrt. Schwankt der Blutgehalt in den einzelnen Harnen sehr stark, oder kommt sogar zwischen den blutigen Harnen ein blutfreier zu Beobachtung, so deutet dies mit sehr großer Wahrscheinlichkeit auf eine Geschwulst hin. Plötzliches Aufhören einer starken Blutung kommt bei gutartigen und bösartigen Tumoren von Niere und Blase vor.

Ein sicheres Urteil zur Feststellung, ob die Blutung in der Blase oder höher oben ihren Ursprung hat, ergeben die Cystoskopie und der Uretherenkatheterismus (M. Matthes).[1])

Hämoglobinurie wird veranlaßt durch Zerstörung von roten Blutkörperchen in einem Maße, daß Leber und Milz den freien Blutfarbstoff nicht aufnehmen können, besonders bei Vergiftungen mit Amylnitrit, Carbol, Arsen, Schwefelwasserstoffgas, chlorsaurem Kali, Sulfonal, Antipyrin, Antifebrin, Phenazetin, Extrakt. Filicis, Chinin, Naphthol, Salz- und Schwefelsäure, nach Bakteriengiften, bei schweren Infektionskrankheiten (Scharlach, Syphilis, Typhus, Malaria, Blattern), durch hämolytisch wirkende Stoffe (Hämolysine), auch nach starken Verbrennungen (Haemoglobinuria toxica).

Als Haemoglobinuria paroxysmalis bezeichnet man die periodisch nach starker Abkühlung, nach anstrengenden Märschen bei scheinbar gesunden Personen und bei Luetikern auftretende Hämoglobinurie.

Über Hämatoporphyrin enthaltenden Harn findet sich das Nähere später mitgeteilt.

---

[1]) Lehrbuch der Differentialdiagnose innerer Krankheiten. J. Springer, Berlin 1919.

Nachweis.

Es ist möglichst frischer Harn zu verwenden. Man darf nicht vergessen, daß Blut im weiblichen Harne von Menstruationen herrühren kann.

Man beachte zuerst die ausgeschiedene Menge an Blut und die Form.

Für die Erkennung des Blutes ist als einfache und sehr brauchbare Methode zuerst die mikroskopische Prüfung auf rote Blutkörperchen zu nennen (s. diese); das Ergebnis dieser sagt uns, ob eine Hämaturie oder Hämoglobinurie vorliegt. Zur Ermittelung der Blutfarbstoffe dient außer der sehr wertvollen spektroskopischen Prüfung der chemische Nachweis. Zur Trennung des Oxyhämoglobins, Hämoglobins, Methämoglobins, Hämatins voneinander ist die spektroskopische Prüfung fast die einzig und allein richtige Resultate gebende.

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.

Beurteilung.

Die Probe ist nicht empfindlich; es kann nur Hämoglobin erkannt werden.

2. Macht man (J. Fl. Hellers[1]) Probe) den Harn mit Natronlauge stark alkalisch und kocht, ohne zu schütteln, so wird das beim Kochen aus dem Hämoglobin entstehende Hämatin sofort zu Hämochromogen reduziert, das von den abgeschiedenen Erdphosphaten aufgenommen wird; der bei normalem Harne weiße oder grauweiße Niederschlag ist dann schön blutrot; beim Stehen an der Luft wird unter Sauerstoffabsorption das Hämochromogen allmählich zu braunem Hämatin oxydiert. Kocht man sog. Blutharn mit Natronlauge im Reagenzglase unter Schütteln, so erhält man gleich braunes Hämatin und der Niederschlag wird braun. Im auffallenden Lichte erscheint er grünlich, er zeigt Dichroismus, ebenso die Flüssigkeit (von Hämatinalkali). Der erhaltene Niederschlag kann zur Häminprobe (6) verwendet werden. Man löst die im Niederschlage vorhandenen Phosphate der Erdalkalien in Essigsäure und verwendet das ungelöste Hämatin zur Darstellung der Teichmannschen Krystalle.

Den positiven Ausfall der Probe kann man sehr einfach noch weiter sicherstellen. Wenn das gefärbte Sediment sich zusammengeballt hat, braucht man nur mit dem Handspektroskop gegen eine gute Lichtquelle (Fenster) durchzuschauen, um die Hämochromogenstreifen zu sehen (Malfatti).[2])

Beurteilung.

Die Hellersche Probe, allerdings durch Einfachheit ausgezeichnet, darf nur als Vorprobe gelten, da ihre Empfindlichkeit nicht als allgemein ausreichend bezeichnet werden darf. Ihr negativer Ausfall schließt keineswegs die Gegenwart einer solchen Blutbeimengung aus, deren Kenntnis für den Kliniker von Bedeutung sein kann; andererseits kann man damit auch bei solchen Harnen einen positiven Ausfall bekommen, die nicht Blutfarbstoff, sondern einen oder mehrere andere Farbstoffe enthalten (O. Schumm).

---

[1]) Zeitschr. d. K. K. Gesellschaft der Ärzte zu Wien XIV. 1858. N. F. **1.** S. 751; Wien. med. Zeitschr. 1859. **1.** 48.

[2]) Nach gütiger Mitteilung.

V. Arnold, R. Neumeister halten sie, ersterer kombiniert mit der spektroskopischen Untersuchung (s. oben Malfatti) für eine sehr scharfe, altbewährte Blutprobe (E. Ebstein a. a. O.).

Reagiert der Harn alkalisch, so sind die Erdphosphate meist schon ausgeschieden, sedimentiert; um die gefärbte Hämatinverbindung mit den Erdphosphaten zu erhalten, vermischt man diesen Harn vor dem Erwärmen entweder mit einigen Tropfen einer Chlorbarium- oder Chlorcalciumlösung oder mit dem gleichen Volumen eines normalen sauren Harnes.

Die bei Einnehmen von Senna, Rheum, Santonin, Purgatin in den Harn übergehenden Farbstoffe veranlassen auch eine Rotfärbung der Erdphosphate; jedoch fehlt hier die Erscheinung des Dichroismus. Man löst zweckmäßig den abfiltrierten Niederschlag in Essigsäure, die sich bei Anwesenheit von Blutfarbstoff rot färben wird; beim Stehen an der Luft verblaßt die Farbe; beim Vorhandensein der genannten Medikamente färbt sich die Essigsäure gelb, an der Luft allmählich violett werdend. Die Farbstoffe dieser Arzneimittel können noch mit den bei den Arzneimitteln (s. d.) angegebenen Reaktionen erkannt werden.

3. Alménsche Guajacterpentinprobe auf Blut.[1]) (Schönbein-van Deen.)

Diese beruht auf der Eigenschaft des Blutfarbstoffes (Hämoglobin) und seiner eisenhaltigen Farbstoffderivate (Hämochromogen, Hämatin) zu den sog. Ozonträgern, denen es das Ozon, richtiger gesagt das organische Peroxyd, leicht entzieht, um es an andere Stoffe, hier an die im Guajacharz vorhandene Guajaconsäure abzugeben, die dadurch zu Guajacblau (Guajaconsäureozonid) oxydiert wird.

Nach Carlson[2]) beruht die Blaufärbung auf einer im Blute vorkommenden organischen Verbindung; die Reaktion soll so verlaufen, daß diese Verbindung aus dem Wasserstoffsuperoxyd oder aus dem Terpentinöl Hydroxyl aufnimmt und damit eine labile Verbindung bildet, die fast augenblicklich das Hydroxyl an die Guajactinktur abgibt; dadurch soll diese blau gefärbt werden.

Man schüttelt gleiche Volumina frisch bereiteter (1 T. Harz : 100 T. abs. Alkohol, nach O. Schumm schüttelt man 0,5 g gepulvertes Harz mit 3—5 ccm 90%igem Alkohol 1 Minute lang und filtriert nach kurzem Stehen) Guajactinktur und altes verharztes Terpentinöl (man läßt rektif. Terpentinöl in offenen flachen Porzellanschalen im zerstreuten Tageslicht während mehrerer Wochen stehen) tüchtig untereinander; die Mischung darf keine Blaufärbung zeigen; dann schichtet man den zu prüfenden Harn (oder das Sediment) auf das Reagens. Ein an der Berührungsstelle erscheinender, zuerst blaugrüner, dann hell- bis dunkelblauer Ring deutet auf die Anwesenheit von Blut und Blutfarbstoff. Beim Umschütteln wird die Mischung mehr oder weniger blau. Viel sicherer ist die Probe nach Schumm.

Nach Schumm[3]), auch J. Rothschild[4]) dürfen nicht beliebige Mengen von Öl und Guajactinktur genommen werden; ein Überschuß an letzterer z. B. setzt die Empfindlichkeit bedeutend herab; auch vom Terpentinöl soll nur eine kleine Menge zugesetzt werden. Man erreicht mit der Probe die größte Empfindlichkeit, wenn man zu 5 ccm Harn, der neutral oder schwach sauer sein muß und den man im Reagenzglas aufgekocht hat, nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur nur 3—10 Tropfen der frisch hergestellten Guajactinktur und 20 Tropfen Terpentinöl zusetzt und unter öfterem Schütteln, ohne das Glas mit dem Finger zu verschließen, einige Minuten (2—3)

[1]) E. Ebstein, Zur Entwicklung der klinischen Harndiagnostik. G. Thieme, Leipzig 1915.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **50.** 374.
[3]) Ebenda 1906. **48.** 69; 1907. **50.** 375; Centrlbl. ges. Physiol. Patholog. 1908. Separatabdr.
[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1908. **45.** Nr. 18.

stehen läßt. Gießt man einige Kubikzentimeter Alkohol auf die Terpentinölschicht, so wird die bekannte blaue Färbung der oben sich sammelnden Alkohol-Terpentinölschicht noch deutlicher. Man säume nicht, einen Kontrollversuch mit Wasser, Guajactinktur und Terpentinöl gleichzeitig mit anzusetzen. Diese Ausführung wird von Schumm als einfache Guajacprobe bezeichnet.

Das an Stelle des Terpentinöles empfohlene 3%ige Wasserstoffsuperoxyd (man verwendet 2 ccm) steht nach den eingehenden Versuchen von Schumm an Empfindlichkeit dem Terpentinöl nach. Schumm läßt Terpentinöl in Schalen in dünner Schicht am besten in Krystallisierschalen im zerstreuten Tageslicht bei Zimmertemperatur stehen; das sirupartig gewordene Öl (spez. Gew. etwa 1,23), das kaum mehr wie frisches Öl riecht, verdünnt Schumm mit der 5fachen Menge gewöhnlichen Terpentinöles und verwendet dieses Öl (spez. Gew. etwa 0,95) beim Nachweise. Das Öl (einige Kubikzentimeter) soll beim Schütteln mit etwas Quecksilber in einem trockenen verschlossenen Glase nach Zugabe von 10 Tropfen frischer Guajactinktur sehr schnell eine starke Blaufärbung zeigen.

Will man Wasserstoffsuperoxyd nehmen, dann empfiehlt es sich, das Gemisch aus Harn und Tinktur mit 3%igem Wasserstoffsuperoxyd zu unterschichten; die Blaufärbung entsteht im unteren Teile der Flüssigkeit.

Wackers[1]) läßt den Harn aufkochen, durch ein kleines glattes Filterchen filtrieren und in die noch eine Spur Harn enthaltende Filterkuppe 1 Tropfen Essigsäure und 1 ccm frisch hergestelltes Guajac-Terpentinölgemisch bringen. Ist Blut vorhanden, dann entsteht fast augenblicklich eine tiefe Blaufärbung der Filterteile in der Umgebung der Flüssigkeit und endlich auch dieser. Kochen des Urins vor dem Anstellen der Probe schützt vor Verwechslung.

W. Weitbrecht[2]) führt die Guajacprobe mit Natriumperoxyd aus. Zu 5 ccm Harn bringt man 3 Tropfen alkoholischer Guajacharzlösung 1 : 5 und schüttelt um. Dann gibt man mit einem Glasspatel ungefähr eine kleine Messerspitze voll Natriumperoxyd und sofort etwa 2 ccm 30%iger Essigsäure zu und überschichtet mit 2—3 ccm Alkohol. An der Berührungsstelle tritt der blaue Ring auf, wenn Blut vorhanden ist.

B. Bardach[3]) gibt ein Verfahren mit Natriumperborat an. Pyramidon wird an Stelle der Guajactinktur von Thevenson und Rolland[4]), von A. Eschaich[5]) angewendet. J. Boas[6]) wendet zum Ausziehen des Blutfarbstoffes die Chloralhydratalkoholmethode an und statt des Guajacharzes die Guajaconsäure Merck. Mit $^1/_2$%iger Lösung von Guajacpulver in Chloralhydrat-Alkohol will J. Vándorfy[7]) die größte Empfindlichkeit erreicht haben.

Beurteilung.

Die Probe ist sehr empfindlich, jedoch nicht absolut beweisend, da auch die Nucleoproteide des Eiters, oxydierende Fermente und Oxydationsmittel (Jodverbindungen, Ferriverbindungen, salpetrige Säure) diese Reaktion geben. Es tritt aber zum Unterschiede in diesen Fällen die Blaufärbung schon ohne Terpentinölzusatz ein und nicht mehr im gekochten Harne. Alkalischer Harn ist schwach mit Essigsäure anzusäuern, da sonst die Probe weniger empfindlich ist. Mineralsäuren beeinflussen störend die Probe. Wenn die Probe negativ ausfällt, ist eine weitere Untersuchung auf Blut überflüssig. Um die Fehlerquellen auszuschalten. empfiehlt es sich, die Probe nicht am Harne direkt, sondern an dem daraus hergestellten Essigsäureätherextrakte auszuführen (O. Schumm). Man schüttelt 50 ccm Harn mit 5 ccm Eisessig und 40—50 ccm Äther im Scheidetrichter stark aus. Nach erfolgter Trennung (etwas Alkohol oder ein neuer Ätherzusatz wird diese beschleunigen) der beiden Flüssigkeitsschichten läßt man die Harnschicht abfließen, wäscht die im Scheidetrichter verbliebene Ätherlösung ein- bis zweimal mit etwa 5 ccm Wasser und entfernt das Wasser. Von der Ätherlösung verwendet man 3—5 ccm, gibt 3—10 Tropfen (je nach der Blutmenge) frische Guajacharztinktur oder Guajaconsäurelösung (1 : 100 Alkohol) und etwa 20 Tropfen Terpentinöl hinzu und schüttelt. Mit einem anderen Teil der Ätherlösung nimmt man die Benzidinprobe vor; ein weiterer Teil kann nach Behandlung mit Ammoniak usw. nach S. 474 zur spektroskopischen Prüfung verwendet werden. Man nehme nur ganz reine Gläser.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** 198.
[2]) Schweiz. Wochenschr. Chem. Pharm. 1910. **48.** 589.
[3]) Chem. Ztg. 1913. **37.** 1190.
[4]) Annal. des Falsific; 1917. **10.** 485; Zeitschr. anal. Chem. 1919. **58.** 191.
[5]) Compt. rend. soc. biolog. 1919. **82.** 741.
[6]) Biochem. Zeitschr. 1917. **79.** 105; Berl. klin. Wochenschr. 1917 **53.** 1357.
[7]) Archiv Verdauungskrankh. 1922. **30.** 1.

4. Die Benzidinprobe nach O. und R. Adler[1]) in den Ausführungen von E. Schlesinger und F. Holst[2]), sowie von O. Schumm[3]) und C. Westphal.[4])

Zu 10 ccm des Urins fügt man im Reagenzglase etwa $^1/_2$—1 ccm Eisessig und schüttelt leicht um. Alsdann setzt man etwa $^1/_3$ des Volumens Schwefeläther zu und schüttelt das Ganze intensiv durch. Nach kurzem Stehenlassen des Reagensgläschens bewirkt man die exakte Trennung der sich oben ansammelnden Ätherschicht durch Hinzufügen einiger Tropfen absoluten Alkohols und durch leichtes Schütteln, wobei sich, wie bekannt, die grauweißen in der Ätherschicht befindlichen gelatinösen Massen zusammenballen. Mit der Pipette hebt man, wenn man nicht einen Schütteltrichter benützt hat, den völlig klaren Äther ab und bringt ihn in ein anderes Reagenzgläschen, das mit dem fertigen Benzidinreagens ($^1/_2$ ccm frisch bereiteter Benzidin-Eisessigmischung — eine Messerspitze Benzidin Merck wird mit 2 ccm Eisessig durchgeschüttelt und stehen gelassen — und 2—3 ccm 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung) beschickt ist. Man schüttelt den Inhalt des Gläschens etwas durch, wobei sich der Äther meist völlig in dem Reagens verteilt. Beim Vorhandensein minimaler Blutspuren tritt in wenigen Sekunden bis ungefähr in einer Minute eine schöne grüne oder bei stärkerem Blutgehalte blaue Färbung ein.

O. Schumm und C. Westphal vermischen das durch Ausschütteln mit Wasser gereinigte Essigsäureätherextrakt mit 2 ccm frischer konz. Benzidinlösung und einigen Tropfen Essigsäure und unterschichten dann vorsichtig 2 ccm 3%iges Wasserstoffsuperoxyd. Man kann auch 2 ccm alkoholischer Benzidinlösung (1 T. Benzidin: 15—20 T. Alkohol absolut.), mehrere Tropfen Eisessig und 2 ccm 3%iges Wasserstoffsuperoxyd zum Harne setzen. Es entsteht bei Anwesenheit von Blut die angegebene Färbung.

Beurteilung.

Als Blutreagens ist das Benzidin der empfindlichste der in neuerer Zeit empfohlenen Stoffe; allerdings ist seine Empfindlichkeit beim Harne geringer, wie bei Blutlösungen. Schumm glaubt, daß auf der Klinik mit der Guajac-Terpentinölprobe sicherer gearbeitet wird. Die Empfindlichkeit ist völlig abhängig auch von der Qualität der betreffenden Präparate. Man hat Sorge zu tragen, daß man reinstes Benzidin erhält. Aber auch das beste Benzidin verändert sich leicht, deswegen bewahre man es vor Licht geschützt auf und stelle stets einen Kontrollversuch an. Wegen der Empfindlichkeit ist große Vorsicht am Platze; namentlich müssen die zur Herstellung der Lösung und zur Ausführung der Reaktion bestimmten Reagenzgläser peinlichst sauber gehalten werden. Mit dem Reste des Ätherextraktes stellt man die Prüfungen mit dem Guajacharzreagens und die spektroskopische Probe an, S. 469.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41.** 59.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** 460.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907. **50.** 374; Münch. med. Wochenschr. 1907. **54.** Nr. 6; 1908. **55.** Nr. 28; Zentralbl. gesamt. Physiol. u. Patholog. 1908. Separatabdr.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1905. **52.** 520.

Als empfindliches Reagens auf Blut empfehlen O. u. R. Adler auch die farblose reine Leukobase des Leukomalachitgrüns bei Gegenwart von Hydroperoxyd und Essigsäure. Es tritt bei Gegenwart von Blut Grünfärbung ein.

F. Michel[1]) gibt ebenfalls einen allerdings umständlichen Nachweis mit dem Leukomalachitgrünreagens (0,05 g der Base [Kahlbaum] in 10 ccm Eisessig, mit Wasser: 50 ccm aufgefüllt) an.

M. Einhorn[2]) empfiehlt Benzidinpapier. Filtrierpapierstreifen werden mit einer mit Benzidin gesättigten Eisessiglösung getränkt und getrocknet. Die Papiere faßt man mit Elfenbeinpinzetten an. Man taucht ein Stück Benzidinpapier in die auf Blut zu untersuchende Lösung und gießt ein paar Tropfen Wasserstoffsuperoxyd darüber. Man läßt das Papier auf einer weißen, reinen Porzellanplatte liegen. Nach einigen Sekunden bis einer Minute tritt deutliche Grün-Blaufärbung ein, wenn Blut vorhanden ist.

A. V. Knack[3]) erwähnt ein Verfahren zur Vornahme der Blutprobe mit Trockenreagentien (Benzidinacetat u. Perhydrol).

5. Kleine Mengen von Hämoglobin lassen sich nachweisen, wenn man nach H. Struve[4]) den Harn in einem Reagenzgläschen zuerst mit etwas Ammoniak oder Ätzkali schwach alkalisch macht, dann mit Tanninlösung und Essigsäure bis zur saueren Reaktion versetzt. Aus dem sich aus der Flüssigkeit absetzenden schwärzlichen Niederschlage — gerbsaures Hämatin — kann man nach dem Auswaschen desselben Hämatin krystallisiert herstellen.

Alkalischer, faulender Harn kann für diese Probe nicht verwendet werden.

6. Mikroskopisch-chemischer Nachweis von Hämoglobin durch die L. T. S. Teichmannsche[5]) Häminprobe (Häminkrystalle) 1853.

Man erwärmt auf einem Objektträger eine Spur Hämoglobin oder bluthaltigen Harn oder zweckmäßig eine kleine Menge von den bei 1—3 erhaltenen Niederschlägen mit Eisessig und einer Spur Kochsalz vorsichtig, ungefähr eine Minute lang, bis sich im Eisessig Bläschen entwickeln, wobei der verdampfende Eisessig tropfenweise durch neuen ersetzt wird. (Nicht zu stark erhitzen!) Bei Gegenwart von Hämatin färbt sich die Flüssigkeit allmählich braunrot. Man läßt das Präparat bis auf 45° erkalten und bei dieser Temperatur allen Eisessig langsam verdunsten. Die braunen Stellen betrachtet man unter dem Mikroskope. Am besten trocknet man etwas von dem bluthaltigen Harne oder dem erhaltenen Niederschlage mit einer Spur Kochsalz auf einem Objektträger auf dem Wasserbade ein, zerreibt den Rückstand mit wenigen Tropfen Eisessig und trocknet nach dem Bedecken mit einem Deckgläschen über kleiner Flamme oder auf dem Wasserbade ein. Werden die Krystalle nach dem erstmaligen Erwärmen noch nicht sichtbar, so erwärmt man noch ein zweites und drittes Mal mit neuen Mengen Eisessig (W. Autenrieth). Die nach dem Erkalten und vollständigen Eintrocknen entstandenen Häminkrystalle (salzsaures Hämatin) erkennt man an ihren Farben-

[1]) Chem. Ztg. 1912. **36.** 994.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1907. **33.** 1087.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1914. **61.** 792.
[4]) Zeitschr. analyt. Chem. 1872. **11.** 29.
[5]) Zeitschr. rationell. Mediz. 1853. **3.** 375; 1857. **8.** 141.

nuancen 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. 66). Noch deutlicher treten die Krystalle hervor, wenn man Glycerin zum Präparate gibt. Verwendet man statt Kochsalz Jodnatrium, so bekommt man Krystalle von dunklerer Farbe. (Jodwasserstoffsaure Ester des Hämatins.)

Schön und sicher erhält man die Krystalle, wenn Blutfarbstoff vorhanden ist, in der von Kobert oder Nippe[1]) angegebenen Ausführung. Nach Kobert verreibt man das getrocknete hämatinhaltige Harnsediment mit einer Spur Jodkalium und erhitzt in der gewöhnlichen Weise auf einem Objektträger mit Deckgläschen. Die dabei entstehenden Krystalle sind intensiv schwarz und deshalb viel deutlicher, als die gewöhnlichen Teichmannschen.

Fig. 66. Häminkrystalle (etwa 350fache Vergr.)

Nach Nippe. Das Blut oder das bluthaltige Material erwärmt man mit einigen Tropfen von dem Reagens (Bromkalium, Jodkalium, Chlorkalium āā 0,1 g auf 100 g Eisessig) auf dem Objektträger unter dem Deckglase bis zur Blasenbildung; die Krystalle sind schon bei schwacher Vergrößerung zu erkennen.

Beurteilung.

Die Probe ist nicht so leicht zu handhaben, sie kann auch versagen, trotzdem Blut vorhanden ist; in den angegebenen Ausführungen gelingt sie gut. E. Ebstein[2]) empfiehlt die Vornahme der Probe nach Nippe; Deussen[3]) hatte mit der von Autenrieth angegebenen recht gute Erfolge. Beimengung von Fetten kann die Bildung der Krystalle erschweren, sogar unmöglich machen.

7. Nach Lecanu kann man das gefärbte Koagulum (Harn bloß kochen, nötigenfalls nach Zusatz von etwas Eiweißlösung) mit schwefelsäurehaltigem Alkohol in gelinder Wärme ausziehen; Hämoglobin zerlegt sich beim Kochen in eine Eiweißsubstanz und in Hämatin; letzteres löst sich in saurem Alkohol; die Lösung zeigt im Spektrum einen Absorptionsstreifen im Rot (Spektraltafel). Doch siehe S. 473.

8. von Kossá[4]) gibt einen Blutnachweis an, der auf der Ausflockung des Blutes, auch wenn es nur in sehr geringen Mengen vorhanden ist, durch Chloroform beruht.

10 ccm Harn werden mit 10 ccm Wasser verdünnt und mit 5 ccm Alkohol und 5 ccm Chloroform versetzt. Das Reagenzglas wird hin und her bewegt. Bei einem Blutgehalte bemerkt man an der

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1912. 38. Nr. 47; Münch. med. Wochenschr. 1912. 59. 2693.
[2]) a. a. O.
[3]) Nach brieflicher Mitteilung.
[4]) Deutsch. med. Wochenschr. 1909. 35. 1469.

Berührungsstelle zwischen Chloroform und wässeriger Flüssigkeit rotgefärbte Flocken. Der Nachweis soll bei einer Verdünnung von 1 : 2000 noch möglich sein.

Beurteilung.

E. Salkowski[1]) fand bei der Nachprüfung der Probe die Angaben bestätigt; er weist darauf hin, daß der Nachweis der spektroskopischen Untersuchung überlegen ist. Salkowski läßt beim Nachweise ausgiebig schütteln, gießt möglichst viel von dem über dem emulgierten Chloroform stehenden Harne ab, gibt Wasser dazu und befördert die Abscheidung des Chloroforms durch Zusatz von Alkohol. Zur Abscheidung oder Ausflockung kann man nach Salkowski auch Petroläther verwenden. Auf diese Eigenschaften des Chloroforms haben Salkowski, auch K. Mörner schon früher aufmerksam gemacht.

9. Probe nach O. Rossel[2]), auch als Aloinprobe von A. Klunge bezeichnet.

Der mit Essigsäure stark angesäuerte Harn wird mit dem gleichen Volumen Äther oder Essigäther ausgeschüttelt, die Ätherlösung (Zusatz von 2 Tropfen Alkohol, Einstellung in Eiswasser hebt eine etwa gebildete Emulsion auf) mit einigen Tropfen Wassers und mit 15—30 Tropfen alten Terpentinöls oder mit 5—10 Tropfen frischen Wasserstoffsuperoxyds geschüttelt und dann mit 10—20 Tropfen einer etwa 2%igen, stets frisch zu bereitenden Barbadosaloinlösung (in 70—90%igem Alkohol) geschüttelt.

Bei den minimalsten Blutfarbstoffmengen tritt nach ganz kurzer Zeit deutliche Rotfärbung (nach 10 Minuten kirschrot) der wässerigen Schicht ein.

Beurteilung.

Die Probe ist an sich weniger empfindlich, als die Guajacprobe. Klimoff gibt eine ähnliche Methode an. M. Einhorn verwendet Aloinpapier.

10. Die Paraphenylendiaminreaktion von J. Boas.[3])

O. Schumm und H. Remstedt haben diese auf ihre Verwendbarkeit für Harn geprüft. Die Reagenzien müssen in bestimmter Reihenfolge zugesetzt werden. Man setzt zum Harne oder noch besser zum Eisessig-Ätherauszuge (S. 473) erst 2 Tropfen einer $^1/_2$%igen wässerigen Paraphenylendiaminchlorhydratlösung, dann 1 ccm einer etwa $^1/_2$ n.-alkoholischen Kalilauge, weiter 1 ccm 3%iges Wasserstoffsuperoxyd und erst dann tropfenweise (etwa 5 Tropfen) Essigsäure hinzu. Man beobachtet bei Anwesenheit von Blut eine momentan entstehende Olivgrünfärbung, die allmählich in Braunrot übergeht.

Beurteilung.

Die Eigenfarbe des Harnes beeinträchtigt die Empfindlichkeit der Reaktion. Vor der Guajacprobe und Benzidinprobe hätte sie den Vorzug, daß sie durch geringe Mengen freier Salzsäure nicht gestört wird und auf Oxydationsfermente nur wenig oder gar nicht reagiert. Die Probe ist aber entbehrlich (O. Schumm).

---

[1]) Charité-Annal. **34.** Separatabdr.
[2]) Schweiz. Wochenschr. Chem. Pharm. 1901. **39.** 557.
[3]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1906. Nr. 24. 601.

11. Phenolphthalinprobe von E. Meyer (Kastle-Meyer).

Sie beruht auf der Oxydation von Phenolphthalin zu Phenolphthalein.

Albarran und Hitz-Boyer[1]), Telmon und Sandou, A. Lejeune[2]) empfehlen die folgende Ausführung.

Reagens:

2 g Phenolphthalein und 20 g Ätzkali werden in 100 g Wasser gelöst und mit 10 g Zinkpulver versetzt. Man erwärmt unter Umschütteln, bis Entfärbung eingetreten ist, worauf heiß filtriert wird.

Zu 2 ccm Harn gibt man 1 ccm von dem Reagens, schüttelt um und fügt 3—4 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd (12 Vol. %iges) hinzu. Beim Vorhandensein von Blut tritt je nach der Menge in wenigen Sekunden oder in 2—3 Minuten eine intensive rote Färbung auf.

W. Weitbrecht[3]) läßt 3 ccm Harn mit 3 ccm einer 2%igen alkoholischen Essigsäurelösung, dann mit 1 ccm Reagens und mit etwa 3 Tropfen 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzen.

Beurteilung.

Die Probe ist zwar sehr empfindlich, doch ist, wie auch Labat[4]), Kober[5]) bemerken, bei der Beurteilung der positiven Ergebnisse große Vorsicht geboten.

Nach A. Satory[6]) gibt Harn, der Bikarbonate enthält, die Reaktion.

Eine von Fleig[7]) angegebene Probe gründet sich auf die Eigenschaft des Fluoreszeins, in alkalischer Lösung zu Fluoreszin reduziert zu werden. Dieses wird durch Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart eines katalytischen Stoffes, wie Hämoglobin und seiner Derivate, wieder in Fluoreszein zurückverwandelt, das sich durch seine bekannte Fluoreszenz auszeichnet.

12. Die spektroskopische Prüfung.

Diese beruht auf der Fähigkeit des Hämoglobins, des Oxyhämoglobins, des Methämoglobins, bestimmte Lichtstrahlen zu absorbieren, so daß sich im Spektrum bestimmte dunkle Streifen, Absorptionsstreifen, zeigen.

Die spektroskopische Prüfung des Harnes ist wohl unentbehrlich, sie erfordert wenig Zeitaufwand und gibt Aufschluß über die Form, in der der Blutfarbstoff vorhanden ist. Schumm sagt zutreffend, daß für den, der in der Ausführung und Beurteilung der üblichen Farbenreaktionen auf Blut nicht ganz sicher ist, die spektroskopische Methode auch die geeignetste Kontrolle ist, zumal sie auf ganz anderen Prinzipien beruht.

Fig. 67 zeigt einen größeren Spektralapparat (Kirchhoff-Bunsen). Dieser besteht aus einem Prisma P und aus drei auf einem Stative 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 gestellt 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 astronomische Fernrohr B; durch das Okular (eine Lupe) mit 6—8maliger Vergrößerung wird das Spektrum beobachtet. Um in diesem 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.

[1]) Gaz. med. d. Paris Aug. 1909. Pharm. Centralh. 1910. **51.** 509.
[2]) Pharm. Ztg. 1910. **55.** 409.
[3]) Schweiz. Wochenschr. Chem. Pharm. 1910. **48.** 589.
[4]) Bullet. trav. Soc. Pharm. Bordeaux 1910. 311; Chem.-Ztg. Rep. 1910. **34.** 493.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1911. **37.** 1481.
[6]) Compt. rend. **153.** 131.
[7]) Journ. Pharm. 1913. **54.** 748; Pharm. Centralh. 1913. **54.** 748.

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 entfernte 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 so weit 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 — (Reagenzgläser können auch benützt werden) gebracht und dieses dicht vor den Spalt des Kollimatorrohres *A* so gestellt, daß die Strahlen der hinter dem Glasgefäße befindlichen stark leuchtenden Gas- oder Petroleumlampe senkrecht durch die Flüssigkeit hindurchgehen müssen.

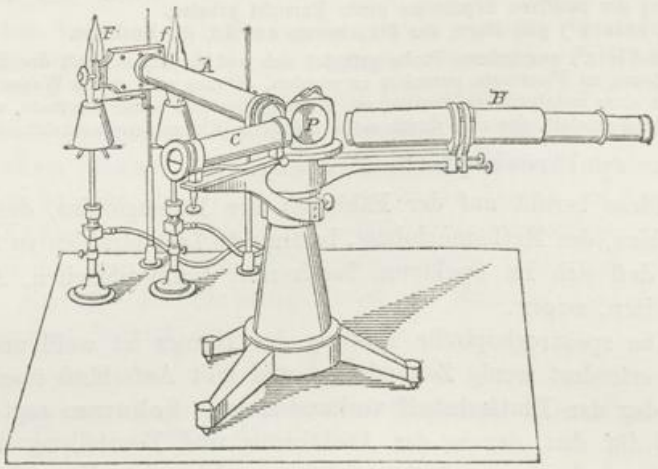


Fig 67.

Durch eine Lampe wird die Skala (Rohr *C*) beleuchtet und durch das Fernrohr *B* die Beschaffenheit des Spektrums und die Lage der Absorptionsstreifen mit der beleuchteten Skala bestimmt.

Sehr gute Dienste leisten die eben so genaue Resultate gebenden und viel leichter zu handhabenden Taschenspektroskope von Browning oder Vogel; diese zeigen die Absorptionserscheinungen meist noch deutlicher und schärfer, als die großen Apparate. Man gibt in die Glasröhre den zu untersuchenden, filtrierten und nötigenfalls verdünnten Harn, befestigt diese an dem Halter am Apparate, der vorher eingestellt wird, und sieht dann gegen eine Lampe, nicht ins direkte Sonnenlicht. Drei sehr vorzügliche Spektroskope, besonders für die Zwecke der Harnuntersuchung bestimmt, hat O. Schumm konstruiert, ein Blutspektroskop, ein neues Gitterspektroskop und ein neues Prismenspektroskop; sie sind zu beziehen durch Carl Zeiss in Jena (das Blutspektroskop), das Prismenspektroskop vom Optischen Institut A. Krüß in Hamburg.

Die Fig. 68 zeigt ein Vogelsches Spektroskop, bei dem das Vergleichsprisma nicht horizontal, sondern parallel ausgeschaltet wird, wodurch das Vergleichsprisma stets in ein und dieselbe Lage zu dem Hauptspektrum zu stehen kommt und das Arbeiten ungemein erleichtert wird.

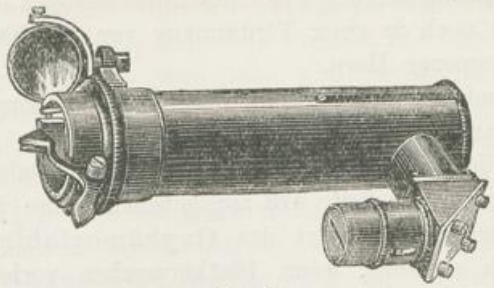


Fig. 68.

Fig. 69 stellt ein ganz einfaches Spektroskop mit einem Prismensystem von ziemlich starker Dispersion dar, das bei ausgedehntem Spektrum eine sehr große Anzahl Fraunhoferscher Linien zeigt. Durch den auf dem Rohre befindlichen, mit dem Kollektivglase fest verbundenen Knopf wird die Fokuseinstellung für die verschiedenen Augen leicht bewerkstelligt. Der vorne am Rohre 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.[1])

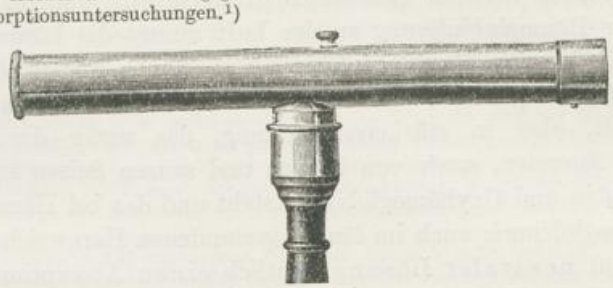


Fig. 69.

Die Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit der spektroskopischen Methode ist, wie auch O. Schumm (l. c.) mitteilt, von der Art des benutzten Spektroskopes abhängig; es soll eine sehr geringe Dispersion und gleichzeitig möglichst geringe Eigenabsorption haben. Hiezu eignen sich nach Schumm folgende Arten von Spektroskopen: 1. die Bunsen-Kirchhoffschen Apparate, die eine geringe Dispersion, also ein schwach zerstreuendes Prisma und ein schwaches Vergrößerungssystem haben; 2. die mit einem dreifachen Amiciprisma ausgestatteten geradsichtigen Handspektroskope; 3. das von Schumm empfohlene Handspektroskop, das ähnlich wie ein Mikroskop gehandhabt wird und das vermöge seiner großen Lichtstärke auch zur direkten spektroskopischen Untersuchung relativ dunkler Harne in größerer Schichtdicke geeignet ist. Um die spektroskopische Probe möglichst empfindlich zu gestalten, fülle man die zu untersuchende Harnprobe in Glasgefäße von größerem Durchmesser; wenn man den Harn in ein Reagenzglas füllt, dann gelingt der Nachweis nur noch in einer Verdünnung von etwa 1 : 2000. Die Empfindlichkeit wird außerordentlich gesteigert, wenn man den Harn mit

[1]) Zu beziehen durch die Firma Hans Heele in Berlin.

nicht zu starker Eigenfarbe in eine Polarisationsröhre von 10 oder 20 cm Länge, wie sie für Zuckerbestimmungen gebräuchlich sind, einfüllt und dann die Röhre in Längsrichtung vor den Spalt des Spektroskopes bringt. Der Nachweis gelingt dann noch in einer Verdünnung von 1 : 2500, etwa 1 Tropfen Blut auf die Tagesmenge Harn.

Für das Handspektroskop werden geeignete Absorptionsgefäße auch von der Firma Carl Zeiss in Jena hergestellt.

Die Empfindlichkeit der spektroskopischen Methode läßt sich noch steigern, wenn man in der Seite 473 angegebenen Weise verfährt.

Normales frisches Blut zeigt das Oxyhämoglobinspektrum, das auch immer noch entsteht, wenn Blutkörperchen vorhanden sind, zwei Absorptionsstreifen im Grün und Gelb zwischen den Fraunhoferschen Linien *D* (hier der schmälere Streifen) und *E* (hier der breitere); diese Streifen werden durch Zusatz von einigen Tropfen farblosen Schwefelammoniums oder von einer ammoniakalischen, weinsäurehaltigen Eisenvitriollösung (Stokessche Lösung) durch Reduktion des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin in einen breiten Streifen (Hämoglobinstreifen) umgewandelt; beim Schütteln der Hämoglobinlösung an der Luft nimmt die Lösung Sauerstoff auf und geht wieder in Oxyhämoglobin über. (Siehe Spektraltafel.)

Das Methämoglobin, das ebensoviel Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin enthält, aber in stärkerer Bindung, das unter der Einwirkung oxydierender Agenzien, sowie von Säuren und sauren Salzen im Harne aus dem Hämoglobin und Oxyhämoglobin entsteht und das bei Hämaturie, meist aber bei Hämoglobinurie auch im länger gestandenen Harne sich findet, zeigt in saurer und neutraler Lösung deutlich einen Absorptionsstreifen im Rot rechts von der Fraunhoferschen Linie *C*; drei andere schwächere liegen im gelben, grünen und blauen Teile 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 Alkalischmachen mit Ammoniak oder Kalilauge spektroskopisch 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 oder

Stokesscher Lösung werden die beiden Streifen des reduzierten Hämatins (des Hämochromogens) sichtbar, besonders der scharf begrenzte zwischen *D* und *E*. Die Streifen des reduzierten Hämatins stehen dem violetten Teile 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 Harne aus dem Methämoglobin entstanden ist. Sieht man letztere Streifen, so kann man durch Schütteln der Harnlösung an der Luft die Oxyhämoglobinstreifen erzeugen.

Die Empfindlichkeit der spektroskopischen Methode läßt sich steigern, wenn man den Blutfarbstoff überhaupt in das Hämochromogen überführt; bei Harn, bei dem der Blutfarbstoff infolge vorgeschrittener Zersetzung in Hämatin übergegangen ist, ist es schon sowieso das Nächstliegende, das Hämatin in Hämochromogen überzuführen, das durch eine intensive Absorptionserscheinung ausgezeichnet ist. Für den Nachweis kleiner Mengen Blut im Harne ist das Verfahren ebenfalls das zweckmäßigste. Dies gelingt wie angegeben durch Zusatz von Kalilauge und Schwefelammonium. Schon Formánek hat gefunden, daß eine gegebene Menge Blutfarbstoff dann das intensivste Spektrum liefert, wenn man ihn in Hämochromogen überführt. Die Überführung des Oxyhämoglobins erfolgt gleichfalls durch Zusatz der genannten Reagenzien. Leider bewirkt nun aber der Zusatz von Kalilauge besonders bei manchen Harnen einen sehr starken Phosphatniederschlag, der Blutfarbstoff mit niederreißt; auch wird die Flüssigkeit trübe und für die Untersuchung nicht mehr geeignet. Beim Filtrieren wird ein großer Teil des vorhandenen Blutfarbstoffes entfernt; er ist im Niederschlag. Wenn genügend Hämatin, genügend Blutfarbstoff vorhanden ist, ist ja der Hauptstreifen des Hämochromogenspektrums noch erkennbar, wenn man die Mischung in dünneren Schichten spektroskopiert. O. Schumm[1]) hat nun zur Behebung dieses Fehlers die Brauchbarkeit der Methoden nachgeprüft, die den Blutfarbstoff erst ausfällen und aus dem Niederschlage isolieren lassen.

Das von Lecanu S. 467 angegebene Verfahren hat sich nicht bewährt.

Erheblich bessere Resultate ergibt dagegen das von Struve empfohlene Verfahren, das Schumm in folgender Weise abänderte: 100 ccm Harn werden mit 1 ccm Salmiakgeist alkalisch gemacht, unter Umrühren mit 5 ccm frischer 10%iger Tanninlösung versetzt und dann mit Essigsäure schwach angesäuert (etwa 3 ccm verdünnte 30%ige Essigsäure). Die Flüssigkeit wird durch ein kleines Filter filtriert, das Filtrat fortgegossen. Den Niederschlag extrahiert man auf dem Filter durch Aufgießen von 8 ccm Salmiakgeist, die ablaufende ammoniakalische Lösung fängt man in einem Glase von etwa $1^1/_3$ cm Durchmesser auf (Reagenzglas, besser ein planparalleles Glas), überschichtet sie mit Äther und setzt etwa 5 Tropfen gutes Schwefelammonium hinzu. Nach 1—2 Minuten zeigt die Flüssigkeit das Spektrum des Hämochromogens. Die Empfindlichkeitsgrenze des Verfahrens liegt etwa bei 1 : 5000, wenn man 100 ccm Harn verarbeitet.

Noch empfindlicher ist aber das von C. Wolff empfohlene „Zinkacetatverfahren". Diesem liegt die schon von Grüning und von Geus stammende Beobachtung zugrunde, daß Oxyhämoglobin durch Zinkacetat aus seinen Lösungen gefällt wird. Schumm versetzt 50 bis 100 ccm Harn mit $^1/_{10}$ Vol. Zinkacetatlösung von 3%, erhitzt beinahe zum Sieden (auf 70—80°), filtriert den Niederschlag ab, löst ihn auf dem Filter in 4—5 ccm Ammoniak, setzt einige Tropfen Stokesscher Lösung (je 1 Teil Weinsäure und Ferrosulfat, 10 Teile Wasser) zu und spektroskopiert die mit einigen Kubikzentimetern Petroleumbenzin oder Äther überschichtete Flüssigkeit. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff erscheint das Absorptionsspektrum des Hämochromogens. Die Empfindlichkeitsgrenze ist 1 : 20000.

Ganz besonders hat sich aber die sog. „Essigsäureäthermethode", das Extraktionsverfahren, bewährt, die ziemlich schnell ausführbar ist und die den Vorzug hat, daß sie zuverlässige Resultate auch bei stark gefärbten und bei stark alkalischen, in Zersetzung befindlichen Harnen gibt, bei denen der Blutfarbstoff schon in Hämatin übergegangen und daher durch direkte spektroskopische Besichtigung nicht sicher nachweisbar ist. Dieses Verfahren wurde zuerst von E. Schlesinger und F. Holst zum Nachweise des Blutes mit Hilfe des Benzidinreagens beschrieben und angewendet, wie ich bereits S. 465 mitteilte.

Nach Schumm werden 50 ccm Harn mit 5 ccm Eisessig und 40—50 ccm Äther im Scheidetrichter stark geschüttelt. Nach erfolgter Trennung (etwas Alkohol oder ein neuer Ätherzusatz

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1908. 55. Nr. 28.

wird diese beschleunigen) der beiden Flüssigkeitsschichten läßt man die Harnschicht abfließen, wäscht die im Scheidetrichter verbliebene Ätherlösung ein- bis zweimal mit etwa 5 ccm Wasser aus, entfernt das Wasser und schüttelt den Ätherauszug unter Kühlung (man läßt Wasser darüber laufen) mit mehreren Kubikzentimetern Salmiakgeist etwa $^1/_2$ Minute lang. Man prüft jetzt mit Lackmuspapier. Die Reaktion soll stark alkalisch sein; ist sie es nicht, so setzt man noch so viel Salmiakgeist hinzu, bis nach dem Schütteln die Reaktion stark alkalisch bleibt. Man läßt nun die mehr oder weniger stark gefärbte untere wässerige Schicht, die nunmehr den etwa vorhandenen Blutfarbstoff als Hämatin enthält, neben einem kleinen Teile der Ätherlösung aus dem Rohr des Scheidetrichters in ein am besten planparalleles Glas (im Notfall in ein Reagenzglas) von 2—4 cm Durchmesser fließen, setzt etwa 5—10 Tropfen gesättigtes Schwefelammonium hinzu und untersucht in möglichst dicker Schicht spektroskopisch. Sogleich oder nach einigen Minuten tritt die Absorptionserscheinung des Hämochromogens auf, wenn Blutfarbstoff in nennenswerter Menge vorhanden war. Die Absorptionserscheinung des Hämochromogens in alkalischer Lösung (1 : 100, Schichtdicke 1 cm) ist folgende: Der scharf begrenzte Hauptstreifen mitten zwischen den Fraunhoferschen Linien *D* und *E* von $\mu\mu$ 567—550 reichend, der zweite schwächere und weniger scharf begrenzte Streifen beginnt etwa bei $\mu\mu$ 538; seine dunkelste Partie reicht von 538 bis etwa 510. Der Hauptstreifen ist auch unter ungünstigen Verhältnissen seiner günstigen Lage wegen leicht zu erkennen. Dieser genügt auch zur Identifizierung des Hämochromogenspektrums.

Zu beachten ist, daß die Absorptionserscheinung des durch Reduktion mit Schwefelammonium aus dem Hämatin gebildeten Hämochromogens nicht beständig ist; die Absorptionsstreifen entstehen (je nach der Menge des vorhandenen Blutfarbstoffes schneller oder langsamer) innerhalb einiger Minuten nach Zusatz des Reduktionsmittels. Die über der wässerigen ammoniakalischen Flüssigkeit stehende Ätherschicht ist notwendig, um eine schnelle Reoxydation des gebildeten Hämochromogens durch den Sauerstoff der Luft zu verhindern.

Eine quantitative Bestimmung des Blutfarbstoffes ist auf colorimetrischem Wege und mit Hilfe des Spektrophotometers versucht worden. Nach keiner Richtung ist zurzeit eine halbwegs sichere Bestimmung möglich.

H. *Hämatoporphyrin.* $C_{16}H_{18}N_2O_3$ (Nencki u. Sieber). $C_{34}H_{38}N_4O_6$ (Zaleski).

Das Hämatoporphyrin, eisenfreies Hämatin (aus Hämin wird unter Aufnahme von 2 Sauerstoffatomen Eisen abgespalten), das in minimalen Spuren im normalen Harne, besonders im sog. Nachtharne oder im Harne nach Genuß von chlorophyllreichem Gemüse oder blutreichem Fleische vorkommt oder vorkommen soll (A. E. Garrod und Saillet), wurde im Harne bei verschiedenen Krankheiten (Rheumatismus, Addisonscher Krankheit, Lebercirrhose, Leberkrebs, bei paroxysmaler Hämoglobinurie nach Bleivergiftungen) aufgefunden; besonders charakteristisch ist das gelegentliche Auftreten desselben nach längerem Sulfonalgebrauch, bei chronischer Sulfonalvergiftung (Salkowski); auch nach Trional-, Tetronalgebrauch kann im Harne Hämatoporphyrin vorhanden sein.

In hohem Maße tritt die Hämatoporphyrinurie fast stets bei Bleivergiftung auf, so daß diese Tatsache von wertvoller diagnostischer Bedeutung für die Bleikolik ist.

Der Harn zeigt meist — aber nicht immer — eine dunkle weinrote, kirsch- oder blaurote, auch fast schwarze, in dünnen Schichten gelbrote bis violette Färbung, die nach Ammoniakzusatz gelb wird. Der Harn ist meist stets stark sauer. An der Wäsche (am Hemde) entstehen braune Flecken mit violett schimmernden Rändern.

Die Annahme älterer Forscher (River und Zola, Saillet), daß im Harne neben dem Hämatoporphyrin noch eine Vorstufe des Farbstoffes, ein Chromo-

gen desselben, vorkommen könne, ließ sich nach O. Schumm[1]) auf spektroskopischem Wege bestätigen. Die Umwandlung des Hämatoporphyrinogens in Hämatoporphyrin erfolgt unter dem Einflusse des Lichtes allmählich, durch Permanganat augenblicklich.

Darstellung und Nachweis.

Um den Farbstoff zu eliminieren, werden nach E. Salkowski[2]) 20 bis 25 ccm Harn mit einer aus gleichen Teilen kaltgesättigter Ätzbarytlösung und Chlorbariumlösung (1 : 10) bestehenden Mischung gefällt; der Niederschlag wird gesammelt, mit Wasser und dann einmal mit Alkohol gewaschen.

O. Hammarsten nimmt zur Fällung Bariumacetatlösung.

Oder man versetzt den Harn (bei pathologischem 150—350 ccm, bei normalem 1 Liter) mit dem fünften Teile seines Volumens mit 10%iger Natronlauge und wäscht den Phosphatniederschlag ebenso aus (Garrod). Aus den auf die eine oder auf die andere Weise erhaltenen, gut ausgewaschenen Niederschlägen — man spritzt den Niederschlag wiederholt vom Filter, verteilt ihn in Wasser und bringt ihn dann wieder aufs Filter — zieht man durch wiederholtes Aufgießen eines erwärmten Gemisches von 10 Teilen absoluten Alkohols mit 6—8 Tropfen Salzsäure oder Schwefelsäure das Hämatoporphyrin aus, oder man vermischt den gefällten, getrockneten und verriebenen Niederschlag mit einigen Tropfen Salzsäure und Alkohol, läßt einige Zeit stehen, erwärmt auf dem Wasserbade und filtriert die rotviolette Lösung.

Bei geringem Gehalte des Harnes an Hämatoporphyrin fällt man größere Mengen Harn mit Bleiessig und verfährt mit dem Bleiniederschlage, wie angegeben (Behandeln mit salzsäurehaltigem Alkohol). Das gefärbte Filtrat wird nach dem Neutralisieren mit Ammoniak mit Baryt und Chlorbariumlösung gefällt; es wird weiter, wie angegeben, verfahren. Hiebei kann das immer vorhandene Urobilin entfernt werden, dieses bleibt um so vollständiger in der Lösung zurück, je verdünnter diese ist.

Man hat bei der Darstellung, besonders bei der zuletzt erwähnten Methode, darauf zu achten, daß der Alkoholauszug nicht mehr als einige Kubikzentimeter (bei reichlicher Anwesenheit von Hämatoporphyrin 10 ccm) beträgt; alkalisch gewordener Harn (durch ammoniakalische Gärung) muß zum Lösen der Phosphate erst angesäuert werden.

Wenn man den alkoholischen Auszug mit Chloroform mischt und nach Zugabe einer größeren Wassermenge gelinde umschüttelt, so enthält die Chloroformschicht oft reines Hämatoporphyrin, während in der oberen Schicht die anderen Farbstoffe Urobilin neben wenig Hämatoporphyrin enthalten sind (Hammarsten). Auf diese Weise trennt man das Hämatoporphyrin vom Urobilin.

Nachweis.

1. Die saure Lösung, wie angegeben gewonnen, wird in einem Reagenzglase mittlerer Breite oder in vierkantigen Gefäßen (S. 470) im Spektralapparate geprüft; es zeigt sich (Spektraltafel) ein Streifen vor *D* und ein zweiter breiter Streifen zwischen *D* und *E* — das saure

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1913, **60.** 1853.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. **15.** 286.

Spektrum; man macht dann die Lösung durch Ammoniakzusatz alkalisch; hiebei 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. — Das alkalische vierbandige Spektrum. — (Spektraltafel.)

2. Beim Behandeln der ammoniakalischen Lösung mit Alaunlösung oder mit Calciumchlorid-, auch Natriumphosphatlösung, wird der Farbstoff als roter Niederschlag abgeschieden, aus dem durch sauren Alkohol das Pigment gelöst wird.

Man kann den Harn auch direkt spektroskopisch beobachten, doch ist die Prüfung des isolierten Farbstoffes sicherer. Sind die Streifen breit und verschwommen zu sehen, dann betrachte man nötigenfalls nach dem Verdünnen in einem engeren Reagenzglase; zeigen sich die Streifen recht zart und undeutlich, dann benütze man die breiten vierkantigen Gefäße (Hämatinometer).

Zum Unterschiede des sehr ähnlichen Spektrums des Oxyhämoglobins verschwindet auf Zusatz von Natronlauge das des Oxyhämoglobins; das des Hämatoporphyrins wird nicht verändert. Auf Zusatz von konz. Salzsäure (10 Tropfen zu 10 ccm Harn) verschwindet wieder das Spektrum des Oxyhämoglobins, während auf Zusatz von Salzsäure zu dem Hämatoporphyrinharne das metallische Spektrum durch das charakteristische Spektrum des sauren Häm toporphyrins ersetzt wird; durch Zusatz von Kalilauge kann das vierbändige alkalische Spektrum des Hämatoporphyrins sehr deutlich sichtbar gemacht werden. Zusatz von Essigsäure läßt das Oxyhämoglobinspektrum verschwinden, während das metallische Hämatoporphyrinspektrum unbeeinflußt bleibt. Beim Kochen verändert sich das Spektrum nicht, wohl das des Oxyhämoglobins bzw. seiner Lösung (V. Arnold).

3. Man säuert 100 ccm Harn mit 5 ccm Eisessig an; nach zweitägigem Stehen scheidet sich Hämatoporphyrin als Niederschlag aus (Nebeltau).

Nach der Bekanntmachung des Reichsarbeitsministers[1]) über die Dienstanweisung für die ärztliche Untersuchung von Bleiarbeitern ist auch die Untersuchung des Harnes auf Hämatoporphyrin vorgeschrieben, die nach dem Verfahren von Garrod in folgender Weise vorgenommen werden soll.

Zu 500 ccm Harn (einschl. des Morgenharnes) sind 100 ccm 10 v. H. Natronlauge zuzusetzen. Fallen die Phosphate rötlich bis rotviolett zu Boden, so ist Hämatoporphyrin mit großer Wahrscheinlichkeit reichlich vorhanden, vorausgesetzt, daß die Guajacblutprobe negativ ausfällt. Die Phosphate läßt man dann in einem hohen Cylinder sich vollständig absetzen, gießt den klaren Harn ab, füllt mit Wasser auf und läßt nochmals zur Entfernung des Alkalis absetzen. Das Sediment wird auf Filtrierpapier filtriert und möglichst getrocknet (es ist hiezu mindestens einen halben Tag lang bei Zimmertemperatur zu halten); hierauf wird es in einer Reibschale mit 5 v. H. Salzsäure enthaltendem, absolutem Alkohol allmählich gelöst, einige Stunden stehen gelassen und alsdann durch ein Fließpapierfilter filtriert; das Filter wird mit salzsaurem Alkohol solange ausgewaschen, bis das Filtrat 10 ccm an Menge beträgt.

Das klare Filtrat ist sodann im Spektroskop zu untersuchen, z. B. im geradsichtigen Taschenspektroskop; sind Absorptionsstreifen im Orange und besonders im Grün sichtbar, so ist Hämatoporphyrin vorhanden. Es ist hierauf mit 2 v. H. Salzsäure enthaltendem Alkohol zu verdünnen, bis die Streifen im Spektroskop verschwinden. Die zur Verdünnung erforderlich gewesene Menge hat man zu vermerken. Ist der Streifen im Grün noch bei Verdünnungen von 1 : mehr als 50 (d. h. 10 ccm ursprüngliches Filtrat + 40 ccm salzsaurem Alkohol) sichtbar geblieben, so ist Bleiwirkung anzunehmen. Die Spektroskopie soll immer in derselben mindestens 5 cm langen Glaskammer vorgenommen werden.

Bestimmung.

Eine annähernd richtige quantitative Bestimmung kann durch Vergleich des sauren alkoholischen Auszuges mit einer Lösung, die eine bestimmte Menge Hämatoporphyrin in saurem Alkohol gelöst enthält, vorgenommen werden.

[1]) Reichsgesetzblatt 1920. S. 120.

Eigenschaften.

Das Hämatoporphyrin, eine Säure, isomer mit dem Bilirubin, ist eisenfrei und bildet braunrote, amorphe Flocken, die sich fast nicht in Wasser, in Äther, Benzol und in Chloroform, leichter in saurem Amylalkohol und Essigäther, leicht in Alkohol, in ätzenden und kohlensauren Alkalien und in verdünnten Säuren lösen. Vom Hämoglobin unterscheidet es sich, daß seine Lösung in Essigsäure mit Guajac-Harztinktur und Terpentinöl keine blaue Färbung gibt. Die Hellersche Probe auf Blutfarbstoff tritt mit hämatoporphyrinhaltigem Harne ein; doch gibt solcher zum weiteren Unterschied vom Hämoglobin keine Eiweißreaktionen, wenn nicht außerdem Eiweiß vorhanden ist. Hammarsten konnte aus mehreren Harnen geisteskranker Frauen nach anhaltendem Sulfonalgebrauch 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 Reduktion entsteht aus dem Hämatoporphyrin das Mesoporphyrin, durch energische Reduktion das Hämopyrrol, wahrscheinlich Methylpropylpyrrol; von W. Küster[1]) ist das Hämopyrrol nunmehr als ein Dimethyläthylpyrrol erkannt worden; durch Oxydation mit Bichromat und Eisessig entstehen Hämatinsäuren (Küster).[2]) 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 kleine, braune, doppeltbrechende Krystalle ($C_{16}H_{17}NaN_2O_3 + H_2O$), in Wasser leichter löslich, als das Chlorid. Mit essigsauren Salzen der Schwermetalle werden unlösliche, amorphe, rote oder braune Niederschläge erhalten. Hämatoporphyrin zeigt in saurer und alkalischer Lösung das schon erwähnte charakteristische Spektrum; versetzt man eine ammoniakalisch gemachte Hämatoporphyrinlösung mit etwas Chlorzinklösung, so verschwindet das alkalische Spektrum, an seine Stelle tritt das „metallische" Spektrum, ähnlich dem des Sauerstoff-Hämoglobins. Das Hämatoporphyrin und seine Verbindungen sind sehr leicht veränderlich.

O. Schumm[3]) bringt Beiträge zur Kenntnis der Hämatoporphyrica congenita und der natürlichen Porphyrine, H. Fischer[4]) über Urinporphyrin und Kotporphyrin.

I. *Urorubrohämatin und Urofuscohämatin*

sind von Baumstark im Harne eines Leprakranken aufgefunden worden; der Harn war tief dunkelrot und wurde allmählich braun, zuletzt fast schwarz; der rote Harn zeigt das Oxyhämoglobinspektrum; überhaupt scheinen die beiden Farbstoffe mit dem Blutfarbstoff in irgendeinem Verhältnis zu stehen, Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und aus dem Hämatin durch Aufnahme von Wasser entstanden zu sein.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **55.** 505.
[2]) Die umfangreiche Literatur der vortrefflichen Arbeiten kann hier nicht aufgeführt werden.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1916. **98.** 123.
[4]) Ebenda. 1916. **97.** 109. 148.

Kurzer Gang zum Nachweis von Blut im Harne und Wahl der Methode.

1. Man läßt eine größere Menge Harn, dessen Reaktion man sogleich bestimmt, in einem cylinderförmigen Glase mehrere Stunden stehen, gießt die klare Flüssigkeit ab und untersucht den etwa vorhandenen Bodensatz, den man seiner Menge und seinem Aussehen nach erst makroskopisch genau betrachtet, mit dem Mikroskope auf die Anwesenheit von Blutkörperchen, Blutcylindern, Epithelien (ob Nieren, Blasenepithelien), krystallinischen Salzen, Kalkoxalat; letzteres könnte auf das Vorhandensein von Steinen hinweisen. Durch eine mikroskopische Prüfung erfährt man, ob Hämaturie oder Hämoglobinurie vorliegt.

2. Man stellt weiter als Vorprobe die Hellersche Probe (Nr. 2), dann die einfach, leicht und schnell ausführbare Guajacprobe, die Probe mit dem Ätherextrakt, die Benzidinprobe, die Teichmannsche Häminprobe an.

3. Es erfolgt dann die spektroskopische Prüfung, besonders wenn die vorerwähnten Proben keine positiven Resultate gaben und der Befund auf eine Hämoglobinurie hinweist.

Für eine exakte Blutprobe bei der Hämaturie stellt man, wie S. 465 beschrieben, einen Ätherextrakt her; davon prüft man einige Kubikzentimeter mit dem Guajac- und Benzidinreagens, die Hauptmenge verwendet man nach Ammoniakzusatz usw. zur spektroskopischen Prüfung (S. 474). Mit diesem kombinierten Verfahren lassen sich sehr kleine Blutmengen nachweisen.

4. Man hat gewöhnlich auch noch eine Eiweißbestimmung vorzunehmen, um sagen zu können, ob der Gehalt an Eiweiß dem Blutgehalte entsprechen könnte. Dies ist in gewissen Fällen (Ort der Blutung und dergl.) von wesentlicher Bedeutung.

36. Die Harnfarbstoffe.

Daß der normale mehr oder weniger gelb gefärbte Harn mehr als einen Farbstoff enthält, ist wohl besonders auf Grund der spektrophotometrischen Untersuchungen von K. Vierordt als sicher anzunehmen, wenn auch diese Farbstoffe noch nicht alle eliminiert und charakterisiert oder gar bestimmt werden konnten. Außer den fertigen Farbstoffen (den präformierten) enthält der Harn noch eine Reihe sogenannter Chromogene, Farbstoffbildner, die erst bei der Einwirkung der Luft, durch Oxydation, Farbstoffe erzeugen. Die Harnfarbstoffe entstehen aus Umwandlungsprodukten des Blutes.

Am zweckmäßigsten wird man die Farbstoffe einteilen in solche, die im normalen Harne (in vermehrter Menge dann in pathologischen Harnen), in solche, die ausschließlich im pathologischen Harne vorkommen und in solche, die durch verschiedene Stoffe, Arzneien, gebildet werden.

I. Im normalen Harne vorkommende Farbstoffe.

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, durch Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure, wenn auch nicht vollständig, fällen und durch Tierkohle mehr oder weniger vollständig ausfärben.

Im frischen Harne kommen stets vor das Urochrom und in sehr kleinen Mengen das Hämatoporphyrin, häufig das Uroerythrin, auch das Urobilin in gestandenem Harn, aus seinem Chromogen, dem Urobilinogen hervorgegangen.

A. Urochrom.

Als eigentlichen Farbstoff des Harnes hätten wir nach den Untersuchungen von A. E. Garrod[1]) das Urochrom zu betrachten, das die Hauptmenge des Farbstoffes in normalen Harnen ausmacht, dem Harne die gelbe Farbe erteilt und das in dem gefärbten Sedimente neben Uroerythrin stets vorhanden zu sein pflegt.

Nach M. Weiss[2]) besteht das Urochrom im alten Sinne als normaler gelber Harnfarbstoff nicht. An der Harnfarbe sind vielmehr verschiedene endogene und wahrscheinlich auch exogene Farbstoffe und Chromogene beteiligt.

Die normale Harnfarbe entspricht nach Klemperer[3]) einem Gehalte von ungefähr 0,15% Urochrom. J. Browiński und St. Dombrowski fanden im Harne gesunder Menschen 0,5 g für den Tag, J. Marischler fand im Harne 0,168, 0,21—0,31, 0,37—0,86 g. Stark gesteigert war der Gehalt, und zwar von 0,8—1,4 g für den Tag, in einem Falle von Diabetes insipidus. Die angegebenen Werte können nur als annähernde angesehen werden, da wir ja gar kein Verfahren haben, den Farbstoff in erster Linie als reinen Körper und dann auch vollständig aus dem Harne zu gewinnen.

Nach Garrods Ansicht steht das Urochrom in naher Beziehung zum Urobilin und damit zu den Gallenfarbstoffen bzw. dem Hämatin; nach Dombrowski[4]) besteht aber eine solche Beziehung nicht, er ist, wie auch schon früher J. L. W. Thudichum, der Anschauung, daß das Urochrom ein Produkt des Eiweißabbaues ist, ebenso wie die Proteinsäuren. Nach St. Dombrowski gehört das Urochrom zu den Oxyproteinsäuren und stellt die schwefelreichste Verbindung unter diesen dar; der Schwefelgehalt betrug bis 5%; dieser ist im Urochrom teilweise in lockerer Bindung enthalten und wird leicht abgespalten. Aber auch gegen die Reinheit des Urochroms von Dombrowski wurden von H. Liebermann[5]), H. Hohlweg[6]), M. Weiss[7]) Bedenken geäußert. Wahrscheinlich stellt das Urochrom ein unvollständiges Oxydationprodukt des Eiweißes, ein intermediäres, dem Gewebszerfalle entstammendes Stoffwechselprodukt, dar.

Wegen der Zusammensetzung und der Eigenschaften herrschen noch keine übereinstimmenden Meinungen, da nach den verschiedenen Herstellungsverfahren keine einheitlichen Körper gewonnen wurden.

Wir kennen — nach den Herstellern — etwa 5 Urochrome; alle von verschiedener Beschaffenheit.

Nach M. Weiss ist der normale Harnfarbstoff hervorgegangen aus einem Urochromogen, das in seinen Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren

---

[1]) Proced. of the Roy. Soc. 1894. **55.** 394; Journ. of Physiol. 1897. **21.** 190; 1903. **29.** 335.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1922. **133.** 331; **134.** 269. 567.
[3]) Berlin. klin. Wochenschr. 1903. **40.** 314.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **62.** 358.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1907 **52.** 129.
[6]) Biochem. Zeitschr. 1908. **13.** 199.
[7]) Biochem. Zeitschr. 1911. **33.** 333; 1920. **102.** 228; 1921. **112.** 61.

übereinstimmt und nur im pathologischen Harne vorkommen soll. Es wäre anzunehmen, daß unter normalen Verhältnissen als intermediäres Stoffwechselprodukt Urochrom, bei gestörtem Stoffwechsel aber Urochromogen gebildet wird. Dieses Urochromogen, das als Phenylaminderivat betrachtet und das sehr leicht oxydiert wird, ist nach Weiss der eigentliche Träger der Ehrlichschen Diazoreaktion; es werden 2 Urochromogene unterschieden; das Urochrom β gibt die Reaktion ohne weiteres. Das Urochrom α gibt sie erst nach dem Stehen im Brutschranke. Beide Chromogene können durch Oxydation, z. B. mit Kaliumpermanganat in das echte Urochrom übergeführt werden, das keine Diazoreaktion gibt; mit der Überführung des Chromogens β in Urochrom verschwindet die positive Diazoreaktion in Diazoharnen. Die Antoxyproteinsäure von Bondzynski, Dombrowski und Panek ist dann nach Weiss ein Gemisch von dieser Säure und von den genannten Urochromogenen, von denen das eine die Diazoreaktion auslöst.

Siehe die Übersicht von Weiss über den Zusammenhang des echten Urochroms mit den Proteinsäuren S. 245.

Darstellung.

Die Darstellung, bei der nur ein geringer Teil gewonnen wird, beruht darauf, daß durch Ammoniumsulfat, mit dem der Harn gesättigt wird, Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin ausgefällt werden; das Urochrom wird aber zum größten Teil in Lösung gehalten und kann durch absoluten Alkohol (20—30 ccm zu 100 ccm gesättigten Harnes) entzogen werden.

Die alkoholische Lösung wird zur Reinigung in viel Wasser gegossen, mit Ammoniumsulfat gesättigt und die wieder abgeschiedene alkoholische Farbstofflösung mit festem Ammoniumsulfat unter schwachem Erwärmen entwässert, worauf man sie nach Zusatz von etwas Ammoniak (die Lösung muß alkalisch bleiben) auf dem Wasserbade erwärmt und schließlich zur Trockene eindampft. Der Rückstand wird zur Entfernung von Indoxylschwefelsäure mit Essigäther gewaschen, mit absolutem Alkohol behandelt und die alkoholische Lösung in ein gleiches Volumen Äther gegossen. Der amorph ausgefallene Farbstoff wird mit Äther gewaschen, der trockene Filterrückstand mit Chloroform, dann mit absolutem Alkohol behandelt und der zurückgebliebene Farbstoff in Wasser gelöst. (Garrods Verfahren.)

Bestimmung.

Eine annähernd quantitative Bestimmung hat F. Klemperer angegeben, und zwar colorimetrisch unter Verwendung einer Lösung von Echtgelb *G* als Vergleichsflüssigkeit, die derart hergestellt wird, daß 0,001 g in 180 ccm Wasser gelöst werden. Die Farbenstärke dieser Lösung entspricht der einer 0,1 %igen Urochromlösung. Durch entsprechende Verdünnung des Harnes oder der Farbstofflösung und Beobachtung in den gleichen Gefäßen, am besten mit dem Colorimeter, könnte man den Urochromgehalt annähernd bestimmen.

J. Marischler[1]) verfährt unter Zugrundelegen der von J. Browiński und St. Dombrowski[2]) angegebenen Methode in folgender Weise: 200 ccm Harn werden mit 60 g Chlorammonium und nach dem Filtrieren von der ausgeschiedenen Harnsäure mit 5 ccm einer 5%igen Lösung von Jodsäure versetzt; das abgeschiedene Jod wird in einem Scheidetrichter mit Schwefelkohlenstoff ausgezogen und in dieser Lösung mit einer $^1/_{100}$n-Lösung von Natriumthiosulfat titriert, worauf durch Multiplikation der gefundenen Jodmenge mit dem Faktor 0,8452 der Stickstoff des Urochroms und mit diesem auch das Urochrom selbst berechnet wird; reines Urochrom enthielt im Mittel 11,15% Stickstoff, so daß 1 g Jod 7,580 g Urochrom und 0,8452 g Urochromstickstoff entspricht. Browiński und Dombrowski hatten den Harnfarbstoff aus 800—1000 ccm Harn mit Kupferacetat gefällt, nachdem vorher die Harnsäure neben Schwefelsäure und Phosphorsäure durch Fällen mit einer ammoniakalischen Lösung von Barium- und Calciumacetat beseitigt worden war. Der Kupferniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff bei 50° zerlegt und letzterer im Vakuum mit Kohlensäure entfernt. 150—200 ccm der Lösung wurden mit einer 5%igen Lösung von Jodsäure bis zur Blaufärbung von mit Kongorot gefärbten Papierstreifen versetzt und dann mit Schwefelkohlenstoff umgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene, nicht mehr saure Schwefelkohlenstofflösung wurde mit $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung titriert. Reines Urochrom und zwar 0,2049 g entbinden 0,02703 g Jod aus der Jodsäure. Weitere Berechnung wie oben angegeben.

Beurteilung.

Eine halbwegs sichere Bestimmung ist wegen der im Harne vorhandenen anderweitigen Farbstoffe, deren Zusammensetzung und chemische Natur wir gar nicht kennen, natürlich nicht zu erwarten.

Kolorimetrische Bestimmung des Urochromogens und Urochroms nach M. Weiss.

Erforderliche Lösung.

Als Vergleichsfarbe wurde eine Lösung von Echtgelb (Müller, Leipzig) verwendet. 1 g Echtgelb wird in 500 ccm dest. Wassers gelöst. Von dieser dunkelorangerot gefärbten Lösung werden 10 ccm auf 100 ccm und dann wieder 20 ccm auf 800 ccm mit Wasser verdünnt. Diese letzte Lösung zeigt eine hellgelbe Farbe mit grünlichem Stiche, wie sie den Urochromlösungen eigen ist. Die Vergleichslösung enthält demnach 0,1 g Echtgelb auf 20 Liter Wasser. Die in 100 ccm dieser Farbstofflösung enthaltene Farbstoffmenge wurde = 100 gesetzt.

Ausführung der Bestimmung.

Zu 250 ccm Harn werden 20 g fein gepulvertes Ammoniumsulfat zugesetzt; unter häufigem Umrühren mit einem Glasstabe wird der größte Teil des Salzes in Lösung gebracht. Nach etwa $^1/_2$-stündigem Stehen haben sich dem Urochrom beigemengte andere Farbstoffe (Urobilin, Urobilinogen, Hämatoporphyrin, Uroerythrin) abgeschieden. Nun wird mit einer heiß gesättigten Ammoniumsulfatlösung auf 500 ccm aufgefüllt. Nach dem Filtrieren sind früher sehr verschieden gefärbte Harne wohl untereinander vergleichbar geworden. Von diesem Filtrate werden 10 ccm in einem Dubosqschen Kolorimeter mit 10 ccm obiger Echtgelbfärbung verglichen.

Zur Bestimmung des Urochromogens wird eine zweite Probe des Harnes (25 ccm) unter öfterem Umschütteln tropfenweise mit einer 1‰ Permanganatlösung solange versetzt, als noch eine deutliche Zunahme der Gelbfärbung zu sehen ist, erkenntlich an der oberen Grenze der Flüssigkeit; man braucht etwa 20—30 Tropfen; ein Überschuß ist zu vermeiden, da der Harn sonst einen störenden Stich ins Bräunliche erhält. Man kann auch solange die Permanganatlösung hinzugeben, bis die Diazoreaktion nicht mehr eintritt und anzeigt, daß das Urochromogen verschwunden ist. Nach beendigter Oxydation wird ebenso verfahren, wie mit dem ursprünglichen Harne. Die Differenz zwischen dem Urochromgehalt des nicht oxydierten und des oxydierten Harnes ergibt die Menge des Urochromogens. Nach Weiss ist diese Differenz ein direktes Maß für die Ehrlichsche Diazoreaktion.

Beispiel: Bei einer Tagesmenge von 900 ccm Harn habe sich ergeben, daß das Verhältnis von Echtgelblösung zu dem auf das zweifache verdünnten Harnfiltrat = 20 : 22 ist, dann ist dieses Verhältnis zunächst wegen der Verdünnung des Harnes zu verdoppeln auf 40 : 22 und es ergeben sich demnach $\frac{40 \cdot 900}{22} = 1636$ Einheiten Echtgelb.

Eigenschaften.

Das in Wasser und in gewöhnlichem Alkohol leicht lösliche Urochrom oder das Farbstoffgemisch, wie man es bisher gewonnen hat, ist gelb bis braun, amorph. In Äther, Chloroform und Benzol ist es unlöslich, in Essigäther, Amylalkohol, Aceton ist es nur wenig löslich. Seine Lösung zeigt

[1]) Tygodnik lekarski 1909. **4.** 457; Jahresber. Fortschr. d. Tierchem. 1910. **39.** 321.
[2]) Jahresber. Fortschr. d. Tierchem. 1909. **38.** 353.

spektroskopisch weder Absorption noch Fluorescenz. Die wässerige Lösung ist nicht sehr lichtbeständig, leicht zersetzlich. Durch Bleiacetat, Silbernitrat, Mercuriacetat, Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure wird es gefällt. Durch Säuren zersetzt es sich leicht unter Bildung von braunen oder schwarzen Farbstoffen (Uromelanin); mit Aldehyd entsteht ein dem Urobilin ähnlicher fluorescierender Farbstoff. Diese Reaktion wird nach Dombrowski aber durch eine Verunreinigung bedingt; er erhielt mit dem von ihm gewonnenen Urochrom diese Reaktion nicht.

Nach Klemperer enthält das Urochrom 4,2% Stickstoff, nach Dombrowski etwa 11%, nach Hohlweg etwa 10%, nach Dombrowski ungefähr 5% Schwefel, das von Hohlweg-Salomonsen[1]) hergestellt Urochrom ist wieder schwefelfrei.

Die Entstehung brauner oder schwarzer Farbstoffe aus dem Harne durch Einwirkung von Säuren ist schon von Udránszky nachgewiesen worden und findet nun zum Teil ihre Erklärung; sie sind aus dem Urochrom hervorgegangen; ein weiterer Teil dieser Farbstoffe rührt aber, wie der genannte Forscher angegeben hat, auch von der Einwirkung der Säuren auf die Kohlenhydrate unter Bildung von Huminsubstanzen her. Die von Udránszky gewonnenen Huminsubstanzen bildeten spröde, glänzende, schwarzbraune Blättchen, unlöslich in Wasser, in Alkohol, Äther und in Chloroform, leicht löslich in Amylalkohol, in konzentriertem Ammoniak, sehr leicht löslich in Kali- und Natronlauge. (Uromelanin.)

Nach St. Dombrowski[2]) wird das Uromelanin, eine Substanz, die 1,63% Schwefel enthält, aus dem Urochrom durch Säurehydrolyse erhalten, und zwar von konstanter Zusammensetzung; es zeigt eine auffallende Ähnlichkeit in der Zusammensetzung mit dem Proteinochromogen, das von Nencki als Muttersubstanz der schwarzen tierischen Pigmente betrachtet wurde.

B. Uroerythrin (Purpurin).

Mit diesem Namen bezeichnet man den Farbstoff, der die ziegelrote, auch rosafarbene Beschaffenheit der Uratsedimente, des Sedimentum lateritium, des Ziegelmehlsedimentes bedingt; er tritt im Harne, reichlicher nach starkem Genusse von Speisen und besonders von Alkohol, nach starker Muskeltätigkeit, nach starken Schweißen, aber auch im pathologischen Harne bei Digestionsstörungen, bei Rheumatismus, bei Gicht, bei Malaria, bei Influenza, bei Erkrankungen der Leber, bei Fieberkrankheiten auf.

Darstellung.

Man verfährt am besten nach A. E. Garrod[3]) und verwendet das Sediment, da dieses weniger mit Hämatoporphyrin verunreinigt ist.

Das beim Stehen des Harnes abgeschiedene Uratsediment sammelt man auf einem Filter, löst es dann nötigenfalls unter Erwärmen in etwas Wasser

[1]) Biochem. Zeitschr. 1908. **13.** 205.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **54.** 227; 1909. **62.** 358.
[3]) Journ. of Physiolog. 1895. **17.** 439.

und fällt aus der Lösung den Farbstoff durch Chlorammonium aus; das abgeschiedene Uroerythrin wird wiederholt mit Chlorammoniumlösung zur Entfernung des Urobilins ausgewaschen, bis das Filtrat nicht mehr gefärbt ist. Filter und Niederschlag bringt man in warmen Alkohol und digeriert einige Stunden im Dunkeln, filtriert, verdünnt die Alkohollösung mit dem doppelten Volumen Wassers und schüttelt zur Entfernung des Hämatoporphyrins mehrere Male mit Chloroform aus. Nun setzt man der Farbstofflösung einige Tropfen Essigsäure zu und schüttelt abermals mit Chloroform, das das Uroerythrin aufnimmt. Die mit Wasser gewaschene Chloroformlösung läßt man im Dunkeln verdunsten.

Auch durch Schütteln des Harnes mit Amylalkohol wird der Farbstoff leicht gelöst, der Amylalkohol färbt sich orangerot oder rosa.

Nachweis.

1. Ein an diesem Farbstoffe reicher Harn zeigt meist eine auffallende matt orangerote Färbung. Mit Kalkmilch wird der Farbstoff blaugrün.
2. Eine verdünnte alkoholische Lösung des isolierten Farbstoffes, auch die mit Amylalkohol, zeigt ein sehr charakteristisches Spektrum, ein Doppelband zwischen *D* und *E* bis *F* reichend, durch Schatten verbunden; eine konzentrierte Lösung absorbiert das ganze brechbare Ende des Spektrums. Die Lösungen fluorescieren nach Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung nicht, wie Urobilin.

   Kennzeichnend ist, daß die Lösung bei Lichteinwirkung bald verblaßt, und daß auch der Streifen bei *D* und *F* leicht verschwindet.
3. Konzentrierte Schwefelsäure bewirkt (bei dem rein hergestellten Farbstoffe) karminrote, Alkalien (nicht Ammoniak) verursachen eine grüne (zuerst purpurne bis blaue) Färbung.

Eigenschaften.

Das isolierte Uroerythrin ist amorph, rosa (krebsrot) gefärbt, leicht in Amylalkohol und in verdünntem Alkohol, auch in Essigäther, schwer in Wasser löslich, Spuren von Säuren erhöhen die Löslichkeit. Mit Alkalilaugen, auch Kalkmilch, wird es grün, durch konz. Schwefelsäure karminrot gefärbt; dabei wird es zersetzt. Die Lösungen werden im Lichte bald gebleicht — eine besonders auffallende Eigenschaft des Farbstoffes — und zeigen die beim Nachweise angegebenen weiteren Eigenschaften.

Die chemische Natur des Uroerythrins ist noch unbekannt.

C. Urospektrin.

Für den eigentlichen Harnfarbstoff hält Saillet[1]) das Urospektrin. Genaueres ist jedoch über diesen Farbstoff nicht bekannt. Er scheint das Hämatoporphyrin zu sein.

[1]) Rev. de med. 1896. **16.** Nr. 7.

D. Urobilin und Urobilinogen.

Das Urobilin, ein Derivat des Hämoglobins, von M. Jaffé zuerst aus dem Harne dargestellt, ist nach Saillet[1]), L. Grimbert[2]) im eben entleerten normalen und vor Licht geschützten Harne eigentlich nicht vorhanden, sondern entsteht erst unter der Einwirkung des Lichtes und des Luftsauerstoffes (beim Schütteln) aus dem Chromogen, dem Urobilinogen. In pathologischen Fällen kann das Urobilin präformiert vorkommen. Nach H. Strauss und L. Hahn[3]) sind Urobilinogen und Urobilin normale Harnbestandteile. Die gelbe Harnfarbe ist nicht, wie manchmal angenommen wird, durch diesen Farbstoff, sondern durch das Urochrom bedingt. Doch siehe dort. Spuren des gebildeten Urobilins (0,02—0,08 g in der Tagesmenge, nach Serkowski 0,08—0,20 g normales Vorkommen) können im normalen Harne wohl vorhanden sein. Vermehrt ist das Urobilin bei allen Krankheiten, durch die ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlaßt wird, bei denen viel Blut zugrunde geht, bei inneren Blutungen (der Blutfarbstoff wird zunächst in Bilirubin oder Hämatoidin verwandelt und dann als Urobilin ausgeschieden), bei Einwirkung blutzerstörender Gifte, bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen (Typhus, Paratyphus, Fleisch- und Wurstvergiftung), bei Infektionskrankheiten, bei Pyämie, Pneumonie, Skorbut, Malaria, bei Scharlach (im Gegensatze zu Diphtherie), ferner bei vermehrter Darmfäulnis, bei Gallenstauungen, bei Lebererkrankungen, bei Bleikolik, bei Krebs, bei Herzfehlern, bei dem sogenannten Urobilinikterus. Bei Morbus Basedowii kommt Urobilin beinahe immer vor. Nach dem Gebrauche von Antifebrin, Antipyrin, Pyrodin erscheint auch ein Überschuß von Urobilin im Harne. Urobilinhaltige Harne zeigen meist einen Stich ins Bräunlich-rötliche, doch kann nach A. Kirch bei Nierenerkrankungen auch ein lichter Urin reichlich Urobilinogen enthalten. Über die Entstehung und Bildung des Urobilins sind verschiedene Theorien aufgestellt worden, ohne daß mit aller Sicherheit die Frage einer endgültigen Lösung zugeführt worden ist. Jedenfalls ist soviel sicher, daß die Bildung aus dem Blute und aus den Gallenfarbstoffen durch Bakterieneinwirkung auf das Bilirubin im Darme erfolgt; die Leber reguliert die Urobilinausscheidung (F. Müller); hiefür spricht die Tatsache, daß das Urobilin beim Beginne oder beim Ausgange von Ikterus wesentlich vermehrt ist und daß Harn, der ikterisch gefärbt ist und der die sonstigen äußeren Merkmale eines ikterischen Harnes (gelben Schaum usw.) zeigt, nur Urobilin enthalten kann.

Das wichtigste physiologische Abbauprodukt des Blutes ist der in der Leber bereitete Gallenfarbstoff; das Bilirubin der Galle wird im Darme (vorwiegend im Dickdarme) durch einen Reduktionsprozeß infolge des Zusammenwirkens der Darmbakterien mit der Schleimhaut zu Urobilinogen umgewandelt.

[1]) Rev. de med. 1897. **17.** 114.
[2]) Compt. rend. 1911. **152.** 727.
[3]) Zentralbl. inn. Mediz. 1920. **41.** 193.

Ein Teil des im Darme gebildeten Urobilinogens wird mit der Faeces ausgeschieden, ein anderer Teil wird resorbiert, durch den Blutkreislauf der Leber zugeführt, wieder in Bilirubin umgewandelt, gelangt in die Galle und mit dieser in Darm zurück. Ein geringer Teil wird aber auch vom Blute resorbiert, ohne die Leber zu passieren; dieser geht in den Harn über (normale Menge).

Sichergestellt ist, daß die Leber bei der Verarbeitung des Urobilins beteiligt ist, denn nach F. Fischlers[1]), Tefiks und Ibrahims[2]) Versuchen ist die Urobilinurie die Folge einer gewissen Insuffizienz der Lebertätigkeit, die sich darin äußert, daß sie den normalen Urobilinstrom vom Darm aus nicht mehr bewältigen kann oder bei schwerer Erkrankung sogar das ihr normal zuströmende Bildungsmaterial der Galle nicht mehr richtig verarbeitet. Nach W. Hildebrandt kommt Urobilinurie bei gesunder Leber zustande infolge erhöhten Blutzerfalls (relative Insuffizienz der Leber); bei nicht erhöhtem Blutzerfalle läßt Urobilinurie stets auf eine Erkrankung des Leberparenchyms oder auf lokale Gallenstauung schließen (absolute Insuffizienz der Leber).

Diese sog. intestinale Theorie (Verwandlung des Bilirubins der Galle im Darme durch die Bakterien zu Urobilin, enterogener Entstehungsmodus) hat wohl die größte Wahrscheinlichkeit für ihre Richtigkeit für sich. Die nephrogene, nach der die Nieren die Fähigkeit besitzen sollen, durch die Blutbahn zu den Nieren gelangende Farbstoffe (Gallenfarbstoff) in Urobilin überzuführen, die histogene Theorie, nach der das Bilirubin in den Geweben als Schutzmaßregel gegen eine Giftwirkung in Urobilin umgewandelt wird, erscheinen wenig begründet. Für die Richtigkeit der hepatogenen Theorie, nach der die normale Leberzelle Bilirubin, die kranke Urobilin erzeugen soll, ergab sich noch kein ganz einwandfreier Beweis. Nach der hämatogenen Theorie hat die Leberzelle mit der Urobilinbildung nichts zu tun. Die Bildung soll von der Zerstörung der roten Blutkörperchen (Erythrocytolyse) abhängig sein; man begründete diese Theorie damit, daß man in hämorrhagischen Ergüssen Bilirubin findet. Hildebrandt leugnet eine hepatogene, wie hämatogene Entstehung des Urobilins. O. v. Fürth (a. a. O.) hält die Urobilinurie, die nach toxischem Blutkörperchenzerfalle oft zur Beobachtung gelangt, wie den zugehörigen Ikterus im allgemeinen nicht für „hämatogen". Der Vorgang ist vielmehr einfach der, daß aus den zerfallenden Erythrocyten viel Gallenfarbstoff in der Leber bereitet wird und dieser nun seinerseits den Darmbakterien reichliches Material zur Urobilinbereitung liefert.

Th. Brugsch und K. Retzlaff[3]) weisen darauf hin, daß in der Urobilinurie der klinische Ausdruck für die Ausscheidung einer Reihe Körper, die zum Blutfarbstoffe, wie zum Gallenfarbstoffe Beziehung haben, zu erblicken ist. Die Urobilinurie hat ihre Ursache in der Regel in einer Leberinsuffizienz.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **48.** 419.
[2]) Zeitschr. Urolog. 1909. **3.** 703.
[3]) Zeitschr. exp. Patholog. Therap. 1912. **11.** 508.

Voraussetzung für die Möglichkeit der Urobilinurie ist das Hereingelangen von Gallenfarbstoffen in den Darm, Reduktion dieser zu Urobilinogen, Resorption, Prozesse, wie sie in einem bei Lebererkrankungen häufig geschaffenen Bakterienmilieu des Darmes begünstigt werden. Die hepatische Insuffizienz äußert sich in einer Unfähigkeit, das zugeführte Urobilin in Gallenfarbstoff zu verwandeln, so daß es in das Blut passieren kann. Von dem ins Blut gelangten Urobilin wird ein Teil durch die Niere ausgeschieden.

Das Vorkommen größerer oder geringerer Urobilinmengen im Harne ist von wesentlicher diagnostischer Bedeutung, es zeigt uns starke Darmfäulnis und einen stärkeren Zerfall von Blutkörperchen an, es kann keine Blutung irgendwie im Organismus gewesen sein, wenn es kein Urobilin im Harne gibt. Jedenfalls muß bei einer Harnuntersuchung auch an die Prüfung auf Urobilin gedacht werden; man bestimmt dann zweckmäßig die Menge annähernd. Denn nach Hildebrandt sind Lebererkrankungen in unserem Klima häufig; die Leber wird bei Infektionskrankheiten, Kreislaufstörungen usw. weit häufiger in Mitleidenschaft gezogen, als beispielsweise die Nieren. Urobilinurie kommt häufiger vor, wie Albuminurie; eine rechtzeitige Untersuchung des Harnes wird uns auch feine Veränderungen im Leberparenchym, also Anfangsstadien, erkennen lassen, die bei dem Unterlassen der Prüfung des Harnes auf Urobilin außerdem übersehen werden können. Auch F. A. Steensma bemerkt, Urobilinurie ist analog der Albuminurie; wie letztere den Verdacht auf die Nieren lenkt, so legt Urobilinurie die Möglichkeit einer Leberaffektion nahe, denn eine wichtige Leberfunktion besteht in der Umwandlung des Urobilins; bei der Urobilinurie ist diese gestört.

Darstellung und quantitative Bestimmung.

1. Man gewinnt das Urobilin aus dem Harne gewöhnlich nach dem von Méhu und Hoppe-Seyler[1]) angegebenen Verfahren.

100—500 ccm Harn werden je nach der Menge des vorhandenen Urobilins mit 0,2—1 g Schwefelsäure angesäuert und mit Ammoniumsulfat (auf 100 ccm Harn 80 g) gesättigt; es wird nach mehrstündigem Stehen filtriert, das auf einem Filter (Asbestfilter) gesammelte, in roten Flocken abgeschiedene Urobilin mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und dann zweimal mit einer aus gleichen Teilen Alkohol und Chloroform hergestellten Mischung extrahiert. Die in einen Scheidetrichter durch ein Asbestfilterchen filtrierte Farbstofflösung wird mit dem doppelten Volumen Wassers geschüttelt und gewaschen, das klar abgesetzte und aus dem Scheidetrichter abgelassene Chloroform nochmals mit Wasser im Scheidetrichter behandelt und die filtrierte Chloroformfarbstofflösung vorsichtig verdunstet. Die konzentrierte Chloroformlösung fällt man mit Äther, sammelt das ausgeschiedene Urobilin auf einem Asbestfilterchen, löst den Farbstoff wieder in Chloroform und verdunstet in einem vorher gewogenen Glasschälchen oder Kölbchen bei mäßiger Wärme — am besten aber bei gewöhnlicher Temperatur — das Chloroform,

[1]) Virchows Archiv 1891. **124.** 34.

worauf man nach mehrstündigem Stehen des Schälchens über Schwefelsäure im Exsiccator den Farbstoff wägt.

Beurteilung.

Nach Versuchen von F. Müller und Huppert unterläßt man besser das Ansäuern mit Schwefelsäure, um nicht das Urochrom zu zersetzen; weiter entfernt man zweckmäßig zuerst die Harnsäure, das Hämatoporphyrin, sowie Gallenfarbstoffe ähnlich der Huppertschen Probe beim Gallenfarbstoffnachweise.

Der Harn (100—200 ccm) wird mit alkalischer Chlorbariumlösung (auf 100 Teile Harn 30 Teile einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Bariumchloridlösung und 2 Vol. gesättigten Barytwassers) versetzt, filtriert, zum Filtrate konzentrierte Natriumsulfatlösung zur Entfernung des im Überschusse vorhandenen Baryts zugesetzt, mit Schwefelsäure nahezu neutralisiert und das Filtrat mit Ammoniumsulfat gesättigt. Der abfiltrierte, mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung einmal behandelte Farbstoffniederschlag wird auf dem lufttrockenen Filter nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit einer Mischung von 1 Teil Äther und 2 Teilen Alkohol in der Wärme ausgezogen, die Lösung im Scheidetrichter mit Chloroform und dann mit dem doppelten Volumen Wassers geschüttelt und die Lösung des Urobilins im Chloroform nach dem Absetzen abgelassen. Dieser Lösung, die noch 1—2mal mit Wasser zu waschen ist, wird das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser (ja nicht zu viel Ammoniak) entzogen, wobei auch eine Trennung vom Indigorot erzielt wird, und aus der ammoniakalischen Lösung das Ammoniak vorsichtig verdunstet. Aus der ammoniakalischen Lösung kann das Urobilin durch Zusatz von Säure gefällt und der gefällte Farbstoff in Chloroform gelöst werden. Dieses wird verdunstet. Zu bemerken ist noch, daß das Urobilinogen hiebei ebenfalls gefällt wird; auch sind Verluste an Farbstoff, der besonders im Filtrierpapier — ich nehme deshalb Asbestfilter, den Goochschen Tiegel — zurückgehalten wird, nicht zu vermeiden.

2. Darstellung nach M. Jaffé.[1])

Der mit Ammoniak schwach alkalisch gemachte Harn wird vom entstandenen Niederschlage abfiltriert und zum Filtrate eine konzentrierte alkoholische oder wässerige Chlorzinklösung zugesetzt. 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; diese Lösung wird mit Bleizucker ausgefällt. Den Niederschlag filtriert man ab, wäscht ihn vorsichtig 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 mit viel Wasser kräftig geschüttelt, die Chloroformlösung mit wenig Wasser gewaschen (es geht leicht Farbstoff ins Wasser!) und das Chloroform abdestilliert. Der Rückstand wird mit Äther gereinigt, der eine Menge fremder Stoffe aufnimmt und Urobilin hinterläßt.

Urobilinarme Harne werden nach Jaffé mit Bleiessig gefällt; der abfiltrierte, ausgewaschene und getrocknete Niederschlag wird mit schwefelsäurehaltigem Alkohol ausgekocht, worauf man die Lösung mit Ammoniak übersättigt und mit Chlorzink versetzt; weitere Behandlung, wie vorstehend angegeben.

Beurteilung.

Man erhält mit diesem Verfahren reine Präparate, erleidet aber Verluste an Farbstoff.

3. Um das fertig gebildete Urobilin neben dem Urobilinogen nachzuweisen, bedient man sich des von Saillet angegebenen Verfahrens.

[1]) Virchows Archiv 1869. 47. 405.

100 ccm des frischgelassenen, im Dunkeln verwahrten Harnes werden mit 10 Tropfen Eisesig versetzt und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt; den abgelassenen Essigäther verwendet man zum Ausschütteln neuer Harnanteile, indem man das fehlende Volumen an Essigäther neu dazugibt. Der Essigäther wird mit wenig Wasser geschüttelt, das vorhandenes Urobilin aufnimmt und sich braun färbt; das Urobilinogen wird durch Stehenlassen der Essigätherlösung im Sonnenlichte in Urobilin übergeführt und diese Lösung ebenfalls wiederholt mit Wasser nach Zusatz von etwas Essigsäure ausgeschüttelt. Das Urobilin kann man durch Chloroform extrahieren oder durch Ammoniumsulfat, wie angegeben, ausfällen.

Beurteilung.

Der Harn darf kein Eiweiß enthalten; beim Ausschütteln des Harnes mit Essigäther hat man unter Ausschluß des Sonnenlichtes zu arbeiten.

4. Nach L. Grimbert[1]) kann man das Urobilin von seinem Chromogen in der Weise trennen, daß man die Chloroformlösung der Farbstoffe mit einer gegen Phenolphthalein neutralen Dinatriumphosphatlösung schüttelt; es wird von letzterer nur freies Urobilin aufgenommen; durch stark verdünnte Natronlauge oder durch eine mit einigen Tropfen einer 10%igen Natronlauge versetzten Dinatriumphosphatlösung wird das Urobilinogen von der wässerigen Flüssigkeit aufgenommen, die nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure dieses wieder an das Chloroform abgibt.

5. Darstellung und quantitative Bestimmung des Urobilins und Urobilinogens nach D. Charnas[2]) und O. v. Fürth.[3])

Prinzip.

Der urobilinhaltige Harn wird vergoren, angesäuert und ausgeäthert, die Urobilinogenlösung (durch das Vergären entsteht aus Urobilin Urobilinogen), wenn nötig, durch Petroläther von beigemengtem Farbstoff befreit, durch Belichtung in Urobilin übergeführt und dieses nach weiterer Reinigung durch Aussalzen zur Wägung gebracht.

Ausführung.

500 oder 1000 ccm des urobilinhaltigen, frischen, mit keinem konservierenden Zusatze versehenen Harnes werden bis zum Eintritt alkalischer Reaktion mit Ammoniumcarbonatlösung versetzt und 1—2 Tage lang im Brutofen belassen. Nunmehr wird der Harn in einem sehr geräumigen, offenen Gefäße durch Zusatz einer gesättigten Weinsäurelösung stark sauer gemacht (Vorsicht, Aufschäumen!), ein etwa ausfallender Niederschlag schnell abgesaugt und die Flüssigkeit mit dem $1^1/_2$—2fachen Volumen Äther ausgeschüttelt. Die Ätherschicht wird wiederholt mit einem kleinen Volumen Wassers gewaschen. (Wegen der großen Zersetzlichkeit des Urobilinogens sind die einzelnen Operationen schnell durchzuführen, unnötiges Schütteln ist zu vermeiden, Waschwasser und Weinsäurelösung sollen frisch ausgekocht verwendet werden, die Arbeit ist am besten bei künstlicher Beleuchtung durchzuführen.) Sollte der Äther stark gefärbt erscheinen (Blutgehalt des

[1]) Compt. rend. 1911. **152.** 727; Chem. Centralbl. 1911. **82.** I. 1327.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1908. **20.** 401.
[3]) Zeitschr. angew. Chemie. 1909. **22.** 1931.

Harnes), so wird das gleiche Volumen Petroläther hinzugefügt und der sich abscheidende Farbstoff durch wenig Wasser entfernt. In der nunmehr nahezu farblosen ätherischen Urobilinogenlösung kann das Urobilin spektrophotometrisch oder gewichtsanalytisch bestimmt werden. Ich will nur das letztere Verfahren erwähnen, da dies allgemein vorgenommen werden kann und mir noch genauer erscheint.

Man bringt die ätherische Urobilinogenlösung im Scheidetrichter etwa mit dem gleichen Volumen reinen Wassers zusammen und läßt nun im direkten Sonnenlichte einen Tag lang stehen. Erfahrungsgemäß ist in allen Fällen nach einem Tage im Sonnenlichte alles Urobilinogen in Urobilin umgewandelt, das beim Schütteln von Wasser leicht aufgenommen wird (längeres Stehen an der Sonne führt zur Entfärbung des Urobilins). Die wässerige Urobilinlösung wird filtriert, mit reinstem Ammoniumsulfat in Substanz gesättigt, der Niederschlag auf einem dichten Filter (Schleicher und Schüll hart Nr. 602) gesammelt, lufttrocken mit möglichst wenig absolutem Alkohol extrahiert, die filtrierte alkoholische Lösung in einem gewogenen Schälchen über Phosphorpentoxyd im Vakuum bei Zimmertemperatur getrocknet und der trockene Urobilinrückstand zur Wägung gebracht.

Beurteilung.

Man soll gute Resultate erhalten.

Th. Brugsch und K. Retzlaff (a. a. O.) verfahren ähnlich und ziehen den Harn statt mit Äther mit Ligroin aus, bis die Ehrlichsche Reaktion negativ wird. Die ätherische Lösung wird zur spektrophotometrischen oder chromophotometrischen Untersuchung verwendet (2 ccm Lösung + 0,2 ccm einer kaltgesättigten, ätherischen Dimethyl-p-amidobenzaldehydlösung und 3 Tropfen mit Salzsäure gesättigten, absoluten Alkohols).

Nachweis von Urobilinogen.

1. Mit der Ehrlichschen Aldehydreaktion.

Nach Ehrlich färbt sich der Harn bei Anwesenheit von Urobilinogen mit einer Lösung von Dimethylparaminobenzaldehyd (2%ige Lösung in 20%iger Salzsäure, nach anderer Angabe in Normalsalzsäure) leichter oder stärker rot. (Pyrrolreaktion.)

Erhitzt man die Lösung des Urobilinogens in Chloroform mit dem Ehrlichschen Reagens unter Zusatz von Alkohol, so entsteht ebenfalls eine purpurrote Färbung. Im Spektrum bemerkt man Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*.

D. Charnas verfährt, um die oxydierende Nebenwirkung der Salzsäure auszuschalten, in folgender Weise: 10—20 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit Weinsäure mit 20—30 ccm reinem Äther kräftig geschüttelt. Die mit Wasser nachgewaschene Ätherlösung wird mit einer kleinen Messerspitze Dimethylparamidobenzaldehyd versetzt. Dann werden etwa 5 Tropfen einer rauchenden Salzsäure hinzugegeben oder noch besser eines mit Salzsäuregas gesättigten, absoluten Alkohols, der aber nur etwa 2 Wochen haltbar ist. Nach Zusatz von wenig Wasser entsteht eine prachtvolle, reine, violette Lösung, deren Spektrum einen breiten Streifen zwischen *D* und *E* zeigt.

2. Die eigelbe Diazoreaktion des Harnes (Ehrlich).

Der Harn wird mit einer sauren Lösung von Sulfodiazobenzol versetzt, wodurch eine intensive Orangefärbung eintritt, die nach Zusatz von Ammoniak in Citronengelb umschlägt.

Nur im ganz frischen Harne ist der Nachweis möglich, da Urobilinogen im Lichte sehr schnell in Urobilin übergeht.

Die Ehrlichsche Aldehydreaktion und ihre Bedeutung im Harne besprechen Berghausen[1]), Jonass[2]), H. Scholz[3]), F. Schilling[4]).

Nachweis des Urobilins.

Das Urobilin läßt sich nur an seinem spektroskopischen Verhalten und durch die Fluorescenzprobe erkennen; an Urobilin reicher Harn zeigt dunkle, rote, braunrote Färbung. Harn mit geringerem Urobilingehalte besitzt neben der gewöhnlichen Harnfarbe einen Stich ins Bräunlich-rötliche. Solchen Harn prüft man auch auf die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin.

1. Man untersucht den filtrierten, nötigenfalls verdünnten (man verdünnt den Harn, wenn der Absorptionsstreifen infolge der Lichtabsorption undeutlich ist) sauren Harn nach Zusatz von etwas Schwefelsäure 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 (mit Kalilauge), so wird das Absorptionsband wieder schärfer begrenzt und rückt mehr nach Grün nach der Linie *E* zu (Spektraltafel).

   Normale Harne geben keine Absorptionsspektra, dagegen solche bei Fieber, bei Leberstörungen, nach Einnehmen von Antifebrin.

Zu berücksichtigen ist, daß Harne manchmal erst nach längerem Stehen und auf Säurezusatz die Absorptionsstreifen erkennen lassen. Deswegen säuert man an; Harne, die noch andere Farbstoffe in reichlicherer Menge enthalten, können nicht direkt verwendet werden. Man hat dann das Urobilin erst zu isolieren. (3—5.)

2. Fluorescenzprobe.

   a) Man versetzt 10—15 ccm Harn mit einem gleichen Volumen einer vor dem Gebrauche gut durchgeschüttelten alkoholischen 10%igen Zinkacetatlösung und filtriert. Das Filtrat zeigt eine deutliche grüne Fluorescenz, zumal wenn man das Glas gegen einen dunklen Hintergrund hält. (Schlesinger.)

Beurteilung.

Die Probe ist sehr empfindlich (Klopstock, Kowarsky, Malfatti).

W. Hildebrandt[5]) benützt eine Lösung von 10,0 g Zinkacetat in 100,0 g absol. Alkohol und verfährt in folgender Weise. Es wird ein weites Reagenzglas zu $^2/_3$—$^3/_4$ mit gleichen Teilen Harn und Reagens gefüllt und 12—24 Stunden stehen gelassen. Ein vorhandenes Sediment muß durch Schütteln im Harne verteilt werden, da Sedimente, besonders das Sedimentum lateritium, Urobilin mit niederreißen. Die nach dem Absetzen durch Abgießen oder Filtrieren erhaltene Flüssigkeit betrachtet man, indem man von oben durch sie hindurchblickt. Zeigt sich bei der wasserklaren Flüssigkeit keine Fluorescenz, so ist keine Urobilinurie anzunehmen; ist die Flüssigkeit gelbrot oder rosa gefärbt, so ist fast immer eine pathologisch vermehrte Urobilinausscheidung vorhanden; die Fluorescenz, durch zu saure Reaktion unterdrückt, tritt dann nach einem Ammoniakzusatze und dem Filtrieren deutlich hervor. Starke Fluorescenz kommt nur bei Urobilinurie vor.

   b) Man versetzt den Harn mit einigen Tropfen (5) 10%iger Chlorzinklösung und fügt Ammoniak hinzu, bis der entstandene

[1]) The Journ. of Americ. med. assoc. 1910. **2.** 79; Pharm. Centralh. 1911. **52.** 382.
[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1912. **25.** Nr. 9; Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 601.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1919. **45.** 62.
[4]) Zentralbl. inn. Mediz. 1918. **39.** Nr. 1.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **57.** 765.

Niederschlag beim Umschütteln sich löst. Die Lösung zeigt schöne grüne Fluorescenz; besonders hier tritt der Absorptionsstreifen sehr schön auf.

3. Zweckmäßig, zumal bei geringen Urobilinmengen, schüttelt man 50 ccm Harn nach dem Ansäuern mit einigen Tropfen Salzsäure mit 25 ccm Amylalkohol aus und untersucht die Amylalkohollösung direkt spektroskopisch (saures Spektrum) und nach Zusatz einiger Tropfen einer filtrierten Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischen Alkohols; sehr schöne grüne Fluorescenz und Absorptionsstreifen (metallisches Spektrum). (M. Nencki und A. Rotschy.)

Ist eine Emulsion entstanden, so filtriert man durch ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter, man erhält im Filtrate dann die zwei getrennten Schichten.

4. Th. Roman und G. Delluc[1]) schütteln 100 ccm Harn nach dem Ansäuern mit 8—10 Tropfen Salzsäure mit 20 ccm Chloroform vorsichtig aus. 2 ccm der nötigenfalls durch ein Asbestfilterchen filtrierten Chloroformlösung werden mit 2 Volumen einer alkoholischen Zinkacetatlösung (1 g Zinkacetat cryst. in 1000 ccm reinsten Alkohols gelöst) überschichtet (Zonenreaktion). Es entsteht an der Berührungsstelle eine grüne Zone (besonders deutlich bei auffallendem Lichte gegen einen schwarzen Hintergrund); beim Umschütteln teilt sich die grüne Fluorescezn der ganzen Flüssigkeit mit, die bei durchfallendem Lichte rosenrot ist.

In stark pigmentierten, gallenfarbstoffhaltigen Harnen gelingt der spektroskopische Nachweis schwer oder gar nicht; man beseitigt durch eine Mercurisulfatlösung (5 g HgO, 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser) die störenden Farbstoffe, indem man zu 10 ccm Harn 5 ccm der Lösung gibt und das klare Filtrat zur spektroskopischen Prüfung verwendet (Denigès).

5. Grimbert[2]) vereinigt die Verfahren von Roman und Delluc und von Denigès.

Grimbert fügt zu 30 ccm Harn 20 ccm vom Reagens nach Denigès, läßt 5 Minuten stehen und schüttelt die in einen Scheidetrichter filtrierte Flüssigkeit mit 5 ccm Chloroform aus; wenn Emulsion sich bildet, filtriert man durch Watte. Zur Chloroformlösung gibt man so lange von der alkoholischen Zinkacetatlösung hinzu, als eine Trübung entsteht. In dem Augenblick, in dem die Flüssigkeit sich aufhellt, erscheint die charakteristische grüne Fluorescenz.

M. C. Carrez[3]) verfährt ebenso; er schüttelt das Filtrat nach der Behandlung des Harnes mit saurer Quecksilbersulfatlösung erst mit Talk, der das Urobilin absorbieren soll und zieht aus dem abfiltrierten und ausgewaschenen Rückstande das Urobilin mit ammoniak- oder salzsäurehaltigem Alkohol aus. Aus der sauren alkoholischen Lösung entfernt man das Urobilin mit Chloroform, indem man sie mit 100 ccm Wasser und 5—6 ccm Chloroform schüttelt. Die Chloroformlösung versetzt man tropfenweise mit der Zinkacetatlösung, bis sich die Mischung klärt; es erscheint die grüne Fluorescenz und spektroskopisch betrachtet das erwähnte Band. Den Specksteinniederschlag kann

[1]) Journ. Pharm. Chim. 1900. 6 Ser. **12.** 49.
[2]) Ebenda. 1904. 6 Ser. **19.** 425.
[3]) Rep. Pharm. 1911. **67.** 145; Annal. Chim. anal. appl. 1911. **16.** 337; Pharm. Centralh. 1912. **53.** 170.

man schneller mit dem Reagens nach Oliviéro (10 g Zinkchlorid in 30 g Ammoniak gelöst und mit 80 g 90%igem Alkohol und 20 g Essigäther versetzt) ausziehen.

Als Vorteil wird hervorgehoben, daß man aus größeren Mengen Harn das Urobilin gewinnen kann. Ob Talk das Urobilin quantitativ aufnimmt, wird nicht gesagt. Weiter ist wohl auch auf das Urobilinogen Rücksicht zu nehmen.

6. Verfahren nach Jolles.

50 ccm Harn werden mit 5 ccm verdünnter Kalkmilch und 100 ccm Chloroform mehrere Minuten in einem Cylinder geschüttelt; den Bodensatz vom Chloroform und den Niederschlag läßt man in eine Porzellanschale abfließen, dampft ein und verreibt den Rückstand mit 5 ccm etwa 30%igen Alkohols und einigen Tropfen Salpetersäure, worauf man filtriert. Typisches Urobilin gibt dabei ein braun- bis granatrotes Filtrat, dessen Spektrum den Urobilinstreifen in scharfer Begrenzung zeigt.

Beurteilung.

Durch diese Isolierungsart sollen normale Farbstoffe entfernt werden.

Th. Hausmann[1]) empfiehlt, 10—20 ccm Harn mit 1—2 ccm einer 10%igen Kupfersulfatlösung (zur Oxydation des Urobilinogens) zu versetzen und dann mit 2 ccm Chloroform vorsichtig auszuschütteln. Außer der Kupferlösung führen auch starke Lösungen anderer Schwermetallsalze und Säuren das Urobilinogen in Urobilin über und machen es durch Chloroform extrahierbar; man verwendet von den Säuren, die nach Hausmann im allgemeinen vorzuziehen sind, zu etwa 20 ccm Harn etwa 6—8 Tropfen der konz. oder 20 Tropfen der verdünnten Säuren.

Bei diesem Verfahren soll kein anderer Harnfarbstoff in das Chloroform übergehen mit Ausnahme des Gallenfarbstoffes, der jedoch zum Unterschiede von Urobilin auch aus dem nativen Harne in Chloroform und zum Unterschiede von Urobilin aus dem mit Kupfersulfat behandelten Urin nicht ins Chloroform übergeht, wohl aber nach der Behandlung des Harnes mit den Salzen anderer Schwermetalle und mit Säuren.

P. Descomps[2]) behandelt 100 ccm Harn mit 60 g Ammoniumsulfat, säuert mit 5 Tropfen einer 1%igen Schwefelsäure an und gibt 5 ccm Gramsche Jodlösung zu; es wird darauf anhaltend geschüttelt und das nach 1 Stunde in gelben Flocken abgeschiedene Urobilin mit 25—50 ccm Amylalkohol durch wiederholtes kräftiges Schütteln gelöst. Die amylalkoholische Lösung trennt man ab, filtriert sie durch Watte und behandelt einen Teil am besten mit dem Reagens von Roman-Delluc (alkohol. Zinkazetatlösung, s. S. 491). Es erscheint die bekannte Fluorescenz.

Ein ähnliches Verfahren, es werden alkoholische Zinkacetatlösung und eine verdünnte alkohol. Jodlösung angewendet, gibt G. Rodillon[3]) an. Übrigens hat früher schon F. A. Steensma darauf hingewiesen, daß man die Reaktion durch Zusatz von wenig alkoh. Jodtinktur schärfer machen kann.

Die Probe von A. Edelmann[4]) beruht auf der von Schmidt gefundenen Tatsache, daß Urobilin mit einer konz. alkoholischen Sublimatlösung einen roten, in Amylalkohol löslichen Farbstoff bildet. Zum Amylalkohol fügt man einige Kubikzentimeter alkohol. Chlorzinklösung.

Wahl der Methode beim qualitativen Nachweis.

Es können sämtliche Proben empfohlen werden. Gelingt der Nachweis nicht, so hätte man aus einer größeren Harnmenge den Farbstoff zu isolieren; übrigens wäre dies ein Zeichen, daß Urobilin in vermehrter Menge nicht vorhanden ist. Der Harn darf nicht etwa mit Formaldehyd konserviert sein.

Quantitative Bestimmung.

Außer der bei der Darstellung (S. 486) angegebenen Bestimmung des Urobilins durch Wägen des isolierten Farbstoffes kann man seine Menge auch annähernd bestimmen und zwar durch den Vergleich der Chloroform-

[1]) Zeitschr. exp. Patholog. Therap. 1913. **13.** 373; Zeitschr. f. klin. Mediz. 1922. **94.** 12.
[2]) Nouv. Remèdes 1914. **29.** 459; Pharm. Centralh. 1915. **56.** 581.
[3]) Journ. Pharm. et Chim. 1922. [7] **26.** 379; Chem. Centralbl. 1923. **94.** II. 226.
[4]) Wien. klin. Wochenschr. 1915. **28.** 978.

lösung des isolierten Urobilins mit einer Lösung von bestimmtem Urobilingehalte nach Art der Indicanbestimmung.

Man isoliert den Farbstoff nach F. Müller und Huppert, wie S. 487 erwähnt und löst das aus der ammoniakalischen Lösung durch Säure gefällte Urobilin in einem bestimmten Volumen Chloroform. Eine Bestimmung gibt auch Tsuchija[1]) an, ebenso G. Fromholdt.[2])

W. Hildebrandt[3]) benutzt das Schlesingersche Reagens für klinische Zwecke. 10,0 Zinkacetat werden mit 100 g absoluten Alkohols versetzt. Vor dem Gebrauch ist umzuschütteln.

Ausführung der Probe.

Die Bestimmung wird mit einem Taschenspektroskope bei engem Spalte und scharf eingestellten Fraunhoferschen Linien vorgenommen.

Wenn bei der stark fluorescierenden Probe (in einem Reagenzglas von etwa 1,5 cm Durchmesser bei Tageslicht) kein Absorptionsstreifen oder nur ein undeutlicher bemerkbar ist, so gilt die Reaktion als positiv; stark positiv ist die Probe, wenn ein deutlicher Absorptionsstreifen bis zu etwa 2 mm Breite vorhanden ist; bei größerer Breite des Absorptionsstreifens gilt die Probe als sehr stark positiv. Ist die ganze violette Seite des Spektrums von Linie *b* an absorbiert, so ist eine besonders starke Urobilinurie anzunehmen, zumal wenn bei Verdünnungen die ganze Absorption bleibt, mithin nicht durch Gallenfarbstoff bedingt ist, der die violette Seite des Spektrums diffus absorbiert. Man kann sich zwischen diesen Abstufungen noch weitere konstruieren. Man erfährt den relativen Gehalt an Urobilin; für diesen ist noch ein Maßstab das Verhalten des Streifens. Man untersucht das Filtrat von 10 ccm Harn und 10 ccm Reagens (man läßt 24 Stunden stehen, bevor man filtriert) in einem keilförmigen Glasgefäße, das durch ein entsprechendes, mit wässerigem 50%igem Alkohol gefülltes zu einem planparallelen Körper ergänzt ist und bestimmt die Schichtdicke, in der der charakteristische Streifen entweder eben verschwindet oder eine bestimmte Breite und Intensität besitzt und vergleicht mit Urobilinlösungen bekannter Konzentration. Für solche kann man sich das keilförmige Gefäß ein für allemal eichen.

Flatow und Brünell[4]) empfehlen ein Verfahren mit Hilfe des Autenriethschen Kolorimeters, Th. Hausmann[5]) benützt ein von E. Seitz in Berlin hergestelltes Urobilinometer, auch E. Kobe, J. Th. Peters beschreiben Apparate für die Urobilinbestimmung usw. Eine quantitative Schätzung von Urobilin gibt L. Pincussen[6]) an.

Eigenschaften.

Das Urobilin ist amorph, zeigt in dünnen Schichten rosenrote, in dicken bräunlichrote Färbung, im auffallenden Lichte lebhaft gelbgrünen Metallglanz, wie Rosanilinsalze. Es löst sich wenig in Wasser, leicht in Alkohol, in Äther, in Chloroform, Amylalkohol, in wässeriger Alkalilauge und in Ammoniak, damit in Wasser und in Alkohol leicht lösliche Salze bildend. Aus salzgesättigten Lösungen wird es von Äther, Amylalkohol, Chloroform aufgenommen. Die neutralen Lösungen sind gelb bis gelbrot, die alkalischen mehr gelb, die sauren rosa bis bräunlichrot. Der Zusatz einer Säure bedingt Ausscheidung des Urobilins in braunen Flocken. Durch basisch essigsaures Blei, durch Ammoniumsulfat, auch durch Chlorzinklösung wird der Farbstoff gefällt; die ammoniakalische Lösung fluoresciert; durch Chlorzink und andere Zinksalze zeigt sich diese grüne Fluorescenz bei zugleich rosenroter Färbung der Lösung auch bei starker Verdünnung sehr vermehrt. Spektroskopisch lassen die Lösungen die erwähnten charakteristischen Absorptionsstreifen erkennen.

---

[1]) Zeitschr. exp. Patholog. Therap. 1904. **7.** 352.
[2]) Ebenda. 1909. **7.** 716.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1909. **57.** 765.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1913. **60.** 234.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. 1913. **39.** 360.
[6]) Deutsch. med. Wochenschr. 1922. **48.** 1074.

Die Quecksilberverbindung hat eine schön rosenrote Farbe; auch das Schütteln mit Kalomel bewirkt die gleiche Farbe. Kupferoxydsalze (auch Kobalt- und Nickelsalze) geben in alkalischer Lösung eine der Biuretreaktion ähnliche Färbung; das Kupfersalz ist in Chloroform mit karminroter Farbe löslich.

Das Urobilin wird durch Einwirkung von oxydierenden oder reduzierenden Stoffen leicht verändert; bei der alkalischen Gärung des Harnes wird es in Urobilinogen übergeführt.

E. Das Urobilinogen.

Das Urobilinogen, das erst nach Einwirkung von Sonnenlicht und Luft zu Urobilin wird, ist farblos und zeigt direkt spektroskopisch kein charakteristisches Verhalten; es löst sich in Essigäther, Chloroform usw. wie das Urobilin; nur von Wasser wird es aus der Essigätherlösung nicht aufgenommen, dagegen auch von Ammoniumsulfat gefällt.

Nachweis (s. S. 489).

F. Urorosein.

Das Urorosein kommt nach M. Nencki und N. Sieber[1]) immer als Chromogen im Harne vor und findet sich nach Rosin in geringer Menge in jedem Harne, nach den Erstgenannten nur im pathologischen Harne bei Diabetes, bei Chlorose, bei Typhus, bei Nephritis, bei Carcinoma ventriculi.

M. Weiss und B. Smiecinszewski[2]) fanden, daß das Chromogen im normalen Harne vorkommt und daß gesteigerte Fäulnis im Darmtrakte eine Vermehrung veranlaßt. Von Bedeutung wäre das häufigere Auftreten bei Carcinomen des Digestionstraktus, auch bei Magencarcinomen sollen pathologische Uroroseinwerte vorgefunden worden sein.

Man wird auf diesen im Harne vorhandenen Farbstoff häufig aufmerksam gemacht, da er bei verschiedenen Reaktionen, z. B. bei den Eiweißproben mit Salpetersäure u. a. entsteht.

C. A. Herter[3]) hat nachgewiesen, daß das Auftreten des Farbstoffes auf die Gegenwart von Indolessigsäure und Nitriten zurückzuführen ist, da beide im Darme bei der Gärung durch Einwirkung von Bakterien auf Tryptophan, einem bekannten Eiweißabbauprodukte, entstehen.

Nach P. de Lama[4]), auch nach Maillard[5]) soll dieses Chromogen mit dem des Indirubins in kleinen Mengen normalerweise im Harne auftreten und soll oft sogar ein gewisses Verhältnis zwischen beiden, nach Lama zwischen Urorosein und Indican bestehen.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. N. F. 1882. **26.** 333.
[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1912. **25.** 52; Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 156.
[3]) Journ. of Biolog. Chem. 1908. **4.** 253.
[4]) Jahresber. Fortschr. Tierchem. 1911. **41.** 210.
[5]) Zeitschr. angew. Chem. 1909. **22.** 1241.

V. Arnold[1]) hat in verschiedenen pathologischen Harnen, besonders in den von Scharlachrekonvalescenten von der 3. Woche an neben Urorosein einen diesem ähnlichen Farbstoff gefunden, den er Nephrorosein nennt.

Darstellung und Nachweis.

Nach M. Nencki und N. Sieber werden 50—100 ccm Harn mit 5 bis 12 ccm 25%iger Schwefelsäure oder auch Salzsäure versetzt; bei Gegenwart des Farbstoffes nimmt der Harn in einigen Minuten eine rötliche bis schön rosenrote Färbung an. Der Harn wird mit einigen Kubikzentimetern Amylalkohol vorsichtig zum Vermeiden einer Emulsion geschüttelt; der Amylalkohol nimmt den Farbstoff auf.

Die Lösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* im Grün.

Reichlicher erhält man den Farbstoff, wenn man größere Mengen Harn konzentriert, diese ansäuert und den Farbstoff auf entfetteter Wolle, nach reichlichem Zusatze von essigsaurem Natron, fixiert. Aus der mit Wasser ausgewaschenen Wolle gewinnt man den Farbstoff durch Auskochen mit absolutem Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt ist.

Durch Einwirkung von Salzsäure, schneller von Salpetersäure oder von Salzsäure mit sehr wenig Chlorwasser oder ganz verdünnter Kaliumnitritlösung auf den Harn tritt, zumal im chromogenreichen Harne, eine rote Farbe ein, wie man sie auch bei manchem Harne beim Behandeln mit $^1/_{10}$ Vol. 25%iger Schwefel- oder Salzsäure beobachten kann; beim Schichten von Harn auf Salpetersäure entsteht ein rosaroter Ring, der allerdings auch von Indigorot herrühren kann.

Ein Überschuß des Oxydationsmittels (Nitrit) zerstört den Farbstoff.

Beurteilung.

Unerläßlich ist die spektroskopische Prüfung. Die Trennung von Indigorot s. S. 497.

Zu dem Eintreten dieser Reaktion bei manchen Harnen nach Zusatz von Säure wäre zu bemerken, daß eine solche wohl zustande kommt bei gleichzeitigem Vorkommen von Indolessigsäure und Nitriten (es können auch andere oxydierende Substanzen mitwirken) im Harne. Durch einen Überschuß von Nitriten im Verhältnis zu der vorhandenen Menge Indolessigsäure kann die Reaktion gestört werden. Indolessigsäure und Nitrite können, wie S. 494 angegeben, im Harne entstehen. Zu berücksichtigen ist auch noch, daß beim längeren Stehen von Harn Nitrite aus Nitraten infolge von Bakterienwirkung entstanden sein können.

Eigenschaften.

Der Farbstoff löst sich mit roter Farbe in Wasser, in saurem Alkohol, in Amylalkohol, er ist unlöslich in Chloroform, in Äther (Unterschied vom Indigorot), in Benzol. Alkalien entfärben die rote Farbe sofort — Unterschied vom Indigorot — unter Bildung gelbgefärbter Salze. Durch Säuren wird die rote Farbe wieder hergestellt. Durch Reduktion mit Zinkstaub in saurer Lösung wird der Farbstoff schnell entfärbt, die Leukoverbindung geht in Äther über, an der Luft färben sich die Lösungen schnell wieder rot. Der Farbstoff ist sehr unbeständig und wird auch durch Fäulnis zerstört; er oxydiert sich schnell. Aus seiner wässerigen Lösung läßt er sich durch Wolle ausfärben. Nach A. Ellinger und Cl. Flamand scheint das Urorosein, wie das Skatolrot zu der von ihnen dargestellten Gruppe der Triindylmethanfarbstoffe zu gehören (O. Hammarsten).

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **61.** 240; 1911. **71.** 1.

G. Indigoblau — Indican (S. 369).

H. Indigorot (Indirubin, Urorubin, Urrhodin, Indigpurpurin) $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

H. Rosin[1]) hat schon gefunden, daß der in den meisten normalen und pathologischen Harnen bei der Behandlung mit Salzsäure und beim ununterbrochenen Kochen dieser Harne sich bildende rote Farbstoff, der auch schon von Rosenbach bei seiner Reaktion — Behandlung des Harnes mit Salpetersäure, der Hauptfarbstoff ist hier wohl in den meisten Fällen Indigorot — beobachtet wurde, mit dem pflanzlichen Indigrot (Indirubin), das nach Baeyers Untersuchungen dem Indigblau isomer ist, die größte Übereinstimmung zeigt. Rosin hält das dem Indigoblau isomere Indigorot für ein Produkt der Wärmewirkung und betrachtet als Muttersubstanz des roten Farbstoffes in den meisten Fällen die Indoxylverbindungen des Urins, die Indoxylschwefelsäure und die Indoxylglycuronsäure, die durch Spaltung mit folgender Oxydation in die zwei isomeren Substanzen, in das Indigoblau und Indigorot, übergehen.

Diese Anschauung Rosins hat durch die Versuche von L. Maillard, von Bouma (S. 376, 381) ihre Bestätigung gefunden. Maillard hat nachgewiesen, daß das Indigorot aus den Indoxylverbindungen bei langsamer, das Indigoblau bei augenblicklicher Oxydation entsteht und somit eine Modifikation des Indigoblaus darstellt.

Nach Maillard[2]) enthält der Harn normalerweise in sehr kleinen Mengen die Chromogene zweier roter Körper, des Indirubins und des Uroroseins, die unter gewissen Umständen in größerer Menge auftreten; aber nur diesen beiden Körpern allein sind die verschiedenen Farben zuzuschreiben, die sehr oft als besondere unter verschiedenen Namen in der Literatur bezeichnet sind. Nach Maillard ist bis jetzt kein Grund vorhanden, die Zahl der im menschlichen Harne authentisch nachgewiesenen roten Farbstoffe zu erhöhen.

Übrigens fand A. Groeber[3]) in einem frisch entleerten, rosarot aussehenden Harne eines Mädchens, das an chronischer parenchymatöser Nephritis litt, Indigorot fertig gebildet vor.

Aus normalem Harne ist es nur in Spuren zu gewinnen, in größeren Mengen findet es sich bei schweren Darmerkrankungen und Ernährungsstörungen. Der Harn sieht dann oft rötlich bis tief goldgelb aus.

Darstellung.

Hiezu müssen große Mengen Harn Verwendung finden. Indicanreicher Harn wird in Portionen zu etwa 5 Liter mit Bleiessig ausgefällt und filtriert, aus dem Filtrate das im Überschusse vorhandene Blei durch Salzsäure entfernt und die filtrierte Lösung nach dem Versetzen mit Salpetersäure (auf 1 Liter etwa 20 g) zum Kochen erhitzt, bis eine dunkel kirschrote

[1]) Virchows Archiv. 1891. **123.** 519. 538.
[2]) Zeitschr. angew. Chem. 1909. **22.** 1241.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1904. **51.** 61.

Färbung eingetreten ist; man kühlt schnell ab und neutralisiert die freie Säure mit Soda möglichst, so daß nur mehr schwach saure Reaktion vorhanden ist. Man filtriert die aus den verschiedenen Harnportionen auf diese Weise ausgeschiedenen Farbstoffe durch das gleiche Filter ab, wäscht dieses mit Sodalösung und Wasser aus und extrahiert es nach dem Trocknen mit Chloroform am Rückflußkühler auf dem Wasserbade mehrere Male, bis die Chloroformlösung sich blau färbt. Man destilliert aus diesen Chloroformauszügen das Chloroform so weit ab, bis das Indigorot sich ausscheidet, das nach dem Erkalten der Lösung abfiltriert und mit kaltem Chloroform so lange gewaschen wird, bis die Braunfärbung verschwunden ist und das Chloroform sich rot färbt. Der Rückstand wird zur Reinigung mit Äther am Rückflußkühler gekocht, wobei Indigorot in Lösung geht, aus der der Äther bis zur Abscheidung von Krystallen abdestilliert wird. Die Krystalle werden nach 1—2tägigem Stehen abfiltriert und nochmals umkrystallisiert.

Nachweis des Indigorots.

1. Man kocht den Harn längere Zeit unter ganz allmählichem tropfenweisem Zufügen von Salpetersäure; beim Vorhandensein des Farbstoffes wird der Harn dunkelburgunderrot mit violettem Schüttelschaume; nach weiterem Zusetzen der Säure geht die rote Farbe des Harnes und des Schaumes in eine gelbe über. Durch tropfenweisen Zusatz von Ammoniak zur roten Flüssigkeit entsteht ein blauroter Niederschlag, der sich im Überschusse von Ammoniak mit braunroter Farbe löst. (Rosenbachsche Burgunderreaktion.)
2. Zum Trennen des Indigorots vom Urorosein, zum Nachweise des freien Indigorots, neutralisiert man den Harn mit Soda, schüttelt mit Äther aus, wobei Urorosein ungelöst bleibt, und verdunstet die rot gefärbte Ätherlösung. Der Rückstand muß sich in Alkohol mit schön roter Farbe lösen, die beim Erwärmen mit Traubenzucker und Alkali verschwindet, beim Schütteln an der Luft aber wieder zum Vorschein kommt. (Rosin.) Indigorot ist zum Unterschiede von Indigoblau in Äther leicht löslich.

Der sogenannte Skatolfarbstoff von Brieger löst sich in saurem Harne zum Unterschiede von dem Indigorot nicht in Äther, auch nicht in Chloroform, nur von Amylalkohol wird er aus der sauren Lösung aufgenommen, s. Urorosein.

Eigenschaften.

Der Farbstoff krystallisiert in schokoladebraunen sternförmigen Nadeln oder Blättchen mit Kupferglanz, die mit violettroten Dämpfen sublimieren (295—310°).

Das Indirubin ist unlöslich in Wasser, in verdünnten Säuren und Alkalien, löslich in Alkohol, Aceton, in Äther, Essigäther, in Chloroform, in Benzol, Phenol, in heißen fetten Ölen, in ätherischen Ölen, Eisessig usw. mit roter Farbe. Konz. Schwefelsäure löst es als Sulfosäure. Die alkoholische Lösung

zeigt einen Streifen im grüngelben Teile des Spektrums. Es ist bei der Oxydation beständiger, als das Indigoblau; in alkalischer Lösung wird es durch Zinkstaub, Traubenzucker usw. zu farblosem Indirubinweiß reduziert.

I. Skatolrot (S. 381).

J. Urohämatin.

Urohämatin ist ein eisenhaltiger, roter Körper, von Harley aus dem konzentrierten und dann mit Alkohol extrahierten Harne durch Fällen mit Kalkmilch in der Siedehitze gewonnen.

K. Giacosas Farbstoff.

Dieser Farbstoff ist ein Chromogen, nach Giacosa[1]) verwandt mit Urohämatin. Das Chromogen kann durch Amylalkohol ausgeschüttelt und durch Bleiessig größtenteils gefällt werden.

L. Farbstoff nach Kunkel,

auch Harnsäurefarbstoff genannt, findet sich im Harnsäureniederschlage, aus dem Harne durch Salzsäure ausgeschieden, und erteilt diesem eine braune Farbe. Er ist stark eisenhaltig, ebenfalls ohne klinische Bedeutung.

M. Hämatoporphyrin (S. 474).

II. Im pathologischen Harne vorkommende Farbstoffe.

A. *Blutfarbstoffe* (S. 457).

B. *Gallenfarbstoffe.*

Die Gallenbestandteile (Gallenfarbstoffe und Gallensäuren) werden wohl einzig und allein in den Leberzellen bereitet und fließen bei normalen Verhältnissen in den Darm, um hier zur Verdauung beizutragen und besonders Fette resorbieren zu helfen, so daß im gesunden, normalen Blute keine Galle und im normalen Harne kein Gallenfarbstoff vorhanden ist. Unter pathologischen Verhältnissen tritt die Galle infolge starken Druckes durch Resorption der Gallenbestandteile von den Lymphgefäßen in den Blutstrom und in die Gewebe (hepatogener Ikterus, Stauungsikterus) und erzeugt dann die bekannten ikterischen Erscheinungen (Gelbsucht, Gelbfärbung der Haut, des Augapfels); ein Teil der in das Blut gelangten Galle wird durch die Nieren im Harne ausgeschieden; im Harne sind die Gallenfarbstoffe, selten auch die Gallensäuren, diese in Form ihrer wasserlöslichen alkalischen Salze, vorhanden. Nach H. Fischer[2]) wird der Gallenfarbstoff durch die Gallensäuren in kolloidaler Lösung gehalten.

Die Gallenfarbstoffe sind Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und als das wichtigste physiologische Abbauprodukt desselben zu betrachten; sie werden durch die Leber aus dem Oxyhämoglobin, Hämoglobin gebildet, indem dieses in Eiweiß und Hämatin zerfällt, das nach Nencki und Sieber

[1]) Berl. Bericht. 1887. **20.** 393 (Ref.).
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **73.** 204.

unter Austritt von Eisen und Aufnahme von Wasser in Bilirubin umgewandelt wird.

Der hepatogene Ikterus (Stauungsikterus, mechanischer Ikterus) wird veranlaßt durch eine Hemmung oder durch Aufhebung des Abflusses der Galle aus der Leber infolge einer Verstopfung der Gallengänge durch Gallensteine, Tumoren oder nach Renvers auch dadurch, daß die Konkrementbildung einen chronischen Katarrh der Gallenwege unterhält. Eine lange Dauer des chronischen Ikterus, intermittierendes Fieber und vorausgegangene Koliken sprechen für Steinbildung in den Gallenausführungsgängen.

Ob die Entstehung des hämatogenen Ikterus (auch chemischer genannt), die Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoffe, außerhalb der Leber möglich ist, ist zweifelhaft und wohl nicht wahrscheinlich; zahlreiche Autoren sprechen sich dahin aus, daß jeder Ikterus seine Quelle in der Leber hat, daß es ohne Anteil der Leber keinen Ikterus geben kann. F. Blumenthal möchte die Leydensche Unterscheidung eines hepatogenen und hämatogenen Ikterus beibehalten wissen und bezeichnet als letzteren einen solchen, bei dem die Entstehung des Farbstoffes aus dem Zerfalle der roten Blutkörperchen, der Erythrocyten, stattfindet.

Der hepatogene Ikterus, der auch Änderungen in den Nieren hervorzurufen pflegt, tritt stark auf bei akuter gelber Leberatrophie (hier werden noch gefunden Gallensäuren, Eiweiß, Leucin, Tyrosin, fettig degenerierte und ikterisch gefärbte Nierenepithelien, mit Nierenepithelien teilweise bedeckte Harncylinder, Fett), beim Verschlusse des Gallenganges, bei der Weilschen Krankheit (akuter, fieberhafter Ikterus, hier auch Eiweiß, Blutkörperchen, Cylinder), bei hypertrophischer Lebercirrhose, bei katarrhalischem Ikterus, weniger stark bei Leberkrebs (hier starke Indicanausscheidung), bei Lebersyphilis, bei Leberabsceß.

Ein hämatogener Ikterus im Sinne der oben angeführten Unterscheidung wäre zu finden nach Vergiftungen mit Phosphor, mit Arsenwasserstoff, mit Äther, mit Chloroform, mit Anilin usw., nach Infektionskrankheiten (Typhus, Scharlach), bei Carcinom. Nach den Forschungen von Naunyn, Minkowski und Stadelmann ist der nach der Darreichung von blutkörperchenzerstörenden Giften der eben genannten Arten hervorgerufene Ikterus ein hepatogener, dadurch veranlaßt, daß die Gallenwege eben die in allzu großer Menge aus dem Zerfalle der Blutkörperchen gebildeten Gallenfarbstoffe nicht abzuleiten imstande sind, es tritt eine Zurückstauung in das Blut ein.

Auch nach Bunge ist der hämatogene Ikterus ein Stauungsikterus, die Stauung wird durch eine Behinderung des Abflusses der reichlich gebildeten, dicklichen Galle bewirkt.

Ikterischer Harn zeigt eine safrangelbe, rötlichbraune, braune (bierähnliche), auch ins Grüne schillernde Farbe — nach einigem Stehen des Harnes kommt die grüne Farbe mehr und mehr zum Vorschein —, schäumt stark beim Schütteln mit einem mehr oder weniger gelb oder

grünlichgelb gefärbten Schaume (Rheum- und Sennaharne S. 508); beim Filtrieren hinterläßt er auf dem Filter einen gelben Belag; an der Wäsche finden sich gelbe Urinflecken; die Färbung entspricht häufig nicht dem Gehalte an Bilirubin. Mit der Ausscheidung der Gallenbestandteile können, wie erwähnt, auch Eiweißabsonderungen verbunden sein, der Harn kann trüb sein — ikterischer Harn ist gewöhnlich undurchsichtig — und ein Sediment bilden, das aus reichlichem, oft gelbgefärbtem Epithel, aus gelbgefärbten, auch mit Farbstoffkörnern versehenen hyalinen Cylindern, auch aus freien kleineren oder länglicheren Körnchen von grüner bis schwarzer Farbe, widerstandsfähig gegen Reagenzien, aus Leucin, Tyrosin, bestehen kann. Ikterischer Harn zeigt stets saure Reaktion, deswegen enthält er häufig Urate, Harnsäure, von den Gallenfarbstoffen gefärbt. Bilirubin wird nicht selten in dem mit Salzsäure angesäuerten Harne in braunen Nadeln abgeschieden. Bei deutlicher Abnahme der täglichen Harnmenge kann das Vorkommen von Nierenepithelien und Cylindern eine ernstere Erscheinung, ein Ergriffensein der Niere bedeuten. Von den verschiedenen Farbstoffen sind mit voller Sicherheit im frischen ikterischen Harne nur das goldgelbe Bilirubin (meist als Alkaliverbindung), das grüne Biliverdin (meist nach dem Stehen des Harnes), bisweilen auch Urobilin (Urobilinogen) aufgefunden worden. Das Bilirubin wird als die Muttersubstanz der weiteren Gallenfarbstoffe — Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Bilihumin — angesehen; die drei letzteren fanden sich in Gallensteinen.

Fromholdt und Nersessoff[1]) meinen, daß die Farbe des ikterischen Harnes nicht durch Bilirubin, sondern durch andere Farbstoffe bedingt ist (?).

Nachweis der Gallenfarbstoffe.

Enthält der Harn Blut und Blutfarbstoff neben dem Gallenfarbstoffe, 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 Nachweise von Gallenfarbstoffen.

1. Methode von L. Gmelin, F. Tiedemann.[2])

Nach E. Ebstein (a. a. O.) hat Marabelli schon im Jahre 1787 die Salpetersäureprobe ausgeführt, so daß sie als Marabellische zu bezeichnen ist.

Die Reaktion mit ihren fast unzähligen Abänderungen beruht auf der allmählichen Oxydation des Bilirubins zu Biliverdin (grüne Färbung); bei weiterer Oxydation entstehen die anderen Farbstoffe (Blau zu Gelb).

In ein Reagenzglas gibt man etwa 5 ccm konzentrierter schwach gelber Salpetersäure (am besten reiner Salpetersäure, der man auf etwa 100 ccm 1—2 Tropfen rauchender Salpetersäure zugesetzt hat) und auf diese vorsichtig, ohne daß eine Vermischung der Flüssigkeiten eintritt, am Rande des am besten schiefgehaltenen Glases entlang mit einer Pipette ebensoviele Kubikzentimeter Harn. Es entsteht bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen — bei geringem Farbstoffgehalte nicht immer sofort — an der Berührungsstelle der charakteristische smaragdgrüne Ring, der allmählich höher steigt,

[1]) Biochem. Zeitschr. 1921. **125.** 149. 153.
[2]) Die Verdauung nach Versuchen. Leipzig u. Heidelberg. 1826. **1.** 80.

Bilirubin $C_{32}H_{36}N_4O_6$ (Küster)	Biliverdin $C_{32}H_{36}N_4O_8$	Biliprasin $C_{32}H_{44}N_4O_{12}$	Bilifuscin $C_{32}H_{40}NO_8$
Kommt in der Galle und in den Gallensteinen vor. Es läßt sich aus seiner Chloroformlösung in roten, rhombischen Tafeln krystallisiert 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 Es kommt dem Gallenfarbstoffe der Charakter einer Säure zu. 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 Zusatze von Salpetersäure (etwas rauchende enthaltend) oder von Bromwasser erst grün, dann blau, violett, rot, und endlich gelb. Nascierender Wasserstoff führt Bilirubin in Hydrobilirubin, das aber ein Farbstoffgemisch sein soll, über; durch Fäulnisbakterien erfolgt Reduktion zu Urobilin. Durch Destillation mit Zinkstaub entsteht aus dem Bilirubin Hämopyrrol wie beim Blutfarbstoff. Das Bilirubin enthält wie der Blutfarbstoff vier Pyrrolkerne und gibt wie das Hämin beim oxydativen Abbau Hämatinsäure (W. Küster, Hans Fischer).	Findet sich in der Galle und in 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, in 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 konzentrierter Essigsäure und Salzsäure löst es sich gleichfalls; mit Salpetersäure gibt es die gleichen Reaktionen, wie das Bilirubin. Vom Bilirubin läßt es sich durch die verschiedene Löslichkeit trennen.	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 vom Biliverdin). In Alkalien ist es leicht löslich mit brauner Farbe, die durch Säure in Grün übergeht (Unterschied vom Bilifuscin). Man nimmt deshalb an, daß die braunen, ikterischen Harne, die sich auf Zusatz einer konzentrierten Mineralsäure grün färben, Biliprasin enthalten.	Scheint außer in Gallensteinen aber auch im Harne vorzukommen. Dunkelbraun, unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform; löst sich aber in Gegenwart von fetten Säuren in Äther und in 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 Bilihumin, das sich auch in den Gallensteinen als schwarzbrauner Körper findet.

Diese beiden Farbstoffe, Derivate des Bilirubins, scheinen noch nicht vollkommen rein dargestellt zu sein, da die von verschiedenen Forschern gewonnenen Farbstoffe auch verschiedene Eigenschaften zeigen.

Cholecyanin (Bilicyanin, Choleverdin) entsteht bei der Oxydation der Gallenfarbstoffe bei Gegenwart von Chlorzink. Die neutralen oder sehr schwach sauren Lösungen sind blaugrün, stahlblau mit roter Fluoreszenz; die alkalischen Lösungen besitzen grüne, die schwach sauren schön rote, die stark sauren violettblaue Farbe.

Choletelin ist das letzte Oxydationsprodukt der Einwirkung von Salpetersäure auf Bilirubin.

Siehe W. Küster[1]) über Bilirubin, Biliverdin und ihre Spaltungsprodukte.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **59.** 61.

und an der unteren Grenze nach und nach ein blauer, violettroter und 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-Vitali so ausführen, daß man zu dem Harne eine konzentrierte Natriumnitratlösung gibt und dann konzentrierte Schwefelsäure langsam nachfließen läßt. Die Reaktion tritt langsam ein und hält längere Zeit an.

Crouzel nimmt ein Gemisch aus 3 Vol. reiner Schwefelsäure und 1 Vol. reiner Salpetersäure. Schichtprobe!

Abänderung von O. Rosenbach.[1])

Man filtriert eine größere Menge Harn durch ein kleines Filter aus absolut reinem, weißem Filtrierpapier und betupft die innere Seite des noch feuchten Filters mit einem Tropfen der rauchende Salpetersäure enthaltenden Salpetersäure; auch kann man einen porösen Tonteller(Biskuitteller) mit dem Harne tränken und in gleicher Weise mit 1—2 Tropfen der Säure betupfen (Dragendorff); man erhält das gleiche Farbenspiel in Form der konzentrischen Ringe wie bei 1, von innen nach außen gelbrot, rot, violett, blau, grün.

Tuz[2]) hat ähnlich wie Biffi 200 ccm Harn mit 1 ccm 5%iger Schwefelsäure und 10 ccm 10%iger Bariumchloridlösung versetzt. Der Niederschlag wird nach dem Abgießen der Flüssigkeit auf einem Filter gesammelt, dessen Boden mit hygroskopischer Watte belegt ist; auf der Watte liegt eine Scheibe Filtrierpapier, auf die man einen Tropfen des Gmelinschen Reagens (8 Teile Salpetersäure [1,4] und 2 Teile rauchende Salpetersäure) bringt. Reaktion die bekannte.

Bonanno[3]) läßt eine Flüssigkeit aus 0,2 g Natriumnitrat und 10 ccm Salzsäure verwenden, die man in einer verschlossenen Flasche verwahrt. Im ikterischen Harne entsteht grüne Färbung beim Eintropfen der Flüssigkeit.

Ähnlich sind auch die Verfahren von Vitali, Klehbiel, Masset u. a., die Kaliumnitrit und Schwefelsäure (Salzsäure) als Reagens empfehlen.

Beurteilung.

Charakteristisch für die Gegenwart der Gallenfarbstoffe ist nur die auftretende Grünfärbung, der grüne Ring, da die blaue und rote Färbung auch andere Farbstoffe (Indican) geben.

Die Salpetersäure darf nicht zuviel salpetrige Säure enthalten, da die Reaktion sonst stürmisch und sehr schnell verläuft.

Urine mit geringem Gallenfarbstoffgehalte geben die Reaktion nicht immer. Die Rosenbachsche Modifikation ist etwas schärfer, da man durch Filtrieren größerer Harnmengen die Gallenfarbstoffe im Filter anreichern kann. Zu bemerken ist, daß auch nach Antipyringenuß infolge Bildung von Nitrosoantipyrin ein grüner Ring entstehen kann (P. Süß).

Manche dunkelgefärbten Harne, die Gallenfarbstoff besonders in geringer Menge enthalten, geben die Reaktion mit Salpetersäure nicht, wenn andere Farbstoffe (Urobilin, Indican) in größerer Menge zugegen sind; in solchen Fällen muß der Gallenfarbstoff erst isoliert werden, man verfährt nach Methode 2 oder 5.

Aus einem Harne mit geringen Mengen an Gallenfarbstoff und Eiweiß muß letzteres erst entfernt werden.

Sonst ist dieses älteste Verfahren immer noch das einfachste und recht zuverlässig.

Nach Rosenbach kann man ikterischen Harn auch mit einigen Tropfen von 5%iger Chromsäurelösung versetzen, es entsteht eine Grünfärbung bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen. (Kein Überschuß an Oxydationsmitteln, sonst erfolgt Braunfärbung.) Die Probe kann auch als Ringprobe angestellt werden. Mit Chromsäure getränktes Filtrierpapier färbt sich in ikterischen Harn getaucht grün.

Biffi verfährt wie Tuz und bringt einen Krystall Kaliumbichromat auf den noch feuchten Niederschlag auf die Watte, Z. Guerra benützt Eisenchlorid als Oxydationsmittel.

Diese Abänderungen sollen die Reaktion empfindlicher gestalten.

---

[1]) Centralbl. med. Wissenschaft. 1876. 5.

[2]) Zeitschr. Urolog. 1908. **2.** 1038.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1910. **57.** 2603.

2. Probe nach O. Hammarsten.[1])

Erforderliche Lösung.

Ein Gemisch von 19 ccm einer 25%igen Salzsäure und 1 ccm einer 25%igen Salpetersäure läßt man einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen, bis es etwas gelblich geworden ist.

Ausführung.

1 ccm der Lösung wird vor dem Gebrauche mit 4 ccm Alkohol von 95—96% verdünnt. Enthält ein Harn reichlich Gallenfarbstoffe, so setzt man zu 2—3 ccm von dem Reagens einige Tropfen des Harnes, es tritt sofort die grüne oder blaugrüne Färbung auf; sind nur wenig Gallenfarbstoffe neben anderen in größerer Menge vorhandenen Farbstoffen zugegen, so fällt man 10 ccm des nicht alkalisch reagierenden Harnes mit einigen Kubikzentimetern Barium- oder Calciumchloridlösung, zentrifugiert, gießt die Flüssigkeit vom Bodensatze ab und übergießt diesen mit 1—2 ccm des Reagens. Es tritt Grünfärbung ein. Sind Spuren von Farbstoff vorhanden, so verwendet man ein Säuregemisch von 1 Teil Salpetersäure und 99 Teilen Salzsäure.

Beurteilung.

Sehr empfindliche Methode, die allen Anforderungen genügt. Blutfarbstoff stört nicht.

3. Probe von F. Penzoldt.

Man filtriert Harn durch ein nicht zu großes Filter, läßt dieses trocknen und bringt einige Kubikzentimeter 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 als gute Vorprobe zu betrachten.

4. Nach Trousseau und Dumontpellier[2]), H. Rosin[3]), W. G. Smith und Kathrein überschichtet man vorsichtig in einem Reagenzglase Harn mit 2—3 ccm einer etwa 1%igen alkoholischen Jodlösung; es tritt bei Gallenfarbstoffanwesenheit ein grasgrüner Ring an der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten ein. Alkalischer Harn ist mit Essigsäure anzusäuern.

Cauquil verwendet als Reagens eine Lösung aus 2 g Jodtinktur, 1 g Jodkali in 100 g Wasser.

Raphael[4]) gibt zu 10 ccm Harn 10 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung und läßt 24 Stunden stehen; wird das freie Jod durch $^1/_{10}$ n-Thiosulfatlösung gebunden, so kommt die Grünfärbung des ikterischen Harnes zum Vorschein.

Maréchal läßt den Harn mit Lugolscher Lösung überschichten (smaragdgrüner bis grasgrüner Ring beim Vorhandensein der Gallenfarbstoffe).

F. Obermayer und H. Popper[5]) empfehlen als sicheren Nachweis die Jodsalzschichtprobe und als Reagens eine Lösung von 75 g Chlornatrium, 12 g Jodkalium, 3,5 ccm 10%iger Jodtinktur in 625 ccm Wasser und 125 ccm 95%igem Alkohol. Diese Jodkochsalzschichtprobe empfehlen Herzfeld und Steiger.

---

[1]) Skand. Archiv Physiol. 1899. **9.** 313.
[2]) L'Union med. 1863. 39.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1893. **30.** 106.
[4]) Pharm. Centrlh. 1907. **48.** 387.
[5]) Wien. klin. Wochenschr. 1908. **21.** 895.

Eine halbprozentige Jodätherlösung nehmen Perkuscher und Gutmann (5 ccm Harn und 1 ccm der Lösung). Die untere grün und grünblau gefärbte Schicht wird nochmals mit Äther behandelt (zur Entfernung von Jod), bis er farblos ist; dann soll die Grünfärbung der wässerigen Schicht sehr deutlich hervortreten.

Beurteilung.

Die Methode ist scharf; Vorhandensein von Antipyrin könnte stören.

5. Um in dunklen, indicanreichen Harnen geringe Mengen Gallenfarbstoffe nachzuweisen, macht man den Harn (100—200 ccm) nach Huppert[1])-Hilger[2])-Salkowski entweder mit kohlensaurem Natron alkalisch und versetzt ihn mit Chlorbarium- oder Chlorcalciumlösung oder fällt ihn mit Barythydrat im Überschusse. Der Niederschlag aus ikterischem Harne ist gelb; wird der abfiltrierte, ausgewaschene Niederschlag mit Alkohol, der einige Tropfen Schwefelsäure (nach Salkowski Salzsäure) enthält, in ein Reagenzglas vom Filter abgespritzt und dann erhitzt, so entfärbt sich der Niederschlag und es entsteht eine sehr schöne grüne bis blaue Lösung. (Man betrachte zumal bei geringen Mengen im auffallenden Lichte und sehe entweder von oben ins Reagenzglas oder halte dieses gegen einen weißen Hintergrund.) Zum deutlicheren Nachweis schüttelt man diese Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und einigen Kubikzentimetern (5 ccm) Chloroform; dieses färbt sich tiefgrün.

Beurteilung.

Die Methode ist sehr sicher. Rheum- und sennahaltige Harne geben eine gelbe Lösung. Nach Munck, der diese Probe empfiehlt, sehr empfindlich (noch 0,00002 Bilirubin in 10 ccm Harn zu erkennen). Wenn nach dem Erhitzen keine Farbenänderung eintritt, soll man nach F. A. Steensma, J. C. Schippers einen Tropfen einer etwa $^1/_2$%igen Natriumnitritlösung hinzufügen. Salkowski wendet in solchen Fällen etwas Salpetersäure an.

M. Nakayama erhitzt den durch Zentrifugieren gewonnenen Niederschlag (Fällung wie oben) mit einer Lösung, hergestellt aus 99 ccm abs. Alkohol und 1 ccm rauchender Salzsäure, in der im Liter 4 g Eisenchlorid gelöst sind. Nach W. Macadie[3]) werden etwa 10 ccm des nötigenfalls mit Essigsäure schwach angesäuerten Harnes mit gesättigter Calciumchloridlösung in genügender Menge versetzt und zwei Minuten zentrifugiert; die Flüssigkeit wird vom Sedimente abgegossen und dieses nochmals mit Wasser gewaschen. Nach dem Absetzen und Entfernen des Wassers löst man das Sediment in einer Mischung aus 1 Teil Salzsäure (1,16 spez. Gew.) und 3 Teilen Alkohol und läßt 5—6 Tropfen Salpetersäure (1,42 spez. Gew.) am Rande des Zentrifugierröhrchens zufließen. In der Flüssigkeit entstehen die bekannten gefärbten Zonen gelb, weinrot, blau, bläulichgrün, grün.

A. A. v. Maslow[4]) setzt zu dem nach Nakayama gewonnenen Niederschlage Alkohol, der 1% Salpetersäure (1,2 *D*) enthält, dann 4—5 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd und erhitzt zum Kochen (dunkelblaugrün).

Die Probe von Nakayama hält K. Hoesch[5]) für eine sehr scharfe.

6. Probe nach Jolles.[6])

10 ccm Harn werden in einem Probierrohre mit 2—3 ccm Chloroform und 1 ccm einer 10%igen Chlorbariumlösung versetzt,

[1]) Archiv der Heilkunde. **8.** 351. 467.
[2]) Archiv Pharm. [3] **6.** 385.
[3]) Pharm. Journ. 1908. [4] **26.** 686.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **74.** 297.
[5]) Klin. Wochenschr. 1922. **1.** 2034.
[6]) Wien. klin. Wochenschr. 1903. **16.** 491; Pharm. Centrlh. 1903. **44.** 478.

kräftig geschüttelt und hierauf zentrifugiert. Die über dem Niederschlage und dem Chloroform stehende Flüssigkeit wird vorsichtig abgegossen, das Röhrchen mit destilliertem Wasser gefüllt und wieder zentrifugiert. (Bei stark gefärbten Harnen kann man die Behandlung mit Wasser ein drittes Mal wiederholen.)

Nach dem Abgießen der über dem Chloroform befindlichen Flüssigkeit wird der Rückstand mit etwa 5 ccm Alkohol kräftig geschüttelt und das Filtrat mit 2—3 Tropfen einer Jodlösung (0,63 g Jod und 0,75 g Quecksilberchlorid werden in je 125 ccm Alkohol gelöst, die beiden Lösungen vereinigt und mit 250 ccm konzentrierter Salzsäure vermischt) versetzt; es entsteht bei Gegenwart der geringsten Spuren von Gallenfarbstoff die bekannte grüne Färbung. Durch Erwärmen des Glasinhaltes (kurze Zeit im Wasserbade) kann das Entstehen der Färbung beschleunigt werden.

Beurteilung.

Die Methode ist scharf und läßt noch 0,1 mg Bilirubin in 100 ccm Harn erkennen.

7. L. Grimbert[1]) empfiehlt folgende Ausführungsweise der von Hammarsten, Salkowski und Jolles angegebenen Proben:

10 ccm (nötigenfalls 100—200 ccm) Harn werden mit 5 ccm 10%iger Bariumchloridlösung versetzt und nach dem kräftigen Schütteln oder Zentrifugieren filtriert. Der aus dem Sulfat, Phosphat und Bilirubinat des Bariums bestehende Niederschlag wird mit 4 ccm 90%igem Alkohol, der 5 Vol. Proz. Salzsäure (wie bei Salkowski) enthält, versetzt. Nach kurzem Sieden (1 Minute) läßt man absetzen. Ist die überstehende Flüssigkeit farblos, so sind keine Gallenfarbstoffe vorhanden; ist sie blaugrün oder dunkelgrün, so sind solche anwesend. Tritt eine bräunliche Färbung ein, so ist die im Alkohol gewesene Menge Salzsäure zu gering, um alles Bariumbilirubinat zu oxydieren. In diesem Falle — aber nur dann — setzt man 2 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd (auf 10 Vol.) zu; nach dem Sieden tritt eine Grünfärbung ein. Bleibt die Blaufärbung, so sind noch bisher unbestimmte braune Gallenfarbstoffe vorhanden.

Beurteilung.

Die Methode soll an Einfachheit und Genauigkeit den anderen überlegen sein.

8. Ausziehen der Farbstoffe mit Chloroform. Schüttelt man 10—20 ccm Harn nach dem Ansäuern mit einigen Tropfen Salzsäure mit der gleichen Menge Chloroform aus (heftiges Schütteln ist zu vermeiden, man dreht besser häufig um, um eine Berührung der Flüssigkeiten zu erzielen) und überschichtet die Chloroformlösung mit Salpetersäure, die wenig salpetrige Säure enthält, oder mit Bromwasser, so tritt das oben angegebene Farbenspiel bei

[1]) Journ. Pharm. Chim. 1905. [6] **22.** 487.

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.

Noch zweckmäßiger ist es, die abgehobene (durch Abpipettieren) Chloroformlösung mit dem gleichen Volumen schwach alkalischen Wassers (Zusatz von 1 Tropfen Natronlauge) wie angegeben zu mischen. Es wird die in Chloroform unlösliche, in Wasser leicht lösliche Alkaliverbindung der Gallenfarbstoffe hergestellt. Die wässerige Lösung verwendet man zur Vornahme der Reaktion.

Verfahren, die auf dem Ausziehen des Gallenfarbstoffes mit Chloroform beruhen, sind angegeben von Ultzmann, R. Neumeister, C. Gerhardt, Schwander, F. Sarcinelli, J. Boni, A. Vossius, E. Stadelmann.

Beurteilung.

Das Chloroform muß frei von Alkohol sein wegen der Färbung des letzteren mit der Säure.

9. Empfohlen wird als gute Probe die von A. Gluzinsky[1]). Man versetzt Harn mit dem dritten Volumteil Formalin und kocht 2 bis 5 Minuten. Bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff entsteht eine grüne Färbung. Beim Schütteln mit Chloroform nach dem Zusatze von einigen Tropfen Salzsäure wird das Chloroform amethystrot gefärbt, wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind.

Nach W. Arnold wird Bilicyanin gebildet.

10. F. Pröscher[2]) empfiehlt zum Nachweise von Bilirubin allein die Verwendung der Ehrlichschen Diazoreaktion. Es bildet sich durch Kuppelung ein Azofarbstoff, hier Azobilirubin. Siehe auch Nr. 17.

Man sättigt 10 ccm Harn mit Ammoniumsulfat, filtriert den die Farbstoffe enthaltenden Niederschlag ab und zieht das nicht zu groß gewählte Faltenfilter mit 96%igem Alkohol aus. Der alkoholische Auszug wird mit Salzsäure stark angesäuert und mit der Diazolösung (S. 528) versetzt. Bei Anwesenheit von Bilirubin tritt eine schöne blaue Färbung auf, die bei Alkalizusatz durch Rot in Grün umschlägt. In neutraler Lösung ist das Azobilirubin prachtvoll rot. Läßt man zu der sauren Lösung vorsichtig eine nicht zu konzentrierte Kalilauge zufließen, so bilden sich die drei Farbenringe grün, rot, blau.

Beurteilung.

Andere Gallenfarbstoffe (Biliverdin, Bilihumin) geben die Reaktion gar nicht, Bilifuscin und Biliprasin in äußerst geringem Grade.

11. Triollets[3]) Probe.

50 ccm Harn werden mit 40—50 g Ammoniumsulfat gesättigt, der Niederschlag wird durch Watte abfiltriert und diese zuerst mit heißem Chloroform (in Lösung

[1]) Wien. klin Wochenschr. 1897 Nr. 52.
[2]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1901. **22.** 169.
[3]) Rep. d. Pharm. 1901. 392.

Bilirubin und Bilifuscin) und dann mit heißem Alkohol (in Lösung Biliverdin und Biliprasin) behandelt. Die beiden Lösungen werden eingedampft und die Rückstände mit kochendem Wasser aufgenommen; die erhaltene Lösung wird vorsichtig mit rauchender Salpetersäure überschichtet; es entsteht erst ein roter und gelber, nach 10 Minuten zwischen diesen ein grüner Ring, nach 15 Minuten ein blauer zwischen dem roten und dem grünen. Nach 2 Stunden hinterbleibt nur eine blaue Zone zwischen zwei gelben.

Beurteilung.

Störende andere Farbstoffe, Blut, Eiweiß, Eiter werden bei dieser Probe entfernt.

12. Nach H. Günther[1]) versetzt man 5 ccm Eisessig mit wenig (nicht mehr als 0,005 g) Magnesiumperhydrol (Merck) und erhitzt zum Sieden. Von dunklem, ikterischem, durch Natronlauge alkalisch gemachtem Harne bringt man einige Tropfen, von hellem alkalischem Harne 5—10 ccm zu dem Reagens. Es tritt sofort oder nach einmaligem Erhitzen eine smaragdgrüne Färbung auf; bei sehr geringer Menge von Bilirubin im Harne kann man die Färbung erkennen, wenn man die Schicht im Proberöhrchen von oben nach unten betrachtet. Nach Zusatz von etwas verd. Salzsäure (einige Tropfen) geht die grüne Farbe in Blau über. Der grüne Farbstoff löst sich in Chloroform; im Spektroskope zeigt der grüne Farbstoff einen breiten Absorptionsstreifen.

Diese Probe wird von E. Ebstein besonders geschätzt.

13. Cholecyanin-(Bilicyanin)probe von Stokvis[2]). (Bümendijk.)

Ist die Gmelinsche 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 Gmelinschen 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*.

Harn mit Salmiakgeist zu überschichten (grüner Ring), empfiehlt F. Betz.

14. 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 Spektroskope zwischen *D* und *E* einen Streifen oder einen verwaschenen Schatten.

15. Barrals[3]) Reagens auf Gallenfarbstoffe ist eine 20%ige Lösung von Aseptol (o-Phenolsulfosäure). Man schichtet auf dieses Reagens vorsichtig filtrierten Harn; bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff entsteht ein grüner Ring.

Wenn Eiweiß zugegen ist, bildet sich ein weißer Ring.

16. Nach Baudouin[4]) gibt ikterischer Harn mit einigen Tropfen Fuchsinlösung (1 : 200 Wasser) orangefarbenes Rosanilinbilirubinat.

v. Mardach[5]) läßt eine sehr verdünnte Eosinlösung verwenden, die mit gallenfarbstoffhaltigem Harne einen gelbbraunen Ton mit leichter Grünfluorescenz annehmen soll.

A. v. Torday u. A. Klier empfehlen Methylviolettlösung (1 Tropfen einer 1%igen Lösung zu 15 ccm Wasser), die mit 1 ccm Harn eine rote Färbung gibt. Methylengrün, Methylenblau, Thionin, Toluidin, Azurblau liefern grüne Färbungen, Dahliagrün und Pyronin gelbe, Kresylviolett und Methylblau-Gentianaviolett rote.

Die Lösungen müssen wie angegeben recht verdünnt angewendet werden. Es handelt sich bei diesen Proben, wie sie auch von Neermann, E. Klaften vorgeschlagen wurden, um physikalische Farbmischungen (Roch); den Proben kommt höchstens ein orientierender Wert zu (O. Petersen)[6]).

17. Nach A. Krockiewicz[7]) mischt man je 1 ccm einer 1%igen wässerigen Lösung von Sulfanilsäure und Natriumnitrit, gießt das Gemisch aus dem Reagenzglase,

---

[1]) Med. Klinik 1910. Nr. 27.
[2]) Centrlbl. med. Wissensch. 1872. 4.
[3]) Pharm. Zeitschr. f. Rußl. 1897. 961.
[4]) La semaine médic. 1902. 398.
[5]) Deutsch. med. Ztg. 1907. Nr. 57.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** Nr. 41.
[7]) Münch. med. Wochenschr. 1906. **53.** 496.

daß nur wenige Tropfen zurückbleiben, und fügt unter starkem Schütteln etwa $^1/_2$ ccm Harn zu. Es entsteht eine rubinrote Färbung, die nach Zusatz von 1—2 Tropfen Salzsäure und nach mehrfacher Verdünnung mit Wasser in Amethystviolett übergeht. Bei reichlicher Gallenfarbstoffanwesenheit muß entsprechend verdünnt werden. Die Reaktion zeigt nur Bilirubin und wenig oxydierte Farbstoffe an.

A. Raphael[1]) benützt ebenfalls das Diazoreagens; 5 g Sulfanilsäure werden in 100 ccm Wasser und 50 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,124) gelöst; die Nitritlösung enthält 0,5% Natriumnitrit. Gibt man zu 2—3 Tropfen Nitritlösung 5 ccm der Sulfanilsäurelösung und zu dieser Mischung 5 ccm vom ikterischen Harne, so färbt sich das Gemisch zuerst amethystfarben, nach einiger Zeit kirschrot. Mischt man 2—3 Tropfen Nitritlösung mit 5 ccm Harn und gibt erst dann 5 ccm Sulfanilsäurelösung zu, so entsteht eine gelbgrüne Färbung, die im Laufe von 24 Stunden rot wird.

18. Auf die Oberflächenspannung und Viskosität gründet sich die Probe nach Haykraft (Hay) (Garés), daß gallenfarbstoffhaltiger Harn im Gegensatze zu normalem Harne die Eigenschaft zeigen soll, daß auf die Oberfläche gebrachte Schwefelblumen nach einigen Minuten untersinken; gallensäurehaltigen Harnen soll diese Eigenschaft besonders zukommen.

Beurteilung.

Die Probe ist nicht einwandfrei, auch bei normalem Harne sinken Teile der Schwefelblumen unter, da die Oberflächenspannung usw. stark beeinflußbar sind (Germet).

19. Rieglers Probe.

Der durch Chloroform gelöste Gallenfarbstoff gibt in der Chloroformlösung mit einer Mischung von Paranitranilin (5 g in 180 ccm Wasser und 25 ccm konz. Schwefelsäure) und Natriumnitrit (2,5 g: 200 ccm Wasser) zu gleichen Teilen eine intensiv rote Färbung. Die Chloroformlösung schüttelt man erst mit 5 ccm 90%igem Alkohol und setzt dann je 10 Tropfen der erwähnten Lösung zu.

Beurteilung.

Schildbach[2]) bespricht die Methode abfällig.

20. Bartleys Probe beruht darauf, daß mit Salzsäure angesäuerter Harn durch Eisenchlorid grün gefärbt wird, wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind. Indican kann durch Schütteln mit Chloroform entfernt werden.

Eine Reihe in den letzten Jahren empfohlener Proben bringen nichts neues.

Bei der nach dem Zusatze von Ehrlichschem Reagens (Dimethylaminobenzaldehyd S. 489) zu bilirubinhaltigem Harne auftretenden Grünfärbung, der sogenannten grünen Benzaldehydreaktion im Bilirubinharn, handelt es sich nach den von K. Hoesch[3]) vorgenommenen Untersuchungen um eine Säurenitritreaktion.

Wahl der Methode.

Bei einer Prüfung auf Gallenfarbstoffe wird man stets erst die Gmelinsche Probe I, auch nach Rosenbach, zu Rate ziehen. Bei negativem Ausfall kann man eine von den anderen Methoden (2, 5, 7, 8) in Anwendung bringen. Man soll sich auch hier nicht auf das Ergebnis einer Probe allein verlassen. Übrigens treten die Reaktionen in den verschiedenen Harnen auch nicht immer gleichmäßig stark und sicher auf; wir müssen bedenken, wie verschieden der Harn zusammengesetzt ist und wie leicht hier eine Beeinflussung der einen oder der anderen Reaktion möglich werden kann.

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.

Bei verschiedenen Reaktionen macht sich die Entfernung der Gallenfarbstoffe aus dem Harne notwendig; man schüttelt zu diesem Zwecke den angesäuerten Harn entweder mit Chloroform oder kocht ihn mit einigen Messerspitzen reinster Tierkohle aus; hiebei ist aber, wie Sahli bemerkt, immer zu bedenken, daß die Kohle auch andere Körper, vielleicht auch diejenigen, auf die zu prüfen ist, aufnehmen könnte; man hat deshalb Kontrollversuche anzustellen.

Quantitative Bestimmung.

1. Bestimmung des Bilirubins nach A. Jolles.[4])

Prinzip.

Bilirubin wird bei Einwirkung alkoholischer Jodlösung in einen grünen Farbstoff übergeführt, wobei auf 1 Mol. Bilirubin annähernd 4 Atome Jod verbraucht werden.

[1]) Mercks Ber. 1905. 11; Pharm. Centrlh. 1907. **48.** 387.
[2]) Zentralbl. inn. Mediz. 1905. **26.** 1097.
[3]) Klin. Wochensch. 1922. **1.** 2034.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **27.** 83.

Nach Jolles wäre die grüne Verbindung Biliverdin; es handelt sich aber nach Thudichum und Munk wohl um ein Substitutionsprodukt und nicht um ein Oxydationsprodukt.

Erforderliche Lösungen.

$^n/_{100}$ Hüblsche Jodlösung. $^n/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung.

Einerseits werden 0,64 g Jod, andererseits 0,8 g Quecksilberchlorid in je 250 ccm 95%igen fuselfreien Alkohols gelöst; letztere Lösung wird, wenn nötig, filtriert; beide Lösungen werden vereinigt. Die Flüssigkeit darf erst nach etwa 10stündigem Stehen in Gebrauch genommen werden. Der Titer der Jodlösung ist immer frisch einzustellen; man bringt 10 ccm der gemischten Jodlösung mit 30 ccm Chloroform, 50 ccm Alkohol, 10 ccm Jodkaliumlösung (1 : 10) und 100 ccm Wasser in einen Kolben und titriert mit der $^n/_{100}$ Thiosulfatlösung nach Zusatz von Stärkelösung; den Titer der Thiosulfatlösung stellt man in der S. 119 angegebenen Weise fest.

Ausführung.

Von gallenfarbstoffreichen Harnen werden 10 ccm, von gallenfarbstoffarmen Harnen 20 ccm genau abgemessen und in einen etwa 200 ccm fassenden Schüttelcylinder gebracht, der am Boden eine birnenförmige Gestalt und ein möglichst kurzes Ausflußrohr besitzt. Zu dem Harne setzt man 20 ccm Chloroform, 10 ccm 10%ige Chlorbariumlösung und 50 ccm Salzsäure (1 : 5) hinzu, schüttelt das Ganze mehrere Minuten kräftig durch und läßt absetzen. 15 ccm von der Chloroformlösung bringt man in einen geeichten Standcylinder (etwa 25 cm Höhe und 3 cm Weite). Die im Ausflußrohre befindlichen zurückgebliebenen Chloroformtropfen läßt man durch Umkehren des Schüttelcylinders und Öffnen des Hahnes zurückfließen. Man bringt weitere 15 ccm Chloroform in den Schüttelcylinder zum Harne, schüttelt kräftig durch, läßt absetzen und hierauf 12 ccm der Chloroformlösung in den Standcylinder abfließen. Nunmehr setzt man von neuem 10 ccm Chloroform hinzu und läßt nach erfolgtem Schütteln und Absetzen 8 ccm der Chloroformlösung abfließen. Nach diesem Vorgange sind alle Gallenfarbstoffe (alles Bilirubin) extrahiert. Man wäscht den Inhalt des Standcylinders, das Chloroform, zweimal mit etwa 30 ccm Salzsäure (1 : 1) aus, um mitgerissene Harnbestandteile zu entfernen, wobei man wiederholt schüttelt, und pipettiert oder hebert beidemal 25 ccm der Salzsäure ab. Der Inhalt des Cylinders wird in eine Stöpselflasche gebracht, der Cylinder noch zweimal mit je 25 ccm Alkohol nachgewaschen und diese Waschflüssigkeit der Hauptmenge zugefügt. Nach dem Zusatze von 10 ccm der Hüblschen Jodlösung schüttelt man etwa 5 Minuten öfters durch, setzt 5—10 ccm einer 10%igen Jodkaliumlösung zu, verdünnt mit ungefähr 100 ccm Wasser und titriert mit der $^1/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung, nachdem man Stärkelösung zugegeben hat, wodurch hier keine Blaufärbung, sondern eine rotbraune Färbung entsteht, unter Umschütteln des Inhaltes der Stöpselflasche, bis die über dem Chloroform stehende rotbraune Flüssigkeit vollkommen entfärbt ist.

1 ccm der $^n/_{100}$ Jodlösung = 0,00144 g Bilirubin.

Die zur Verwendung kommende Salzsäure muß chlorfrei, das Jodkalium jodsäurefrei sein.

Beurteilung.

Eine eingehendere Nachprüfung scheint das Verfahren nicht gefunden zu haben.

2. Klinische Methode zur quantitativen Bestimmung der Gallenfarbstoffe nach J. Bouma.[1])

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Entfernung von Urobilin, auf der Oxydation des Bilirubins zu Biliverdin und auf der Bestimmung des Biliverdins mit Hilfe von Standardlösungen, die aus normalem Harne mit 10—100 mg Biliverdin im Liter hergestellt sind.[2])

Ausführung.

10 ccm sauer reagierenden, frischen, klaren, ikterischen Harnes (alkalischer wird mit Essigsäure angesäuert, neutraler wird ohne weiteres mit Chlorcalciumlösung versetzt und zentrifugiert, trüber Harn wird durch ein kleines Filter filtriert und erst das spätere Filtrat, nicht gleich das erste verwendet) mischt man mit 2 ccm 20%iger Chlorcalciumlösung und stumpft die saure Reaktion mit verdünntem Ammoniak tropfenweise bis zur nahezu neutralen Reaktion ab (man sorge, daß diese nicht alkalisch wird). Nun wird der entstandene Niederschlag abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit, die man auf Urobilin untersuchen kann, abgegossen und der Niederschlag in destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Nachdem wieder zentrifugiert ist, bis der Niederschlag so fest am Boden sitzt, daß man das Waschwasser ganz abgießen kann, wird der Niederschlag in 5 ccm des Reagens (1,5 g festes Eisenchlorid wird in 1 Liter Salzsäure von 1,25 spez. Gewicht gelöst und hievon 1 ccm mit 4 ccm absolutem Alkohol vermischt) aufgenommen und in ein Proberöhrchen gegossen. Man wartet nun, bis die Farbe mit der der Standardröhrchen (Bili

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1904. **30.** 881.

[2]) Der Apparat mit den Standardröhrchen ist bei D. B. Kagenaar in Utrecht zu haben.

verdin) übereinstimmt, stellt es zwischen die, denen es in der Farbenintensität am meisten gleicht und liest den Gehalt an Gallenfarbstoff direkt ab.

Ist der Gehalt größer als 100 mg, dann verdünnt man den zu untersuchenden Harn mit normalem Harne (nicht mit Wasser, um nicht die für die Fällung notwendigen Phosphate zu verringern) und wiederholt die Probe.

Im Anschlusse an die Prüfung des Harnes auf die Gallenfarbstoffe soll die Prüfung auf Gallensäuren angereiht werden, da diese Prüfung manchmal unmittelbar nach der Probe auf die Gallenfarbstoffe ausgeführt zu werden pflegt.

Die ***Gallensäuren*** sind amidartige Verbindungen der stickstofffreien Fellin- und Cholalsäuren mit Glykokoll oder mit Taurin, aus denen sich durch Alkalien oder Säuren die freien Säuren herstellen lassen. Die Paarung der Gallensäuren geht ebenfalls in den Leberzellen vor sich. Genaues über die Herkunft der Gallensäuren wissen wir noch nicht; wahrscheinlich stellen sie Abbaustufen des Cholesterins dar (Abderhalden).

Die Gallensäuren kommen selten im Harne vor; nur bei hepatogenem Ikterus werden sie angetroffen und auch da nur in geringer Menge; jedenfalls werden sie nach dem Übergange ins Blut leicht zerstört.

Eigenschaften.

Die Cholalsäure (Cholsäure) $C_{24}H_{40}O_5$ krystallisiert in mikroskopischen Krystallen und ist schwer löslich in Wasser, leichter löslich in Alkohol und in Äther, sehr leicht in Eisessig; sie schmilzt bei 198° und ist optisch aktiv, rechtsdrehend.

Die Fellinsäure $C_{23}H_{38}O_4$ krystallisiert aus Benzol in glänzenden, rechtwinkeligen Täfelchen; sonst krystallisiert sie nur schwer; der Schmelzpunkt der amorphen Säure liegt bei 142°. Die Existenz dieser von Schotten aus Menschengalle hergestellten Säure ist noch nicht sicher. Lassar-Cohn stellte sie auch aus Menschengalle dar.

Glykocholsäure und Taurocholsäure krystallisieren in farblosen Nadeln; sie kommen in der Rinds- und Hundsgalle vor. Beide Säuren drehen rechts; die spezifische Drehung der ersteren beträgt in alkoholischer Lösung = + 29°, das $[\alpha]_D$ der Taurocholsäure = 24,5°.

Die Gallensäuren geben die Pettenkofersche Reaktion und zeigen in alkoholischer Lösung starke Rechtsdrehung.

Die spezifische Drehung $[\alpha]_D$ für die krystallalkoholhaltige Cholsäure beträgt für Lösungen mit 0,5—2,0% nach E. Vahlen = + 31,5°, für die alkoholfreie + 37,0°, nach F. Pregl = + 35,1°.

Nachweis.

Wegen des auch im normalen Harne vorhandenen Indicans und wegen des normalen Vorkommens geringer Mengen von Kohlenhydraten, von höheren Kohlenwasserstoffen und Säuren der Fett- und Benzolreihe, vor allem wegen der meist im Überschusse vorhandenen Gallen- und Harnfarbstoffe, die eine rötliche Färbung bei der M. Pettenkoferschen Reaktion — einer Furfurolreaktion — veranlassen können, kann der Nachweis von Gallensäuren im ikterischen Harne nicht direkt erfolgen, er ist fast stets aussichtslos. Man muß daher die Gallensäuren aus dem Harne isolieren und mit den isolierten Gallensäuren die Pettenkofersche Reaktion anstellen. Formaldehyd hindert das Eintreten dieser Reaktion, wohl wegen der Einwirkung auf das Furfurol.

1. Man fällt nach Hoppe-Seyler (Plattner) den eiweißfreien Harn (100—200 ccm) mit Bleiessig und Ammoniak, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen mehrmals mit absolutem

Alkohol aus und filtriert die heiße Flüssigkeit. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleis verdampft man auf dem Wasserbade mit einigen Tropfen Sodalösung zur Trockene und kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol. Die auf ein kleines Volumen verdunstete Lösung schüttelt man reichlich mit Äther, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; diese verwandeln sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Krystallnadeln. Man versetzt zur Ausführung der Pettenkoferschen[1]) Reaktion die wässerige Lösung dieser Krystalle oder die wässerige Lösung des Verdampfungsrückstandes von der alkoholischen Lösung mit Soda (oben) mit einigen Tropfen Rohrzuckerlösung (1 : 10) und gibt dann vorsichtig und langsam konzentrierte Schwefelsäure hinzu; man hält die Temperatur auf etwa 60—70°, indem man, wenn nötig, das Reagenzglas in kaltes Wasser hält; es entsteht bei Anwesenheit von Gallensäuren erst eine rote, dann eine sehr schön violettrote Färbung.

Die Probe kann auch als Ringprobe vorgenommen werden.

Die mit Wasser oder Alkohol verdünnte Lösung zeigt im Spektrum einen Streifen zwischen D und E und einen zweiten vor F.

Straßburger läßt einen breiten Papierstreifen in den mit Rohrzucker versetzten Harn eintauchen, trocknen und mit einem Glasstab an mehreren Stellen Schwefelsäuretropfen auftragen. Violette Färbung bei Anwesenheit von Gallensäuren.

Beurteilung.

Die Probe ist nicht ganz einwandfrei. Aceton wirkt störend, d. h. es gibt eine ähnliche Färbung (R. Fritsch).[2]) Nach Fritsch ist die von Jolles angegebene Reaktion empfehlenswert.

2. Ein von J. Bang und Laurin[3]) stammendes Verfahren besitzt vor dem eben angegebenen Verfahren den Vorteil der Zeitersparnis und einer besseren Trennung von den Farbstoffen.

   Es beruht darauf, daß die Gallensäuren durch Sättigen mit Magnesiumsulfat in saurer Lösung quantitativ gefällt werden. Kommen nur Spuren von Gallensäuren vor, was oft der Fall ist, so tritt jedoch nur eine Opalescenz und keine deutliche Fällung ein. Setzt man aber einige Tropfen einer Eiweißlösung, z. B. Serum, hinzu, so reißt der Eiweißniederschlag die Gallensäuren mit.

   20—50 ccm Harn werden mit 2—3 Tropfen Blutserum versetzt und mit Magnesiumsulfat gesättigt. Nach dem Ansäuern mit 1—2 Tropfen Salzsäure erhitzt man die Mischung bis zum Sieden und filtriert. Wenn der Harn stark gefärbt war, wäscht man den Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus, außerdem genügt Trocknen zwischen Fließpapier allein. Schließlich kocht man den Niederschlag mit 10—15 ccm Alkohol, gießt diesen in ein anderes Proberöhrchen, setzt 2—3 Messerspitzen Baryt hinzu und erwärmt wieder bis zum Sieden; nach dem Filtrieren darf die Flüssigkeit nur schwach gelblich gefärbt sein, sonst ist die Barytfällung zu wiederholen. Das Filtrat wird eingedampft und der Rückstand mit 1 Tropfen 1%iger Rohrzuckerlösung und 2—3 ccm konz. Salzsäure versetzt; nach erfolgter Lösung bringt man die Mischung in ein Proberöhrchen und erhitzt. Eine violette Farbenreaktion beweist die Gegenwart von Gallensäuren. Man kann auch mit dem Rückstande die Pettenkofersche Reaktion anstellen.

3. Nach Udránszky[4]) setzt man zu 1 ccm der wässerigen oder alkoholischen Lösung der Gallensäuren 1 Tropfen 0,1%iger wässeriger Furfurollösung, läßt dann 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure zufließen und kühlt ab. Es entsteht selbst bei geringen Mengen von Gallensäuren (Cholsäure) eine schöne pfirsichblütenrote Färbung.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. 1844. **52.** 90.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1910. **49.** 94.
[3]) J. Bang, a. a. O.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 372.

Die Flüssigkeit zeigt zwei Absorptionsstreifen, einen zwischen *D* und *E*, den anderen vor *F*.

4. Auf die Seite 508 angeführte Methode von Haycraft wird verwiesen.

Der Reaktion liegt eine Erniedrigung der durch gallensaure Salze bewirkten Oberflächenspannung zugrunde. H. Müller[1]) macht weitere Angaben; die Schwefelblumen Sulfur. crudum verdienen nach ihm den Vorzug.

Beurteilung.

Diese Methode ist nicht einwandfrei.

5. A. Jolles[2]) benützt als Reagens zum Nachweis eine 5%ige Rhamnoselösung und konz. Salzsäure. 50 ccm Harn werden mit 15 ccm einer 3%igen Caseinlösung gemischt; man setzt tropfenweise 10%ige Schwefelsäure unter fortwährendem Umschütteln so lange zu, bis das Casein vollkommen ausgefällt ist; es sind etwa 0,6—0,8 ccm nötig. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird in ein Bechergläschen gebracht und mit 10 ccm absolutem Alkohol 1 Stunde digeriert. Vom Filtrate werden dann 4—5 ccm in einem Reagenzglase mit 1 Tropfen der Rhamnoselösung und mit 4—5 ccm konz. Salzsäure versetzt und nach dem Erhitzen bis zum Kochen 1 Minute im schwachen Kochen erhalten. Nach dem Erkalten fügt man 2 ccm Äther zu und schüttelt um. Bei Anwesenheit von Gallensäuren bemerkt man eine grüne Fluorescenz. In konzentrierten, indicanreichen, aromatische Oxysäuren reichlicher enthaltenden Harnen ist die Probe weniger empfindlich.

6. K. Inoye und H. Ito[3]) empfehlen eine Farben- und Spektralreaktion der Gallensäuren mit Vanillin und Schwefelsäure.

7. Dragendorff läßt den mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuerten Harn mit Chloroform etwa 1 Stunde lang schütteln, den Chloroformauszug mit absol. Alkohol versetzen, das Chloroform abfiltrieren und die Lösung verdunsten. Mörner entfernt erst aus dem Harne das Kochsalz durch Dialyse und schüttelt dann den Harn nach dem Ansäuern mit 0,1—0,2%ig. Essigsäure mit Chloroform. Der nach einigen Tagen abgesetzte Niederschlag — das im Harne vorhandene kolloidale Eiweiß mit den eiweißfällenden Substanzen, auch der Taurocholsäure — wird nach dem Abfiltrieren in schwachem Ammoniak gelöst und nochmals, wie angegeben, mit Chloroform nach Essigsäurezugabe gefällt. Der wieder in Ammoniak gelöste Niederschlag wird mit 2—3 Vol. Alkohol versetzt und mit Essigsäure gefällt. Die Taurocholsäure ist im Alkohol gelöst; die alkoholische Lösung wird nach dem Filtrieren neutralisiert, eingedampft, der Rückstand mit starkem Alkohol ausgezogen, die Lösung wieder verdunstet, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst und mit Äther gefällt. Der Niederschlag dient zur Anstellung der Pettenkoferschen Reaktion.

Auf ein von Meillère[4]) angegebenes Verfahren — Bestimmung der Oberflächenspannung — und auf stalagmometrische Untersuchungen über die Gallensalze im Urin von A. Gilbert, F. Chabrol und H. Bénard[5]), A. J. Ignatowsky[6]) sei hingewiesen.

Annähernde quantitative Bestimmung.

Man isoliert aus etwa 50 ccm Harn nach 1. die Gallensäuren. Die alkoholische Lösung derselben wird nötigenfalls noch mit Tierkohle entfärbt und polarisiert. Die spezifische Drehung der Cholalsäure ist Seite 510 mitgeteilt. Die spezifische Drehung des glykocholsauren oder taurocholsauren Natrons in Alkohol beträgt + 25,7 (nach F. Letsche + 27,8° bei 13°) oder + 24,5°.

C. *Melanin* (*Phymatorrhusin*). *Melanogen.*

Das Melanin ist kein normaler Harnbestandteil, sondern kommt nur unter pathologischen Verhältnissen, doch ziemlich selten vor — Melanurie.

---

[1]) Schweiz. med. Wochenschr. 1921. **51.** 821.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **57.** 30.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **57.** 313.
[4]) Compt. rend. soc. biol. 1905. **58.** 906.
[5]) Ebenda. 1921. **84.** 65.
[6]) Wien. klin Wochenschr. 1922. **35.** 958.

Der Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, ist entweder gleich nach dem Entleeren dunkel oder nimmt beim Stehen an der Luft von oben nach unten beginnend eine schwarzbraune bis schwarze Färbung an; das Melanin kann sich auch als fester Körper im Sedimente ausscheiden. Im Harne ist das Melanin als Melanogen, das Chromogen des Melanins, das erst durch Oxydation in Melanin übergeführt wird, vorhanden. Nach H. Eppinger[1]) sind Melanin und Melanogen durchaus nicht in jedem Falle von Melanosarkom im Harne vorhanden, sondern zumeist nur dann, wenn zahlreiche Metastasen zu finden sind und wenn diese wohl hauptsächlich ihren Sitz in der Leber haben.

Nach Eppinger entsteht das Melanin aus dem Tryptophan; er fand, was auch schon Thormählen mitteilte, daß in vielen Fällen von Melanurie, aber nicht in allen, der Harn mit Nitroprussidnatriumlösung und Kalilauge versetzt eine tief violettrote Färbung zeigt; beim Ansäuern entsteht eine tiefblaue Farbe. Indol gibt jedoch die gleiche Reaktion. Auch positive Diazoreaktion wurde beobachtet; die Rotfärbung trat oft schon ohne Zusatz von Ammoniak ein.

Mit dem Blutfarbstoff hat das Melanin nichts zu tun; nach O. v. Fürth[2]) dürfte das Wesen der Melaninbildung in der Abspaltung cyklischer Komplexe aus dem Eiweißmolekül und der fermentativen Oxydation richtig erfaßt 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, die 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 diese Farbstoffe aber nicht.

Adler[3]) kocht den Bleisulfidniederschlag mit Alkohol und Pyridin aus und behandelt den Niederschlag zum Lösen des Melanins mit Natronlauge; dieses fällt man mit Salzsäure und reinigt es durch Zentrifugieren. Eppinger hat zur Isolierung des Melanogens den Harn mit einer 10% Schwefelsäure enthaltenden 10%igen Quecksilberoxydsulfatlösung ausgefällt, den Niederschlag, der mehrmals mit frischer schwefelsaurer Quecksilbersulfatlösung gewaschen war, nach dem Trocknen auf Tonplatten in Wasser verteilt, mit aufgeschwemmtem Bariumcarbonat versetzt, bis Kongopapier nicht mehr gebläut wurde und dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt; dieser wurde durch Kohlensäure entfernt und das Filtrat im Vakuum unter Durchleiten von Wasserstoffgas konzentriert; mit der konz. Lösung wurden die Reaktionen angestellt. Es ist zweckmäßig, die Reinigung in der angegebenen Weise zu

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. **28.** 181.
[2]) Probleme der physiol. u. patholog. Chem. F. C. W. Vogel, Leipzig 1912.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1910. **36.** 1890.

wiederholen; man erhält schließlich nach dem Eindampfen Krystalle. Eppinger stellte noch weitere Reinigungsversuche an, er fand, daß wohl eine N-Methylpyrrolidinoxycarbonsäure vorhanden ist.

Nachweis.

1. Beim Ansäuern von Harn mit verdünnter Schwefelsäure und nach dem Zusatze von Eisenchlorid (v. Jaksch), oder von Kaliumdichromatlösung zum Harne oder mit Salpetersäure (Eiselt) behandelt, entsteht bei Anwesenheit von Melanin dunkle Färbung. Durch Reduktionsmittel (Zinkstaub und Salzsäure) wird wieder Entfärbung bewirkt.

   O. Adler[1]) schüttelt den aus Harn (100 ccm + 1 Tropfen Essigsäure) mit neutraler Bleiacetatlösung erhaltenen und mit verdünnter Bleiacetatlösung gewaschenen Bleiniederschlag mit Wasser, zersetzt ihn mit Schwefelwasserstoff, treibt diesen durch einen Luftstrom im Filtrate aus und versetzt dann 2 ccm des Filtrates mit 1 Tropfen Ferrichlorid, 3 ccm Eisessig und 1—2 ccm konz. Schwefelsäure. Es tritt Violettfärbung ein. Spektroskopisch zeigt das Filtrat ein Band an der *D*-Linie.

2. Beim Zusatze von Bromwasser und Schwefelsäure (Zeller) oder von Chlorwasser tritt auch eine Färbung ein; 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.

D. *Leubes Farbstoff.*

Aus einem pathologischen, dunkelviolett gewordenen Harne wurde der Farbstoff durch Äther isoliert, der ihn mit der gleichen Farbe aufnahm. In Alkali war der Farbstoff löslich (Unterschied vom Indigorot). Die alkoholische Lösung wurde durch Zinkstaub entfärbt, an der Luft aber wieder violett.

E. *Thormälens*[2]) *Farbstoff.*

Dieser Farbstoff wurde im Harne einer an Leber- und Milztumor Leidenden und in drei anderen sehr indicanreichen Harnen vorgefunden. Der Harn war dunkelbraun, bei der Indicanprobe trat starke Rotfärbung auf; die Legalsche Acetonprobe (S. 112) ergab nach dem Ansäuern mit Essigsäure sehr schöne Blaufärbung. Aus dem Bleiessigniederschlage erhielt man die Substanz nach dem Zersetzen mit Natriumcarbonat. Sie löste sich in Alkohol, Glycerin, nicht in Chloroform, Benzol, wenig in heißem Äther.

Nach L. C. Maillard sind die von Leube, J. Thormälen, Otto Brieger, Mester u. a. beschriebenen Farbstoffe jedenfalls unreine, zum Teil Indirubin enthaltende Produkte; diese Ansicht Maillards wird auch von Porcher und Hervieux bestätigt.

III. Harnfarbstoffe, durch Einwirkung von Arzneien gebildet (S. 5 und bei Arzneien).

---

[1]) Zeitschr. f. Krebsforsch. 1912. **11.** 1; Chem. Centralbl. 1912. **83.** 840.
[2]) Virchows Archiv 1887. **108.** 313.

37. *Cholesterin.* $C_{27}H_{45}\cdot OH$.

Das Cholesterin kann sich in allen Zuständen, die einen reichlichen Gehalt an Fett bedingen (bei Chylurie, bei Lipurie, bei amyloider und fettiger Degeneration der Niere) finden; man sieht es dann bisweilen auf der Harnoberfläche schwimmend, auch im Sedimente in dünnen, rhombischen, glänzenden Tafeln.

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 Methoden (S. 130). Der Rückstand enthält neben Fett auch Cholesterin und Lecithin; um das Cholesterin von seinen Begleitern zu trennen, löst man den Rückstand in warmem Alkohol, gibt etwas alkoholische Kalilauge hinzu und erhitzt $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler; hiedurch wird das Fett verseift und das Lecithin gespalten (in Cholin, Glycerinphosphorsäure und Stearinsäure). Man verdunstet die Lösung, löst die gebildete Seife in Wasser und schüttelt die Seifenlösung mit Äther aus. Den Ätherrückstand löst man 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 wägt.

A. Windaus[1]) empfiehlt zur quantitativen Bestimmung die Herstellung des Digitonincholesterids.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Das Cholesterin krystallisiert aus heißem Alkohol mit 1 Mol. Wasser in großen rhombischen Tafeln (Fig. 70). Cholesterin ist unlöslich in Wasser, in Alkalien oder Säuren, auch in kaltem Alkohol, leicht löslich in heißem Alkohol, in Äther, Petroläther, Chloroform. Der Schmelzpunkt des wasserfreien Cholesterins liegt bei 145—146°. Es ist optisch aktiv, linksdrehend; $[\alpha]_D$ in ätherischer Lösung etwa $-31°$.

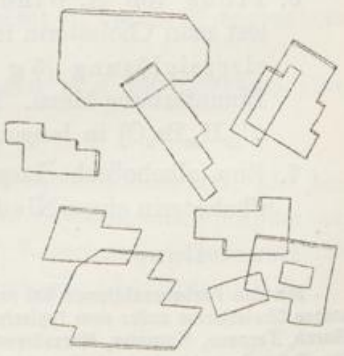


Fig. 70. 350fache Vergrößerung.

Nachweis.

1. Mikroskopische Prüfung.
2. Beim Behandeln mit fast konzentrierter Schwefelsäure (5 Teile Schwefelsäure konzentriert, 1 Teil Wasser) entstehen rote und blaue Substanzen (Cholesteriline). Man behandelt die Krystalle auf dem Objektträger mit konzentrierter Schwefelsäure; die Ränder färben

[1]) Archiv Pharm. 1908. **246.** 122; Berl. Ber. 1909. **42.** 238.

sich schön karminrot; mit Jod in wässeriger Lösung (Lugolscher Lösung, 1,2 g Jod, 1,8 g Jodkali zu 30 Teilen Wasser) behandelt, entstehen nacheinander violette, grüne, blaue Farben (prächtiges Bild). (J. Moleschott.)[1])

3. Löst man etwas Cholesterin in Chloroform und setzt das gleiche Volumen konzentrierter Schwefelsäure (oder besser Schwefelsäure vom spez. Gew. 1,76) 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 sich die Lösung durch Anziehen von Wasser aus der Luft schnell blau, dann grün, endlich gelb (O. Hesse[2]), E. Salkowski).[3])
4. Man löst etwas Cholesterin durch Schütteln oder gelindes Erwärmen in wenig (etwa 1 ccm) Essigsäureanhydrid und fügt unter Abkühlen tropfenweise konzentrierte Schwefelsäure hinzu; die zuerst auftretende rosenrote Farbe verschwindet und es entsteht eine schöne blaue, später grüne Farbe (C. Liebermann[4]), H. Burchard).[5])
5. Zur alkoholischen Cholesterinlösung setzt man einige Tropfen Methylfurfurolwasser oder ein Körnchen Rhamnose (Methylpentose) und nun vorsichtig einige Kubikzentimeter konz. Schwefelsäure. An der Berührungsstelle entsteht ein himbeerfarbiger Ring, der sich beim Schütteln verbreitert (C. Neuberg und Dora Rauchwerger).[6])

Beurteilung.

Gallensäuren geben diese Reaktion auch; Unterschiede S. 510. Rechtsdrehung.

6. Probe von A. Windaus.[7]) In einem trockenen Probierröhrchen löst man Cholesterin in möglichst wenig Äther und fügt eine Bromeisessiglösung (5 g Brom + 100 g Eisessig) bis zur bleibenden Braunfärbung hinzu. Es krystallisiert alsbald Cholesterindibromid ($C_{27}H_{46}Br_2O$) in langen Nadeln vom Schmelzpunkte 124—125° aus.
7. Eine alkoholische Lösung von Digitonin gibt mit einer solchen von Cholesterin einen Niederschlag von feinen Nadeln (A. Windaus).

Beurteilung.

Mit den Farbenreaktionen hat man mit seinen Schlußfolgerungen vorsichtig zu sein, da auch andere Cholesterine außer dem typischen, dann viele ungesättigte hochmolekulare Alkohole, Gallensäuren, Terpene, Kampfer, Harzsäuren die „Cholesterinreaktion" geben. Man bestimmt am besten den Schmelzpunkt des erhaltenen, mehrmals umkristallisierten Cholesterins oder auch den des Cholesterindibromids nach Windaus.

---

[1]) Wien. med. Wochenschr. 1855. **5.** 129.
[2]) Ann. Chem. Pharm. 1882. **211.** 284.
[3]) Archiv Physiol. 1872. **6.** 207.
[4]) Berl. Ber. 1885. **18.** 1804.
[5]) Jahresber. Fortschr. d. Tierchem. 1889. **18.** 85.
[6]) Festschrift f. E. Salkowski 1904. 279; Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **47.** 335.
[7]) Chem. Ztg. 1906. **30.** 1011.

38. Glycerinphosphorsäure. $C_3H_5(OH)_2OPO(OH)_2$.

Diese findet sich allerdings in sehr geringer Menge im normalen Harne und scheint als ein Zersetzungsprodukt des Lecithins aufzufassen zu sein, aus dem sie bei der Bereitung des Harnes entsteht. Die organisch gebundene Phosphorsäure beträgt ungefähr 1% der anorganisch gebundenen; ob es sich bei der organisch gebundenen Phosphorsäure um Glycerinphosphorsäure handelt, ist noch unsicher.

Darstellung und Nachweis.

Man fällt etwa 10 Liter Harn mit Barytwasser, filtriert und entfernt durch Einleiten von Kohlensäure den im Überschusse vorhandenen 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—48stündigem Stehen entstandener Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia zeigt die Anwesenheit der aus der Glycerinphosphorsäure abgespaltenen Phosphorsäure an.

Die vom Niederschlage (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 Acrolein entwickelt.

Quantitative Bestimmung.

Man schmilzt den glycerinphosphorsauren Baryt, wie oben angegeben gewonnen, mit Soda und Salpeter und bestimmt in der S. 97 angegebenen Weise die Phosphorsäure.

Für die quantitative Bestimmung verwendet man 250—500 ccm Harn.

Eigenschaften.

Die Glycerinphosphorsäure bildet eine sirupöse Flüssigkeit, die beim Kochen mit Wasser, mit Säuren und Alkalien in Glycerin und Phosphorsäure zerfällt. Die Kalk- und Barytsalze sind löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol; durch essigsaures Blei wird die Glycerinphosphorsäure gefällt.

39. *Lecithin.* $C_{42}H_{86}NPO_9$.

Das Lecithin ist als eine esterartige Verbindung von Cholin mit Glycerinphosphorsäure aufzufassen, die mit Stearinsäure und Palmitinsäure zu einem Glyceride verbunden ist:

$$C_3H_5\begin{cases} O\cdot C_{18}H_{35}O \\ O\cdot C_{16}H_{31}O \\ O\cdot PO\cdot(OH)\cdot O\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot N(CH_3)_3\cdot OH \end{cases}$$

Die nach S. 130 hergestellte ätherische Lösung wird mit Wasser gut ausgeschüttelt, um alle Phosphorsäure zu entfernen, der Ätherrrückstand 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 Ammonium die Phosphorsäure nach.

Alle Reagenzien müssen frei von Phosphorsäure sein.

Eigenschaften.

Das Lecithin bildet eine wachsähnliche, in Alkohol, Äther und in 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), in Glycerinphosphorsäure und in Cholin.

40. *Giftiger Harn. Ptomaine. Diamine.*

Es ist festgestellt, daß normaler Harn schon mehr oder weniger giftig sein kann; der Harn Fiebernder, an infektiösen und anderen Krankheiten Erkrankter, zeigt diese Giftwirkung in höherem Maße. Nach Ravul Bayeux[1]) zeigte der Harn in großer Höhe (Mont Blanc) die größte Giftigkeit.

Über die Ursache der Giftwirkung des Harnes sind die Meinungen verschieden, sie ist noch nicht aufgeklärt. Es ist verständlich, daß im normalen Harne vorhandene Stoffe, Umwandlungsprodukte der Eiweißstoffe und dergleichen, auf den Tierkörper mehr oder weniger beeinflussend einwirken können und daß Störungen im Organismus (Krankheiten) die Bildung der sonst normalen Ausscheidungsprodukte noch weiter beeinflussen werden.

Es ist wohl anzunehmen, daß die Giftigkeit des Harnes, wie auch die Autointoxikation des Organismus (Urämie u. dergl.) auf die Wirkung gewisser stickstoffhaltiger Produkte beim Eiweißzerfall (Ptomaine) oder auf Toxine vom Typus eines Antigens zurückzuführen sein werden, die nur teilweise bekannt sein dürften.

Die frühere Annahme, daß die Kalisalze die Träger der Giftwirkung sein könnten, hat sich nicht bestätigt.

Die verschiedenen Ansichten über die Ursache der Giftwirkung des Harnes können hier nicht eingehend erörtert werden.

Als Koeffizient der Toxizität des Harnes oder der Fähigkeit der Nieren, Gifte aus dem Blute auszuscheiden, wurde eine Zeitlang der urotoxische Koeffizient Bouchards angesehen, d. h. die Bestimmung der minimalen für ein Kaninchen tödlichen und auf 1 kg desselben berechneten Harnmenge. (Der Koeffizient normalen Harnes = 20—35 g für einen erwachsenen Menschen, bei Berechnung auf 1 kg Gewicht eines Kaninchens = 0,465.) (Serkowski.) Die Ansicht von Bouchard wurde durch die Ergebnisse der Forschung anderer Arbeiten aber nicht bestätigt.

---

[1]) Compt. rend. d. l. Acad. scienc. 1919. **169.** 1179; Chem. Centralbl. 1920. **91.** I. 311.

Dagegen ist die Tatsache bemerkenswert und festgestellt, daß in erster Linie die osmotischen Druckdifferenzen zwischen Harn und Blut von ausschlaggebender Bedeutung sind; Harn, der vor der Injektion bis zur Isotonie verdünnt wurde, verlor seine toxischen Eigenschaften.

Bei Personen, die an Cystinurie leiden, konnten im Harne Körper aufgefunden werden, die zur Gruppe der Ptomaine gerechnet werden.

L. Brieger, E. Roos u. a. haben auch bei Cholera und Cholerine solche Ptomaine nachweisen können.

Zu diesen Ptomainen, Diaminen gehören das Trimethylamin, das in faulendem Harne, das Tetramethylendiamin oder Putrescin ($C_4H_{12}N_2$) und das Pentamethylendiamin oder Cadaverin ($C_5H_{14}N_2$), die beide im Harne von Personen, die an Cystinurie litten, aufgefunden wurden.

Das Putrescin und das Cadaverin sind Zersetzungsprodukte von Eiweiß. Durch Spaltung der Eiweißkörper mit Säuren kann Arginin erhalten werden, das bei der Einwirkung von Barythydrat Harnstoff und Ornithin bildet; das letztere, die Diamidovaleriansäure, zerfällt durch Bakterienwirkung in Kohlensäure und in Putrescin. Ein weiteres Spaltungsprodukt der Eiweißkörper, das Lysin (α-ε-Diamidocapronsäure), geht durch die gleiche Einwirkung in Cadaverin über.

Auch eine Reihe anderer Basen, zum Teil unbekannter Natur, wurden aus dem Harne gewonnen, die sich als giftig erwiesen.

Für die Harnuntersuchung kommen, und auch da nur ausnahmsweise, die erwähnten näher studierten Basen, das Cadaverin und das Putrescin, in Betracht, da diese beiden Begleiter der Cystinurie sein können.

Darstellung und Nachweis.

1. Hiezu findet am besten die von L. v. Udránszky und E. Baumann[1]) empfohlene Methode Anwendung.

1 1/2 Liter (die Tagesmenge) Harn werden mit 200 ccm 10%iger Natronlauge und 20—25 ccm Benzoylchlorid geschüttelt, bis der Benzoylgeruch verschwunden ist. Penta- und Tetramethylendiamin werden zum größten Teile als Dibenzoylverbindungen neben unlöslichen Phosphaten und Benzoylverbindungen normaler Kohlenhydrate abgeschieden. Der abfiltrierte Niederschlag wird in warmem Weingeist gelöst, die konzentrierte Lösung in etwa das 30fache Volumen kalten Wassers gegossen, der Niederschlag (Dibenzoylbasen) nach mehrtägigem Stehen von der milchig trüben Flüssigkeit abfiltriert und, bis das Filtrat klar abläuft, gut ausgewaschen. Der vom Benzoylniederschlage abfiltrierte Harn, sowie das Filtrat von dem Dibenzoylbasen-Niederschlage 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%iger Natronlauge im Überschusse versetzt und in der Kälte (Eis-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1889. **13.** 564.

schrank) auskrystallisieren gelassen. 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; die Lösung wird in das 20fache Volumen Äther gegossen. Die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins krystallisiert aus, die des Cadaverins bleibt in Lösung. Man krystallisiert beide aus Alkohol um.

Benzoylpentamethylendiamin (Benzoylcadaverin), $C_5H_{10}(NH \cdot COC_6H_5)_2$; $N = 9{,}03\,\%$; Schmelzpunkt 130°.

Benzoyltetramethylendiamin (Benzoylputrescin), $C_4H_8(NH \cdot COC_6H_5)_2$; $N = 9{,}46\,\%$; Schmelzpunkt 175—176°.

2. A. B. Griffiths[1]), der Ptomaine aus dem Harne isolierte, die sich bei einigen infektiösen Krankheiten fanden, befolgte zur Isolierung dieser Ptomaine nachstehendes Verfahren.

Der mit wenig Natriumcarbonat 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 Alkalischmachen mit Soda mit dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung verdunstet; die Ptomaine blieben als Rückstand.

A. Loewy und C. Neuberg[2]) haben ebenfalls ein Verfahren zur Isolierung und zur quantitativen Bestimmung der beiden Basen angegeben; hier werden die Phenylisocyanatverbindungen hergestellt.

Eigenschaften.

Die beiden Ptomaine bilden farblose Flüssigkeiten mit 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 freien Basen, wie die Chloride geben mit den gebräuchlichen Alkaloidreagenzien Niederschläge. Charakteristisch sind die Dibenzoylverbindungen, die krystallisieren.

Das Trimethylamin soll sich nach den Forschungen von de Filippi[3]) als normaler Bestandteil des Harnes vorfinden. Nach Takeda[4]) ist es zweifelhaft, ob das Trimethylamin präformiert im Harne vorhanden ist, es könnte auch durch Zersetzung anderer Stoffe entstanden sein. Letzterer gibt einen Nachweis, Filippi eine Methode zur quantitativen Bestimmung an.

41. Lösliche Fermente oder Enzyme.

Im frischen Menschenharne sind Enzyme mit den gleichen Eigenschaften vorhanden, wie die von den Körperorganen abgesonderten. Normale Harn-

[1]) Compt. rend. 1891. **113.** 656; 1893. **116.** 1206.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **43.** 352.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **49.** 433.
[4]) Archiv Physiol. 1909. **129.** 82.

bestandteile sind Pepsin und Diastase; Trypsin kommt nur unter bestimmten Verhältnissen vor. Das Vorkommen eines Labfermentes wurde beobachtet (Grützner); ob fettspaltende Enzyme vorkommen können, ist nicht sichergestellt; Lipase soll bisweilen mit dem Harne ausgeschieden werden.

Ob eine Bedeutung und welche den Fermenten zukommt, ob sie physiologische Funktionen ausüben, ist nicht bekannt, jedenfalls handelt es sich um Produkte, deren Ausscheidung von verschiedenen Einflüssen — Erzeugung der Fermente, Fermentgehalt des Blutes, Störungen der Tätigkeit der Organe, Nieren usw. — abhängig oder bedingt sein wird.

I. Harnpepsin.

Die Menge des Pepsins, das sich im Harne der Fleischfresser regelmäßig vorfindet, ist veränderlich; sie ist nur eine geringe; im Morgenharne wurde eine weit größere Menge vorgefunden, als im Nachmittagsharne. Die Quelle des Harnpepsins ist die Magenschleimhaut. Die Anschauung von Grützner, F. Gehrig, dann von A. Ellinger und H. Scholz[1]), daß das peptische Ferment in der Hauptsache von dem aus der Magenschleimhaut ins Blut übergegangenen Propepsin stammt, scheint sehr wahrscheinlich zu sein. E. Fuld und K. Hirayama[2]) nehmen an, daß das Pepsin im Harne als Zymogen vorhanden ist, das durch die Einwirkung von Säure in aktives Pepsin verwandelt wird.

Bei Diabetes soll die Harnpepsinmenge vermehrt sein; eine Verminderung soll eintreten bei Magencarcinom, Ulcus ventriculi, Phtise, Achylie und Typhus; in vorgeschrittenen Fällen von Magencarcinom kann sie sehr gering sein, oft soll gar kein Pepsin mehr vorhanden sein.

1. Nachweis durch Fibrin.

Etwa 30 ccm frischer Harn wird mit einer gekochten Fibrinflocke — man wäscht Rinderblutfibrin mit Wasser aus und kocht zur Zerstörung etwa vorhandener Enzyme das Fibrin in Wasser — versehen und das Ganze nach Zugabe von etwas Toluol etwa 3 Stunden im Eisschranke belassen; es wird auch empfohlen, durch den frischen Harn nach dem Hinzugeben einiger gekochter Fibrinflocken einen schwachen Luftstrom (mit Hilfe eines Aspirators) zu leiten, um das Fibrin mit dem Enzyme in möglichste Berührung zu bringen; man kann auch dem Harne (200—500 ccm) durch eintägiges Digerieren mit etwas gekochtem, feinverteiltem Fibrin die Fermente entziehen.

Die auf die eine oder die andere Weise mit dem Enzyme angereicherten Fibrinflocken wäscht man aus und bringt sie in etwa 20 ccm einer 0,2%igen Salzsäurelösung; diese läßt man etwa 16—24 Stunden im Brutschranke bei 37—40° stehen; nach dieser Zeit wird das Fibrin ganz oder zum Teile verdaut sein, die Flüssigkeit ist mehr oder weniger

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1910. **57.** 1845; Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1910. **99.** 221.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. **47.** 1062.

trüb, opalisierend und gibt die Biuretreaktion. Im Kontrollversuche mit gekochtem Harne ist die Flocke bloß gequollen, die darüber stehende Flüssigkeit klar, die Biuretreaktion negativ.

Beurteilung.

Das Verfahren zu einer annähernden quantitativen kolorimetrischen Bestimmung zu verwenden, wie von Grützner vorgeschlagen (— es wurde Carminfibrin verwendet, dessen Farbstoff in derselben Menge frei werden und die Flüssigkeit färben soll, als Fibrin zur Auflösung kommt —), ist nicht möglich, da Harne nur eine niedrige Pepsinkonzentration besitzen; wichtig ist die Harnreaktion; wenn sich diese der alkalischen Reaktion nähert oder alkalischer Harn vorliegt, kann das Verfahren im Stiche lassen.

2. Nachweis durch das Caseinverfahren.

Das von O. Gross[1]) ausgearbeitete Verfahren hat Brodzki[2]) für die Verhältnisse im Harne umgestaltet.

1 g (ganz genau gewogen) Casein wird zu 25 ccm saurem, gut gemischtem Harne, der mit 20 ccm Wasser verdünnt ist, zugesetzt, dazu werden noch 2 ccm $^n/_1$ Salzsäure und 1 ccm Toluol gegeben; das Kölbchen wird für 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° eingestellt. In gleicher Weise wird vorher abgekochter Harn behandelt.

Nach dieser Zeit versetzt man die 2 Proben zunächst mit etwa 5 g Natriumchlorid, neutralisiert sie mit Normallauge und erwärmt bis zu etwa 70°; das nicht verdaute Casein fällt man durch tropfenweisen Zusatz von 1 ccm Eisessig unter Schütteln aus, erwärmt noch kurze Zeit im Wasserbade (zum besseren Zusammenballen) und filtriert durch ein Faltenfilter. Die Filtrate füllt man mit Wasser zu 50 ccm auf und bestimmt in 10 ccm (= 5 ccm Urin) den Stickstoff nach Kjeldahl. Die Differenz zwischen der eigentlichen Probe und der Kontrollprobe ergibt ein Maß für die vorhandenen Fermente.

Ellinger und Scholz[3]) vereinfachten den Nachweis.

Erforderliche Lösungen:

1. 1 g Casein in 1000 ccm Wasser, das 16 ccm 25%iger Salzsäure enthält. Man verreibt das Casein in einer Schale mit Salzsäure, gibt Wasser hinzu und erhitzt 1 Stunde im kochenden Wasserbade.
2. Eine gesättigte Natriumacetatlösung.

Es werden 6 Röhren mit je 10 ccm der Lösung 1 und dann mit 0,1 ccm, 0,5, 1,0, 2,0 usw. mit Harn beschickt; mit gekochtem Harne wird auf 12 ccm aufgefüllt; die Röhrchen werden $1\,^1/_4$—$1\,^1/_2$ Stunden bei 40° gehalten. Die Prüfung auf stattgefundene Verdauung geschieht durch Zusatz von je $^1/_2$ ccm der Natriumacetatlösung, durch die nur das unverdaute Casein, nicht die Verdauungsprodukte gefällt werden. Es kann dann festgestellt werden, ob eine Harnmenge das Casein ganz oder wenig oder gar nicht verändert.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1908. **45.** 643.
[2]) Zeitschr. klin. Mediz. 1907. **63.** 537.
[3]) a. a. O.

3. Das Ricinverfahren.

Die Jacoby-Solmssche Ricinmethode hat G. Wilenko[1]) für die Zwecke der Pepsinbestimmung im Harne in Anwendung gezogen.

Lösung.

1 g Ricin wird in 100 ccm einer 0,5%igen Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann filtriert.

Von der 24stündigen Harnmenge — der Harn muß eiweißfrei sein — wird ein Teil mit starker Salzsäure tropfenweise versetzt, bis Kongopapier beginnende Blaufärbung anzeigt. Ein Teil des Harnes wurde aufgekocht und dann wieder abgekühlt.

In 5 gleiche Reagenzgläser bringt man je 0,5 ccm der Ricinlösung, in 4 je 0,3 ccm $^n/_{10}$ Salzsäure, in das fünfte 0,5 ccm $^n/_{10}$ Salzsäure. Nun wird der gekochte Urin, zur gleichmäßigen Verdünnung dienend, in die Röhrchen gefüllt und zwar in eines der Röhrchen — Kontrollröhrchen — 1,0 ccm des gekochten Harnes, in ein zweites 0,8, in ein drittes 0,5 ccm gekochten Urins. Hierauf füllt man den auf seine Pepsinwirkung zu prüfenden ungekochten Urin ein; das Kontrollröhrchen wird übergangen, in das Röhrchen mit 0,8 ccm gekochtem Urin kommt 0,2 ccm Urin, in das mit 0,5 ccm gekochtem Urin 0,5 ccm Urin. In die noch übrigen beiden Röhrchen mit 0,3 und mit 0,5 ccm Salzsäure füllt man 1 ccm und 2 ccm des ungekochten Urins.

Nr. In allen Proben je 0,5 ccm Ricinlösung	n/10 HCl in ccm	Gekochter Urin in ccm	Ungekochter Urin in ccm	
I	0,3	1,0	—	Kontrolle
II	0,3	0,8	0,2	
III	0,3	0,5	0,5	
IV	0,3	—	1,0	
V	0,5	—	2,0	

Die mit Stopfen versehenen Röhrchen werden bei 37° in den Brutschrank gestellt und nach 6 Stunden geprüft. Das Röhrchen, in dem die Ricintrübung bis auf Spuren aufgehellt ist, dient als Maßstab für die Berechnung der Pepsinwirkung des Harnes; nach Wilenko wird der Wirkungsgrad in Einheiten ausgedrückt. Wenn z. B. 1 ccm Urin die Menge ist, welche gerade die Ricinlösung aufhellt, so würde 1 ccm eine Einheit darstellen; beträgt die 24stündige Tagesmenge 2000 ccm, so würde die tägliche Pepsinwirkung des Harnes 2000 Einheiten ausmachen; zur größeren Genauigkeit können die zu untersuchenden Urinmengen noch feiner abgestuft werden; also nach Mengen zwischen 1,0—2 ccm.

Hochgestellte Urine sind zum Ausschließen der störenden Salzwirkung vor der Untersuchung mit Wasser zu verdünnen.

Ellinger und Scholz haben auch dieses Verfahren abgeändert.

[1]) Berlin. klin. Wochenschr. 1908. 45. 1060.

Man beschickt 5 Reagenzgläser mit je 2 ccm der klaren Ricinlösung, erhalten durch Behandeln von 1 g Ricinpräparat in 100 ccm 5%iger Kochsalzlösung und Filtration, fügt zu jedem Röhrchen 0,5 ccm $^n/_{10}$ HCl, worauf eine dichte Trübung entsteht. Dann werden fallende Mengen des unverdünnten Urins zugesetzt: 2, 1, $^1/_2$, $^1/_4$, 0 ccm. Mit gekochtem Harne werden sämtliche Proben auf das Gesamtvolumen von $4\,^1/_2$ ccm ergänzt. Nach 18—24stündigem Stehen im Brutschranke bei 37° liest man ab.

4. Das Edestinverfahren.

Von E. Fuld und K. Hirayama (a. a. O.) wurde die Fuldsche Edestinprobe auf den Harn angewendet.

Vom gesamten Tagesharne werden 9 ccm genommen und mit 1 ccm $^n/_1$ Salzsäure angesäuert; fallende Mengen zwischen 2 ccm und 0,2 ccm davon werden in kleine Reagenzröhrchen gebracht und dazu 2 ccm der 1‰igen Edestinlösung. Diese wird so hergestellt, daß 1 g Edestinpulver in 1000 Teilen Wasser, das 30 ccm Normalsalzsäure enthält, aufgelöst, aufgekocht und unter Toluol verwahrt wird. Die Röhrchen bleiben bei 40° eine Stunde im Wasserbade, werden dann in kaltem Wasser abgekühlt und mit je 6—9 Tropfen einer gesättigten Kochsalzlösung versetzt. Man beobachtet, welche Proben getrübt werden und berechnet den Pepsingehalt des Harnes nach der geringsten Urinmenge, bei der keine Trübung eintritt.

II. *Harndiastase.*

Die Diastase (das diastatische, amylolytische Ferment) kommt im Harne ebenfalls in wechselnden Mengen vor; nach der Hauptmahlzeit ist sie am größten, unmittelbar vor der Mahlzeit am geringsten, im Hungerzustande ist sie fast verschwindend. Vom Manne soll mehr Diastase ausgeschieden werden, als vom Weibe.

Untersuchungen im Bereiche der menschlichen Pathologie ergeben wenig übereinstimmende Werte. Bei schwerem Diabetes soll die Menge gering, beim Verschlusse der Pankreasausführungsgänge eine hohe sein.

Nach J. Bang[1]), F. Falk und H. Eppinger[2]) besitzt die Diastase kaum irgendwelche diagnostische Bedeutung.

Nachweis und Bestimmung.

Der Nachweis erfolgt durch die Eigenschaft der Diastase, Stärke abzubauen (Verschwinden der Jodreaktion).

J. Wohlgemuth[3]), der diese Prüfung auch für die funktionelle Nierendiagnostik empfiehlt, verfährt in nachstehender Weise. (Klopstock-Kowarsky.) Zwei Reihen von je zehn numerierten Reagenzgläsern werden mit absteigenden Mengen Urin (bei der Nierenprüfung von jeder Niere) in

[1]) a. a. O.
[2]) Neubauer-Hupperts Lehrbuch der Harnanalyse. F. W. Kreidel, Wiesbaden 1913.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. Nr. 31; Zeitschr. Biolog. 1909. 21. 432.

der Weise beschickt, daß ins erste Gläschen 0,5 ccm, ins zweite 0,4, ins dritte 0,3, ins vierte 0,2, ins fünfte 0,1, ins sechste 0,9 des nun zehnfach verdünnten Urins, ins siebente 0,8 usw. kommen. Dann wird jedes Reagenzglas mit 1 %iger Kochsalzlösung bis zu 1 ccm aufgefüllt; zu jedem Gläschen werden nun 2 ccm einer 1 ‰ Stärkelösung (Kahlbaums lösliche Stärke) hinzugefügt. Nun kommen sämtliche Röhrchen in ein Wasserbad von 38° — man bedient sich sehr zweckmäßig des Reischauerschen Sternes — und bleiben darin 30 Minuten; nach dem Abkühlen in kaltem Wasser setzt man zu dem Inhalte eines jeden Glases 1—2 Tropfen $^n/_{50}$ Jodlösung und rührt um. Die vollständig abgebaute Stärke enthaltenden Röhrchen nehmen eine gelbe oder rotbraune Farbe an, die unveränderte Stärke enthaltenden werden blaurot oder blau. Das erste in der Reihe blaurot gefärbte Gläschen gilt als unterste Grenze der Wirksamkeit und als „limes".

Bei der Berechnung wird festgestellt, wieviel Stärkelösung durch 1 ccm Urin in der Versuchsdauer abgebaut wird; als Maß der Fermentwirkung gilt nicht das Limesröhrchen, sondern das nächst höhere. Wurde z. B. das neunte Röhrchen blaurot, so wird für die Berechnung das achte (0,07 Urin) genommen — Fermentmenge $x = \frac{2}{0{,}07} = 28{,}5$ Fermenteinheiten. Beim Menschen soll der Diastasewert nach Wohlgemuth in der Norm D $\frac{38^0}{24^h} = 156$ nicht übersteigen.

E. Müller[1]) gibt zum Nachweise der Diastase im Harne ein Verfahren mit Hilfe von Stärkekleisterplatten an.

III. *Harntrypsin und Antitrypsin.*

Ob ein tryptisches Enzym im Harne vorhanden ist, scheint noch nicht sicher entschieden zu sein. In pathologischen Fällen soll es bisweilen beobachtet worden sein.

Zum Nachweise sind die Fibrinflocken- und die Caseinmethode empfohlen nur mit dem Unterschiede, daß statt der dort verwendeten Salzsäure die entsprechend konzentrierte Sodalösung in Anwendung kommt.

IV. *Labferment.*

Auch hier decken sich die Angaben über die Anwesenheit von Lab nicht.

F. Helwes[2]) gibt zum Nachweise folgendes Verfahren an.

Man bringt 5 ccm frische Milch, 1 ccm 0,6 %ige Salzsäure und 5 ccm Harn zusammen; die Milch gerinnt bei Körpertemperatur in wenigen Minuten, wenn Labferment vorhanden ist. Zur Kontrolle dient gekochter Harn; hier darf keine Gerinnung erfolgen.

E. Fuld und K. Hirayama[3]) versetzen 9 ccm Harn mit 1 ccm $^n/_1$ Salzsäure; nach 10—15 Minuten neutralisiert man die Säure durch $^n/_1$ Lauge; hiedurch ist das im Harne vorhandene Zymogen in aktives Ferment über-

[1]) Verh. 25. Kongr. f. inn. Mediz. 1908. S. 160.
[2]) Pflügers Archiv Physiol. 1888. **43.** 384.
[3]) a. a. O.

geführt. Zu dem Urin gibt man dann ein Zehntel seines Volumens (also 1,2 ccm) 20%iger Chlorcalciumlösung und bringt Mengen von 0,2—2 ccm zu je 5 ccm ungekochter guter Magermilch. Die Proben bringt man 1 Stunde lang in ein Wasserbad von 20°, dann 5 Minuten lang in ein solches von 40°. Der Enzym- oder Zymogengehalt des Harnes wird ermittelt, daß man die Probe mit der kleinsten Urinmenge aussucht, die gerade noch die zugesetzte Milch zum Gerinnen gebracht hat.

V. *Lipase.*

Zum Nachweise werden zu je 1 ccm Harn 2 ccm Milch, die mit einer 1%igen Sodalösung alkalisch gemacht und mit Lackmus blau gefärbt wird, hinzugefügt. Bei Brutwärme soll ein vorhandenes Lipaseferment aus der Milch Fettsäuren entwickeln, die Flüssigkeit soll rot gefärbt werden. (Rosenberg.)

H. Pribram und J. Loewy[1]) messen den Lipasegehalt des Harnes durch die spaltende Wirkung gegenüber einer neutralisierten Lösung von Monobutyrin.

VI. *Proteolytische Zellfermente.*

Solche können im Harne beim Vorhandensein und Zerfalle von Leukocyten auftreten, wobei die intrazellulären, proteolytischen Enzyme freigemacht werden, so bei Cystitis, Pyelitis, einzelnen Formen von Nierenkrankheiten, bei Menstruation.

Man bringt einen Tropfen Harn auf eine Löfflersche Blutserumplatte und beläßt sie 24—48 Stunden bei 50—60° im Brutschranke; beim Vorhandensein von Ferment bildet sich an der Stelle des Harntropfens eine seichte Vertiefung.

Tyrosinasen nennt man, um dies noch zu erwähnen, Fermente, die Tyrosin, Phenylanalin, Homogentisinsäure, Adrenalin und noch andere Verbindungen in dunkelgefärbte Substanzen verwandeln; sie sind von den sog. Phenolasen, die Phenole unter Farbstoffbildung verändern, verschieden; beide sind echte Oxydasen und bewirken die gleichen chemischen Vorgänge, nur wirken sie auf verschiedene Substanzen verändernd ein.

Tyrosinase fand O. Gross[2]) im Harne eines an Lebergeschwulst Leidenden.

Siehe: S. G. Hedin, Zeitschr. physiol. Chem. 1921. **112.** 252. Über proteolytische Enzyme im normalen und pathologischen Harne. — Lotte Wolpe, Berl. klin. Wochenschr. 1921. **58.** 110. Über Fermentausscheidung und Hypophysenwirkung bei Diabetes insipidus; es wurde zweimal Trypsin durch das Anreicherungsverfahren gewonnen.

42. Ehrlichsche[3]) Diazoreaktion.

Aromatische Diazoverbindungen geben mit verschiedenen im Harne vorhandenen Substanzen schöne Farbenreaktionen, es bilden sich Farbstoffe; die Reaktion beruht darauf, daß gewisse im Harne (pathologischem?) vor-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1912. **76.** 489.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1919. **45.** 488.
[3]) Zeitschr. klin. Mediz. 1882. **5.** 285; Deutsch. med. Wochenschr. 1883. **9.** 549; 1884. **10.** 419.

kommende Substanzen sich mit p-Diazobenzolsulfosäure kuppeln und die bekannte rote Färbung geben.

Über die Natur des diese Reaktion veranlassenden Körpers sind verschiedene Ansichten geäußert worden; im normalen Harne soll die Reaktion niemals positiv eintreten. Soviel ist wohl gewiß, daß diese Körper im Organismus nur aus dem Eiweiß stammen können; nach Sahli ist das Eintreten der Reaktion als ein Zeichen pathologischen Eiweißzerfalles aufzufassen. M. Weiß betrachtet sie als Maß des endogenen Gewebszerfalles. Engeland[1]) fand als Ursache die nächsten Oxydationsprodukte des Tyrosins, die p-Oxyphenylpropionsäure und die p-Oxyphenylessigsäure. In der Hauptsache ist die Färbung durch Körper bedingt, die sich durch den Besitz des Imidazolkernes auszeichnen (Aminoimidazolpropionsäure [Histidin]). Nach Hermanns und P. Sachs[2]) ist der Farbstoff wahrscheinlich die Azoverbindung einer Oxyindolessigsäure und diese ein Abbauprodukt des Tryptophans. Nach den Forschungsergebnissen von Bondzynski, Dombrowski und Panek gibt die Antoxyproteinsäure (S. 242) in ausgesprochenem Maße diese Reaktion. M. Weiß[3]) fand als die Ursache der Reaktion auch eine in ihren Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren übereinstimmende Substanz, das Urochromogen.

Man wird nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse in dem Auftreten der eben erwähnten Stoffe die Ursache für die Diazoreaktion des Harnes zu suchen haben, zumal die Antoxyproteinsäure und das mit den Proteinsäuren jedenfalls verwandte Urochromogen in vermehrter Menge bei den Zuständen vorkommen, bei welchen die Diazoreaktion eintritt.

Nach den Untersuchungen von Ehrlich, die von vielen Seiten ihre Bestätigung gefunden haben, findet man eine ausgesprochene positive Reaktion bei verschiedenen fieberhaften Erkrankungen, während sie bei chronischen Krankheiten ohne Fieber nur ausnahmsweise vorkommen soll; erstere hat Ehrlich nach ihrem Verhalten gegenüber der Reaktion in 3 Gruppen eingeteilt:

1. Bei Gelenkrheumatismus, Meningitis, Rubeola und Varicellen fehlt sie fast regelmäßig;
2. häufiger, je nach der Schwere der Krankheit, fällt sie positiv aus bei Pneumonie, Scharlach, Diphtherie und Erysipel;
3. regelmäßig positiv fällt sie aus bei Typhus abdominalis und exanthemicus, Masern[4]) und in den letzten Stadien von Phthisis.

Die Reaktion findet sich auch im Beginne der Trichinose, wo sie besonders intensiv eintreten soll.

Mit der Reaktion, mit ihrer Ausführung und mit ihrem Werte hat sich eine selten umfangreiche Literatur beschäftigt.[5])

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1908. **55.** 1643.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1921. **114.** 79. 81; 1922. **122.** 98.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1911. **30.** 334; 1922. **133.** 331; **134.** 269.
[4]) G. Hunter, Brit. Medic. Journ. 1922. II. 751; Chem. Centralbl. 1923. **94.** I. 142.
[5]) E. Huber, Die Ehrlichsche Diazoreaktion. Dissertation. Bern 1910.

Erforderliche Lösungen.

1. Diazoreagens: 0,5 g Sulfanilsäure (p-Aminobenzolsulfosäure), 5,0 g 25%iger Salzsäure, 100 ccm Wasser.
2. ½%ige Natriumnitritlösung.

Die Reagenzien müssen ganz rein und unzersetzt sein. Aus 1 und 2 entsteht die Diazobenzolsulfosäure $C_6H_4 \begin{matrix} N=N\cdot OH \\ SO_2\cdot OH \end{matrix}$. Das gemischte Reagens (aus 1 und 2) hält sich nicht, man verfährt deshalb wie nachstehend angegeben.

Ausführung.

10 ccm des möglichst frischen Harnes werden mit 10 ccm des Diazoreagens versetzt, 2 Tropfen der Natriumnitritlösung hinzugegeben und gut durchgeschüttelt. — Hiebei kann es zu der „primären Farbenreaktion" kommen; es kann eine dunkle (violette) Färbung oder eine Gelbfärbung des Harnes entstehen; die Dunkelfärbung soll durch Gallenfarbstoffe (Bilirubin), die Gelbfärbung durch die Gegenwart von Urobilinogen bzw. Urobilin bedingt sein. — Man läßt nun rasch einige (2) Kubikzentimeter einer 10%igen Ammoniaklösung (auf einmal, in einem Schusse) zufließen; es entsteht im positiven Falle die „sekundäre" Farbenreaktion, eine rosa- oder lebhaft karminscharlachrote Färbung der Flüssigkeit, beim Schütteln eine charakteristische Rotfärbung des Schaumes. Eine gelbe bis kaffeebraune Farbenänderung, wie sie jeder Harn gibt, ist nicht als positive Diazoreaktion aufzufassen. Ist man im Zweifel, ob die Reaktion positiv ausgefallen ist, so läßt man den Harn stehen, es bildet sich in positiven Fällen nach 24 Stunden ein Niederschlag, dessen oberer Teil blau, grün oder schwarz gefärbt ist.

Zur raschen Ausführung der Reaktion werden von Ranke[1]) graduierte Reagenzgläschen, Diazoröhrchen, empfohlen.

M. Weiß (a. a. O.) empfiehlt, zum Alkalisieren 20%ige Natriumhydroxydlösung und Diazobenzolsulfosäure in doppelt so starker Konzentration, als von Ehrlich vorgeschrieben, anzuwenden. Die störende Färbungen gebenden Farbstoffe Urobilinogen, Bilirubin entfernt man durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat.

Beurteilung.

Es sind noch andere Ausführungen der Diazoreaktion empfohlen, die aber keinerlei Vorteile bieten. Schon von Beck, Friedenwald wurde an Stelle der Sulfanilsäure in gleicher Menge das Paraamidoacetophenon empfohlen. Welwart gibt neuerdings diese Abänderung an. In dem teueren Reagens konnten Vorteile nicht gesehen werden.

Opium, Morphin, Chrysarobin, Naphthalin, Heroin und Dionin, Atophan, Salvarsan sollen die Diazoreaktion veranlassen, Harn nach dem Einnehmen von gerbsäurehaltigen Arzneimitteln, auch von Wein, Harn nach dem Gebrauche von Phenol und dessen Derivaten, von Kresol, Kreosot, Guajacol, Salol soll die Reaktion nicht mehr geben.

Diese Tatsache hat man bei der Vornahme der Probe zu berücksichtigen, um so mehr als bei Typhus, Phthise solche Medikamente gegeben werden. Nach Ansicht anderer Forscher sollen Medikamente, außer Tuberkulin keinen Einfluß haben.

Die als Ersatz der Ehrlichschen Diazoreaktion empfohlene Methylenblau-(Methylengrün)-reaktion nach Russo bei Typhus abdominalis soll ohne klinischen Wert sein; nach R. Dunger,[2]) L. F. Dmitrenkol,[3]) Sighart, M. Rhein, A. Skutetzky u. M. Klaften u. a. hängt der positive oder negative Ausfall dieser Reaktion, wie auch ähnlicher (Kronberger, Wiener) ausschließlich von der größeren oder geringeren Färbekraft des Harnes ab. Es handelt sich nicht um eine Reaktion im chemischen Sinne, sondern um die Entstehung der Komplimentär-

[1]) Zu haben bei P. Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstraße 47.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1906. **32.** 1580.
[3]) Mediz. Woch. 1906. **7.** 481.

farbe aus Blau und Gelb, die Reaktion ist also nur ein Indikator für eine bestimmte Gelbfärbung des Urins. Fieberharne sind häufig konzentriert und reicher an Farbstoff, deswegen findet sich auch bei ihnen die Methylengrünreaktion. A. Klier hält sie für eine Gallenfarbstoffreaktion. Es werden 4 ccm Harn mit 4 Tropfen Methylenblaulösung (1:1000) versetzt; im positiven Falle soll eine smaragdgrüne Färbung eintreten.

Die Urochromogenreaktion von Weiß.

Siehe bei Urochrom S. 479.

Diese Reaktion tritt in Fällen ein, wo auch die Diazoreaktion positiv verläuft. Über die Beziehungen der Reaktionen ist Näheres an angegebener Stelle ausgeführt.

Den mit der doppelten Menge Wasser verdünnten Harn bringt man in 2 Reagenzgläser, die man bis zur Hälfte füllt; zu dem Inhalte in einem Glase fügt man 3 Tropfen einer $1\,^0/_{00}$ Kaliumpermanganatlösung. Bei positivem Ausfalle der Probe tritt eine Zunahme der gelben Farbe ein; die Intensität der Reaktion soll der Stärke der Diazoreaktion proportional sein.

Störend wirkt die Anwesenheit von Urobilin und Bilirubin, die man, wie schon angegeben, in der Weise beseitigt, daß man bei intensiv gefärbten Harnen 20 ccm davon mit 16 g Ammoniumsulfat versetzt, umrührt und etwa $^1/_2$ Stunde stehen läßt. Die störenden Farbstoffe werden dadurch ausgefällt und abfiltriert. Das Filtrat dient zum Anstellen der Reaktion.

E. Klaften[1]) läßt die Permanganatprobe im nativ sauren und im angesäuerten Harne vornehmen; bei Gegenwart von Urochromogen tritt Gelbfärbung im ersten, nicht aber im zweiten Falle ein.

43. Die Cammidgesche Reaktion.[2])

Die Reaktion von Cammidge, mit deren Hilfe es in manchen Fällen möglich sein soll, akute Erkrankungen des Pankreas feststellen zu können, besteht im wesentlichen darin, daß normale Harne, die nicht unmittelbar mit Phenylhydrazin reagieren, wie die Monosaccharide (auch Disaccharide), diese Reaktion, also ein Osazon, geben, sobald sie vorher mit Säure gekocht worden sind. Augenscheinlich enthalten solche Harne eine kompliziert zusammengesetzte Verbindung, die beim Kochen mit Säuren gespalten wird, wobei ein Körper entsteht, der mit Phenylhydrazin den bekannten Niederschlag, hellgelbe haarfeine Nadeln, teilweise in Büscheln, Drusen angeordnet, liefert. Solche Verbindungen könnten sein Polysaccharide, Glykoside, gepaarte Glykuronsäuren usw. Cammidge nimmt als Muttersubstanz ein kompliziert gebautes Kohlenhydrat an; einen eindeutigen Beweis hiefür erbringt er aber nicht; der Natur nach sollen die Krystalle aus Verbindungen der Glykuronsäure mit dem Osazone eines pentoseartigen Zuckers bestehen. P. J. Cammidge vermutet auch, daß es sich um eine nicht gärfähige Pentose handeln könnte; die Pentosen könnten aus dem Nucleoprotein der Pankreasdrüse übergegangen sein. Die angegebenen Krystalle lösen sich, als besonderes Kennzeichen der Verbindung, in $33\,^0/_0$iger Schwefelsäure.

[1]) Med. Klinik 1920. **16.** 832.

[2]) Lancet 1904. I. 329, 782; 1905. II. 14; Brit. Med. Journ. 1904. I. 776; 1906. 594. 622. 1150; Med. chir. Transact. 1906. **89.** 239.

Ausführung der Probe nach F. Eichler.[1])

Der zu prüfende, von Eiweiß und Zucker — wenn sie vorhanden sind — sorgfältig befreite Harn, der möglichst frisch sein muß, wird filtriert und zu 20 ccm des klaren Filtrates 1 ccm konz. Salzsäure zugefügt. Diese Mischung wird langsam auf dem Sandbade in einem kleinen Kölbchen unter Zuhilfenahme eines Trichters als Kondensor erhitzt und 10 Minuten lang gekocht. Nach dem Abkühlen wird der Inhalt mit destilliertem Wasser wieder auf 20 ccm gebracht. Der Säureüberschuß wird durch langsames Zufügen von 4 g Bleicarbonat neutralisiert. Man läßt mehrere Minuten lang stehen, filtriert die Lösung durch ein angefeuchtetes dichtes Filter vollkommen klar ab und schüttelt das Filtrat mit 4 g Bleiessig gut durch. Nach einiger Zeit wird wieder filtriert und im klaren Filtrate das im Überschusse zugesetzte Blei durch Zufügen von 2 g Natriumsulfatpulver entfernt; man erhitzt zum Sieden, kühlt im laufenden kalten Wasser ab und filtriert. 10 ccm des vollkommen klaren Filtrates werden mit destilliertem Wasser zu 18 ccm aufgefüllt; man setzt nun 0,8 g salzsaures Phenylhydrazin, 2,0 g Natriumacetatpulver und 1 ccm 50%iger Essigsäure hinzu. Dieses Gemisch wird in einem kleinen Kölbchen ebenso, wie schon eingangs angegeben, 10 Minuten auf dem Sandbade gekocht, dann durch ein mit heißem Wasser angefeuchtetes Filter in ein auf 15 ccm geeichtes Reagenzglas filtriert und mit Wasser zur Marke aufgefüllt.

Nach einigen Stunden, spätestens nach 24 Stunden, soll in ausgesprochenen Fällen von Entzündung der Bauchspeicheldrüse ein hellgelber flockiger Niederschlag ausfallen; man läßt am besten bis zum anderen Tage stehen und betrachtet den Niederschlag unterm Mikroskope; der Niederschlag besteht aus langen hellgelben, haarfeinen Krystallen, die in Büscheln angeordnet sind. Die Krystalle, deren Schmelzpunkt bei 168—170° liegt, lösen sich in 33%iger Schwefelsäure, die man durch das Präparat durchsaugt, auf und verschwinden in 10—15 Sekunden.

Gelbliche Häute, obenaufschwimmend, schollenartige Gebilde haben keine Bedeutung. Zuckerhaltiger Harn wird vorher vergoren und der gebildete Alkohol durch Kochen entfernt. Vorhandenes Eiweiß entfernt man durch Behandeln mit Ammoniumsulfat oder durch Ansäuern mit Essigsäure, Kochen und Filtrieren.

Beurteilung.

Die Ansichten über den diagnostischen Wert dieser Reaktion sind sehr geteilt; erhaltene positive Reaktionen können durch geringe Mengen Traubenzucker bedingt sein. Von anderer Seite wird vermutet, daß Rohrzucker das Eintreten bewirkt, vielleicht ist ein vermehrter Gehalt an Harndextrin die Ursache, doch fehlt auch hier der sichere Beweis. Sehr zweifelhaft dürfte es sein, daß die Reaktion durch Pentosen veranlaßt wird.

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1907. 44. 769; Pharm. Centrlh. 1907. 48. 644.

Neuerdings neigen P. J. Cammidge, J. A. Cairns Forsysh und H. A. H. Howard[1]) der Ansicht zu, daß es sich wohl um eine dextrinartige Substanz handelt und geben ein neues Verfahren des Nachweises an, das mir nicht einwandfrei erscheint.

44. Das Jodabsorptionsvermögen.

Das Jodabsorptionsvermögen des Harnes wurde von K. E. Marung[2]) studiert; die Jodzahl schwankte zwischen 3,175—6,25 pro Liter. Eine sehr hohe Zahl fand sich bei einer Leukämie und bei Cystinurie.

Nach Untersuchungen von O. Weltmann[3]) würde eine erhöhte Jodzahl unter gleichzeitiger Verwertung der Harndichte bei Erkrankungen der Leber, bei hochfiebernden Patienten und bei gewissen rasch zerfallenden Neoplasmen, in der Nierendiagnostik als Maß für die Partialdichte der Nieren bei der Orientierung verwertbar und dienlich sein.

C. Zufällige Bestandteile des Harnes.

Nachweis von Arzneimitteln und Giften im Harne.

I. Anorganische Stoffe.

Wenn auch einige der Metalle im Harne direkt ausgefällt und aus diesem eliminiert werden können — diese Verfahren werden besonders erwähnt —, so wird doch zur Entdeckung und Isolierung der Metalle, die als Medikamente therapeutisch genommen oder die als Gifte in verbrecherischer Absicht dem Organismus einverleibt worden sind und die wohl sämtliche zum Teil auch durch den Harn abgeschieden werden, am zweckdienlichsten und sichersten die bei der gerichtlichen Analyse befolgte Methode angewendet werden, schon aus dem Grunde, weil mehrere Metalle, wie Arsen, Blei, Kupfer, Quecksilber in organischen Verbindungen im Harne enthalten sein können, und weil manche andere Harnbestandteile die Fällung der Metalle im Harne direkt hindern (Eiweißstoffe, Zucker).

Im nachfolgenden soll dieser Gang zum Nachweise der Metalle mitgeteilt werden.

Prüfung auf Metalle, Metallgifte.

Man dampft zweckmäßig 1—2 Liter von dem umgeschüttelten und nicht filtrierten Harne[4]) in einer Schale auf etwa 100 ccm ein, bringt den konzentrierten Harn in einen Kolben, setzt ganz reine Salzsäure und etwas chlorsaures Kali hinzu und erhitzt den Kolben am Rückflußkühler auf dem Wasserbade oder vorsichtig auf einem Drahtnetze über der Flamme unter mehrmaliger Zugabe von stets kleinen Mengen chlorsauren Kalis so lange, bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist. Nach dem Verdünnen des Kolbeninhaltes mit Wasser und nach dem Erkalten wird filtriert, der Filter-

[1]) Lancet. 1920. **199.** 393; Ber. ges. Physiol. **5.** 61.
[2]) Inaug.-Dissert. Rostock 1901.
[3]) Wien. Archiv inn. Mediz. 1920. **2.** 106.
[4]) Beim Filtrieren von Harn könnten sich geringe Mengen von einzelnen Metallen (Hg, Cu) dem Nachweise entziehen, da diese als Eiweißverbindungen ausgefällt werden (durch im Harne vorhandene Kolloide).

Filtrat = Arsen. | Rückstand auf dem Filter = Zinn, Antimon (Spuren Kupfer).

Arsennachweis

Das Filtrat wird mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt und eingedampft und der Schaleninhalt zuletzt über freier Flamme bis zum Auftreten dicker Schwefelsäuredämpfe erhitzt (Entfernung der Nitrate und Nitrite). Den Rückstand löst man in 100—200 ccm Wasser und verwendet eine bestimmte Menge zum Arsennachweise im Marshschen Apparate, eine andere zur quantitativen Bestimmung.

Qualitativer Nachweis des Arsens.

1. Im Marshschen Apparate entstehen nur hinter den Erhitzungsstellen in der Glasröhre stark glänzende, braunschwarze Anflüge von metallischem Arsen (Berzelius-Marsh), die bei sehr vorsichtigem Durchsaugen von Schwefelwasserstoff und vorsichtigem Erwärmen gelb (Schwefelarsen) werden, mit Natriumhypochlorit befeuchtet verschwinden (Oxydation des Arsens zu As_2O_3). Beim Überleiten von Luft über den erhitzten Arsenspiegel entstehen kleine mit der Lupe zu erkennende Krystalle von Arsentrioxyd (As_2O_3).

2. Im Marshschen Apparate entwickelter Arsenwasserstoff färbt konz. Silberlösung (1 : 1) gelb; wird dieser Arsenwasserstoff angezündet und über die Flamme ein kalter Porzellandeckel gehalten, so scheiden sich an diesem schwarze glänzende Flecken von metallischem Arsen ab.

3. Aus arsenhaltigen Lösungen wird durch Schwefelwasserstoff nach längerem Einleiten unter Erwärmen Schwefelarsen gefällt.

4. *Die Lösung gibt mit Zink und verd. Schwefelsäure Arsenwasserstoff*, der durch Filtrierpapier, das mit der konz. Silberlösung (1 : 1) getränkt ist, nachweisbar ist (Gelbfärbung — Bildung eines gelben Doppelsalzes von Arsensilber-Silbernitrat ($AsAg_3.3NO_3Ag$) — Gutzeitsche Reaktion). Anstellen eines blinden Versuches, ob die Reagenzien (Säure und Zink) rein sind!

5. Arsenhaltige farblose Lösungen geben mit Bettendorffs Reagens, einer konz. Lösung von Zinnchlorür in rauchender Salzsäure, je nach der Arsenmenge eine bräunliche Färbung oder einen braunen Niederschlag (Abscheidung von metallischem Arsen). (Man kann schwach erwärmen.)

Quantitative Bestimmung des Arsens.

Ein weiterer Teil der Lösung (50 oder 100 ccm) wird mit Ammoniak übersättigt und mit Magnesiamixtur versetzt; der nach 12 Stunden abgeschiedene Niederschlag wird auf gewogenem Filter oder im Goochschen Tiegel gesammelt, mit verd. Ammoniak (1 : 3) ausgewaschen und getrocknet (arsensaure Ammoniak-Magnesia). Durch Glühen mit etwas Ammoniumnitratpulver führt man die arsensaure Ammoniakmagnesia in pyroarsensaure Magnesia ($Mg_2As_2O_7$) über.

Gef. $Mg_2As_2O_7$. 0,48275 = Arsen.

Man zählt, da die arsensaure Ammoniakmagnesia in Spuren löslich ist, nach Medicus für je 30 ccm Filtrat 0,82 mg $Mg_2As_2O_7$ dem gewogenen zu.

Man kann, da ja fast stets wohl nur auf 1 Metall zu prüfen sein wird, das nach der Zerstörung des Harnes, wie angegeben, erhaltene Filtrat mit Schwefelwasserstoffgas behandeln und das abgeschiedene Arsensulfid mit rauchender Salpetersäure mehrmals eindampfen. Die mit Wasser aufgenommene Lösung wird mit Ammoniumchloridlösung (10 ccm) und dann mit etwa 20 ccm Magnesiamixtur und mit $^2/_3$ des Volumens starker Ammoniakflüssigkeit versetzt. Nach 12stündigem Stehen filtriert man den entstandenen Niederschlag ab und verfährt wie angegeben.

Antimon- und Zinnnachweis.

Das Filter wird getrocknet, mit Inhalt in einem Porzellantiegel eingeäschert und der Rückstand mit Cyankalium erhitzt. Antimon und Zinn hinterbleiben als Metalle beim Auflösen der Schmelze und werden auf einem Filter gesammelt. Mit Salzsäure erwärmt löst sich das Zinn, Antimon nicht.

Qualitativer Antimonnachweis.

Das Antimon wird in Salzsäure unter Zusatz von chlorsaurem Kali gelöst:

1. Schwefelwasserstoff erzeugt einen roten Niederschlag von Antimonsulfid.

2. Die schwach saure Lösung scheidet in einer Platinschale nach Zinkzusatz schwarzes Antimon auf dem Platin ab.

3. Antimon liefert im Marshschen Apparate Antimonflecken, ähnlich wie die Arsenflecken, doch rein schwarz, schwer flüchtig, die beim Überleiten von Schwefelwasserstoff (s. 1 bei Arsen) sich orange färben und die in Natriumhypochlorit sich nicht lösen.

Antimonspiegel können sich teilweise schon vor der Erhitzungsstelle abgeschieden vorfinden.

Beim Überleiten von Luft über erhitzte Antimonspiegel entstehen keine Krystalle wie beim Arsenspiegel; es bildet sich amorphes Antimonoxyd.

Quantitative Bestimmung.

Man fällt mit Schwefelwasserstoff Schwefelantimon aus, sammelt es auf einem gewogenen Filter und wägt nach dem Auswaschen und Trocknen bei 100°. Den gewogenen Niederschlag oder einen abgewogenen Teil übergießt man in einem Porzellantiegel mit wenig verdünnter Salpetersäure, oxydiert durch allmählich zugesetzte rauchende Salpetersäure und glüht den zur Trockene gebrachten Rückstand. Das entstandene antimonsaure Antimonoxyd wägt man.

G·f. Sb_2O_4. 0,75 = Antimon.

Qualitativer Zinnnachweis.

Die Lösung in Salzsäure wird zu folgenden Reaktionen verwendet:

1. Quecksilberchlorid gibt eine weiße Fällung (Quecksilberchlorür); allmählich scheidet sich metallisches Quecksilber ab.

2. Goldchlorid erzeugt eine dunkelrotbraune Färbung oder einen Niederschlag (Cassius Goldpurpur).

3. Durch Schwefelwasserstoff entsteht ein brauner Niederschlag von Stannosulfid.

Sind recht geringe Arsenmengen zu bestimmen, dann tut man besser, wenn man den beim Behandeln mit Salpetersäure erhaltenen Rückstand mit wenig konz. Schwefelsäure zuerst im Wasserbade, dann bei etwa 180° (im Luftbade) erhitzt, hierauf mit verd. Salzsäure (1 : 8) im Wasserbade erwärmt und in das klare Filtrat bei 70° Schwefelwasserstoff einleitet. Einen erhaltenen Niederschlag löst man in Ammoniumcarbonatlösung, säuert mit Salzsäure stark an, fällt nochmals in der Kälte mit Schwefelwasserstoff und entfernt den Überschuß an diesem durch Einleiten von Kohlendioxyd. Den Niederschlag (As_2S_3) wäscht man auf gewogenem Filter oder im Goochtiegel aus und trocknet bei 100°. Man wägt. Gef. As_2S_3. 0,60931 = As.

Quantitative Bestimmung.

Man fällt das Zinn durch Schwefelwasserstoff und glüht den mit essigsaurem Ammoniak ausgewaschenen Niederschlag im Porzellantiegel.

Gef. SnO_2. 0,78737 = Sn.

rückstand erst mit etwas salzsäurehaltigem Wasser, dann mit heißem Wasser ausgewaschen und das im Filtrate noch etwa vorhandene Chlor entweder durch Einleiten von Kohlensäure oder durch vorsichtige Zugabe von Natriumbicarbonat entfernt. In das nicht zu stark saure, auf etwa 70° erwärmte Filtrat leitet man langsam bis zur Sättigung reines arsenfreies, gewaschenes Schwefelwasserstoffgas, das man am besten, besonders wenn bei der Prüfung geringe Arsenmengen in Frage kommen, aus Schwefelbarium und reiner verdünnter Salzsäure entwickelt.

Nach 12stündigem Stehen in dem lose verschlossenen Kolben filtriert man einen entstandenen Niederschlag ab, leitet ins Filtrat nochmals Schwefelwasserstoff und vereinigt den zweiten Niederschlag mit dem ersten. Die Niederschläge werden auf dem Filter gut mit Schwefelwasserstoffwasser ausgewaschen.

Der Rückstand von der Zerstörung (Rückstand auf dem Filter) kann enthalten:

Silber (Chlorsilber), Blei (Bleisulfat und Bleichlorid),
Barium (Bariumsulfat).

Im Niederschlage (Schwefelwasserstofffällung) können vorhanden sein:

Arsen, Zinn, Antimon, Quecksilber, Kupfer, Blei, Wismut.

Im Filtrate vom Niederschlage:

Zink, Chrom, Barium.

I. Behandlung des durch Schwefelwasserstoff erzeugten Niederschlages.

Der Niederschlag wird auf dem Filter noch feucht mit heißem, stark gelbem Schwefelammonium, das mit ammoniakalischem Wasser verdünnt ist, behandelt und das Filter nachgewaschen. In Lösung gehen und sind im Filtrate vorhanden: (I) Arsen, Antimon, Zinn (als Sulfosäuren) und Spuren Kupfer, die durch Schwefelammonium gelöst werden. (Schwefelkupfer ist unlöslich in Schwefelkaliumlösung.)

Ungelöst bleiben: (II) die Sulfide von Kupfer, Blei, Quecksilber und Wismut (S. 535).

Die Schwefelammoniumlösung (I) wird zur Trockene verdampft, mit rauchender Salpetersäure oxydiert, eingetrocknet, der Rückstand mit einigen Tropfen Natriumhydroxydlösung durchfeuchtet und nach dem Vermischen mit wasserfreier Soda (1 T.) in schmelzenden Natronsalpeter (2 T.) eingetragen. Die weiße Schmelze wird mit Wasser gelöst, Kohlensäure durch die Lösung geleitet und Alkohol hinzugegeben; tritt Lösung ein, so kann Arsen als arsensaures Natrium vorhanden sein; Antimon und Zinn bleiben ungelöst als antimonsaures Natron und Zinnoxyd, ebenso bleibt ungelöst Kupfer als Oxyd, da sich, wie erwähnt, etwas Kupfersulfid im Schwefelammonium löst; einen vorhandenen Niederschlag sammelt man auf einem kleinen Filter. Das Filtrat und den Niederschlag untersucht man in der auf S. 532 u. 533 angegebenen Weise.

II. Behandlung des in Schwefelammonium unlöslichen Teiles des durch Schwefelwasserstoff erzeugten Niederschlages.

Der auf dem Filter verbleibende Rückstand kann die Sulfide des Kupfers, Quecksilbers, Bleis und des Wismutes enthalten. Man behandelt ihn mehrere Male mit warmer Salpetersäure (1 : 2), wodurch Schwefelkupfer, Schwefelblei und Schwefelwismut gelöst werden; Schwefelquecksilber bleibt ungelöst zurück.

Nachweis von Kupfer und Blei.

Die Lösung, das Filtrat, das die Nitrate des Kupfers und Bleis enthält, wird fast zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit verdünnter Schwefelsäure und Alkohol versetzt. Blei wird als schwefelsaures Blei abgeschieden, Kupfer ist im Filtrate nachzuweisen.

Qualitativer Nachweis von Blei.

1. Schwefelwasserstoff gibt einen schwarzen Niederschlag von Bleisulfid.
2. Kaliumchromat = gelbe Fällung von Bleichromat, in Kali- oder Natronlauge löslich.
3. Jodkali = gelber Niederschlag von Bleijodid, in heißem Wasser und in kochender Essigsäure löslich, beim Erkalten sich in glänzenden Flittern wieder abscheidend.
4. Schwefelsäure = weiße Fällung von Bleisulfat, in Kali- oder Natronlauge, auch in weinsaurem Ammoniak löslich.

Quantitative Bestimmung.

Der Niederschlag von Bleisulfat wird gesammelt, mit alkoholhaltigem Wasser ausgewaschen, getrocknet und im Porzellantiegel geglüht, nachdem das Filter für sich verbrannt und der Rückstand im Tiegel mit einigen Tropfen Salpetersäure und Schwefelsäure eingedampft war.

Gef. $PbSO_4$.0,6829 = Pb.

Wismutnachweis s. S. 551.

Qualitativer Nachweis von Kupfer.

1. Ammoniak gibt tiefblaue Färbung,
2. Ferrocyankalium rote Fällung oder Färbung (Ferrocyankupfer).
3. Platin überzieht sich, mit Zink und einer schwach sauren Kupferlösung zusammengebracht, mit metallischem Kupfer.
4. Eisendraht überzieht sich in schwach saurer Kupferlösung mit metallischem Kupfer.

Quantitative Bestimmung.

Das durch Schwefelwasserstoff ausgefällte und abfiltrierte Schwefelkupfer wird mit Filter verbrannt, mit Schwefelpulver gemischt und dann durch Glühen im Wasserstoffstrome im Roseschen Tiegel als Kupfersulfür bestimmt.

Gef. Cu_2S.0,79869 = Cu.

Oder man dampft die Kupfernitratlösung in einem gewogenen Porzellanschälchen ein, trocknet und glüht vorsichtig.

Gef. CuO.0,799 = Cu.

Nachweis des Quecksilbers (S. 544).

Quantitative Bestimmung.

Der Rückstand auf dem Filter von der Behandlung mit warmer Salpetersäure wird in Königswasser gelöst, die Lösung mit Wasser verdünnt, das Chlor entfernt und aus der Lösung durch Schwefelwasserstoff Schwefelquecksilber gefällt, das auf gewogenem Filter oder im Gooch-schen Tiegel gesammelt wird. Der Rückstand auf dem Filter oder im Tiegel muß mit Wasser, Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff, Alkohol-Äther gewaschen werden.

Gef. HgS.0,8620 = Hg.

Qualitativer Nachweis.

Die Lösung des Schwefelquecksilbers in Königswasser gibt mit Wasser verdünnt nach Entfernung des Chlors usw. folgende Reaktionen:

1. Frisch bereitete Zinnchlorürlösung gibt vorsichtig zugesetzt eine weiße (Quecksilberchlorür), dann grau (Quecksilber) werdende Fällung.
2. Kupferblech überzieht sich in nicht zu saurer Lösung mit met. Quecksilber; das amalgamierte Kupferblech gibt in einer unten zugeschmolzenen, zu einer Kugel erweiterten und dann von der Mitte an verengt ausgezogenen Glasröhre erhitzt ein Sublimat von metallischem Hg; läßt man Joddampf (nur eine Spur) über das Sublimat streichen, so wird das metall. Hg rot (Quecksilberjodid).

(Man gibt eine Spur Jod ins Glasrohr, erwärmt schwach dieses und dann das im Anfange des engen Rohres befindliche Sublimat.)

III. Behandlung des Filtrates von dem durch Schwefelwasserstoff erzeugten Niederschlage.

Dieses kann enthalten Zink, Chrom, Barium. Man teilt das Filtrat in drei gleiche Teile:

Nachweis von Zink.

Man versetzt den einen Teil des vom Schwefelwasserstoff durch Erwärmen befreiten Filtrates mit einer solchen Menge essigsauren Natrons, daß alle Salzsäure in Chlornatrium übergeht und leitet nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure in die erhitzte Flüssigkeit Schwefelwasserstoff, bis diese erkaltet ist. Das ausgefällte und abfiltrierte Schwefelzink wird mit etwas Ammoniumnitrat enthaltendem Wasser ausgewaschen, vom getrockneten Filter in einen Roseschen Tiegel gebracht, das Filter nach dem Befeuchten mit gesättigter Ammoniumnitratlösung verbrannt, die Filterasche in den Tiegel gegeben, der Tiegelinhalt mit Schwefelpulver vermengt und im Wasserstoffstrome — nachdem alle Luft aus dem Apparate und dem Tiegel verdrängt ist — zuerst gelinde, dann stärker geglüht, im Wasserstoffstrome erkalten gelassen und das Schwefelzink gewogen.

Gef. ZnS.0,671 = Zn.

Qualitativer Nachweis des Zinks.

1. In der mit Natriumacetat versetzten Lösung des Sulfides oder des Oxydes in Salzsäure entsteht durch Schwefelwasserstoff ein weißer Niederschlag von Zinksulfid.
2. Natriumcarbonat gibt weiße Fällung (basisches Zinkcarbonat), die mit Kobaltnitrat befeuchtet und geglüht grün wird (Rinmanns Grün, Kobaltozinkat ZnO.CoO).
3. Ferrocyankalium erzeugt einen weißen Niederschlag.

Nachweis von Chrom.

Ein zweiter Teil des Filtrates wird eingedampft und mit Salpeter geschmolzen; die Schmelze wird in Wasser gelöst, die Lösung filtriert.

Qualitativer Nachweis.

1. Die mit Salzsäure angesäuerte Lösung gibt, mit etwas Alkohol gekocht, Grünfärbung.
2. Silbernitrat fällt rotes Chromat.
3. Bleiacetat in neutraler oder essigsaurer Lösung fällt gelbes Bleichromat.
4. Ammoniak fällt grünes Chromoxydhydrat.
5. Wasserstoffsuperoxyd mit Chromsäurelösung, Schwefelsäure u. Äther = Blaufärbung des Äthers (wahrscheinlich von Perchromsäure Cr_2O_7 herrührend).

Quantitativer Nachweis des Chroms

Durch Kochen der angesäuerten Lösung der chromsauren Salze mit Alkohol werden diese zu Chromoxydsalzen reduziert, aus denen durch Ammoniak Chromoxyd gefällt wird. Glühen des Niederschlages.

Gef. Cr_2O_3.0,6846 = Cr.

(Wäre Harn direkt auf die Anwesenheit von Chrom zu prüfen, dann dampft man ihn mit Soda und Salpeter [3:1] ein und verfährt wie angegeben Bei Chromvergiftung enthält der Harn Eiweiß, auch Blut.)

Nachweis von Barium.

Ein dritter Teil wird eingedampft, mit Soda und Salpeter verpufft, die Schmelze mit Wasser aufgenommen und das entstandene unlösliche Bariumcarbonat auf einem Filter gesammelt. In verd. Salzsäure gelöst gibt Baryt dann folgende Reaktionen:

1. Gipswasser = unlöslicher Niederschlag von Bariumsulfat.
2. Schwefelsäure = Bariumsulfat.
3. Grüne Flammenfärbung.

Quantitative Bestimmung.

Als Bariumsulfat.[1])

Gef. $BaSO_4$.0,5885 = Ba.

(Ist Harn nur auf Barium zu prüfen, so dampft man ihn ein, verpufft mit Soda und Salpeter usw. s. oben.)

[1]) Man löst das Bariumcarbonat auf dem Filter in verdünnter Salzsäure, wäscht das Filter mit heißem Wasser nach und fällt im Filtrate durch Schwefelsäure den Baryt als Bariumsulfat aus Der Niederschlag wird gesammelt, ausgewaschen, geglüht und gewogen.

IV. Behandlung des Rückstandes von der Zerstörung.

Dieser Rückstand, der, wie schon erwähnt, Bleisulfat (Bleichlorid), Bariumsulfat und Chlorsilber enthalten kann, welche Verbindungen bei der Zerstörung des Harnes durch die vorhandenen Sulfate und schwefelhaltigen Substanzen durch Umsetzung aus den ursprünglich in löslicher Form vorhanden gewesenen Metallverbindungen entstanden sein konnten (Bleisulfat, Bariumsulfat), oder sich bei der Zerstörung durch Salzsäure gebildet haben (Bleichlorid, Chlorsilber), wird getrocknet, im Porzellantiegel eingeäschert und mit Soda und Salpeter geschmolzen. Man löst die Schmelze in heißem Wasser, leitet Kohlensäure durch die Lösung und kocht auf. Bariumcarbonat, Bleicarbonat und metallisches Silber bleiben beim Filtrieren zurück. Man nimmt mit Salpetersäure (verdünnter) auf, fällt im Filtrate Silber durch Salzsäure als Chlorsilber (S. 82), Blei aus dem Filtrate vom Chlorsilberniederschlage nach dem Eindampfen und Aufnehmen mit Wasser durch Schwefelwasserstoff als Schwefelblei und Barium aus dem vom Schwefelwasserstoff befreiten Filtrate vom Schwefelblei als Bariumsulfat durch verdünnte Schwefelsäure.

Gef. AgCl. 0,7527 = Ag.

Mit Hilfe des im vorstehenden geschilderten Verfahrens können alle Metalle genau isoliert und bestimmt werden; hat man Silber allein zu bestimmen, so wird man zweckmäßig den Harn mit Salpeter und Soda eindampfen und den Rückstand schmelzen; man erhält das Silber wie eben angegeben.

Isolierung einzelner Metalle aus dem Harne.

Hiezu sind noch besondere Verfahren angegeben und ausgearbeitet, am besten befolgt man aber im allgemeinen den eben ausführlich angegebenen Prüfungsgang.

Arsen.

Arsen kann im normalen Harne nur in kleinsten Mengen vorkommen; bei Fleischkost soll etwas mehr zur Ausscheidung gelangen, als bei Pflanzenkost, doch auch da niemals mehr als einige Tausendstel eines Milligrammes, dagegen kann die Menge nach Fischdiät bisweilen auf 1 mg Arsen (As) und darüber im Tage steigen.

Nach akuter Arsenvergiftung finden sich in dem in sehr geringen Mengen abgesonderten Harne Eiweiß, Blut, Cylinder, es tritt Hämoglobinurie oder Methämoglobinurie auf. Der Harn kann auch Fehlingsche Lösung stark reduzieren; es ist dies auf eine besondere Substanz zurückzuführen, da der Harn zuckerfrei ist. Die Harnbeschaffenheit, wie das ganze Symptombild ähneln der Cholera.

Nach Anwendung des Ehrlich-Hataschen Präparates (Salvarsan = Dioxydiaminoarsenobenzoldichlorhydrat) beginnt die Ausscheidung von Arsen im Harne sehr schnell; gleichzeitige Quecksilbertherapie scheint eine Verzögerung der Ausscheidung herbeizuführen, Jodkalium eine Verkürzung der Ausscheidung (K. Greven).

Nach der Darreichung anorganischer und organischer Arsenverbindungen kann im Harne das Arsen bald nachgewiesen werden. Die Ausscheidung dauert auch nach dem Aussetzen des Einnehmens von Arsenpräparaten noch längere Zeit.

Doch ist die Ausscheidung keine gleichmäßige; geringe Arsenmengen scheinen schneller und vollständiger als größere ausgeschieden zu werden; auch wird wohl, was noch nicht aufgeklärt ist, die chemische Konstitution der Arsenverbindungen dabei nicht unbeteiligt sein. Nach G. Lockemann[1]) kann man von zwei Gruppen sprechen, der Atoxyl- und der Salvarsangruppe; bei der ersteren, wozu das Arsacetin, Atoxyl, Arsenophenylglycin zählen, wird schon in den ersten beiden Tagen der größte Teil durch den Harn entleert, bei der Salvarsangruppe dagegen werden nur wenige Bruchteile oder Prozente davon ausgeschieden, so daß sich die Ausscheidung hier in die Länge zieht. Bei Mann und Frau ist sie im allgemeinen verschieden.

1. Das Arsen kann man nach E. Reichardt auch aus dem schwach angesäuerten Harne durch Schwefelwasserstoff ausfällen und das durch Bromwasser oder nach dem im allgemeinen Gange angegebenen Verfahren oxydierte Schwefelarsen im Marshschen Apparate prüfen. Sicherer ist es immer, den Harn wie angegeben erst zu zerstören, da die Kaliumchlorat-Salzsäuremethode, wie auch H. Blumenthal auf Grund seiner vergleichenden Versuche nachweisen konnte, das genaueste Verfahren zur Isolierung und zum einwandfreien quantitativen Nachweise darstellt. Denn daß das zur Ausscheidung im Harne kommende Arsen auch in organischer Bindung vorhanden ist, ist wohl ganz sicher; solches würde sich dann dem Nachweise entziehen, wenn die Zerstörung des Harnes nicht vorgenommen worden wäre.

Zur Probe nach Marsh-Berzelius kann man sich sehr zweckmäßig des von G. Lockemann[2]) angegebenen, von P. Treadwell ebenfalls empfohlenen Apparates (Fig. 71) bedienen.

In den Kolben *K*, der etwa 100—150 ccm faßt, gibt man 6—8 g granuliertes kupferhaltiges Zink (— man kann das vollkommen arsenfreie, reine Zink auch durch Einlegen in eine $^1/_2$%ige Kupfersulfatlösung 1 Minute lang verkupfern —) und etwa 15—20 ccm Schwefelsäure (1 Vol. Schwefelsäure 1,82 spez. Gew. und 7 Vol. Wasser). Nach 20 Minuten ist die Luft verdrängt; man zündet den bei *b* entweichenden Wasserstoff an und sorgt, daß die Flamme während des Versuchs 2—3 mm hoch bleibt; ist die Entwicklung zu stark, wird die Flamme größer, dann kühlt man den Kolben *K* durch Einstellen in kaltes Wasser, im anderen Falle gießt man Säure nach oder stellt den Kolben in warmes Wasser. Zuerst muß man sich von der Reinheit der Reagenzien überzeugen; die mit Kupferdrahtnetz umwickelte 5 mm weite, zu einer 1,5—2 mm weiten Kapillare ausgezogene Röhre von schwer schmelzbarem Glase wird bei *B* erhitzt; wenn nach 20 Minuten in der engen Kapillare hinter der Erhitzungsstelle kein Arsenspiegel entsteht, sind die Reagenzien rein. Die auf Arsen zu prüfende Flüssigkeit, in der angegebenen Weise vorbereitet, die frei von Nitraten, Chloriden usw. sein muß, bringt man in den mit Teilung versehenen Trichter *T* und läßt vorerst die Hälfte der Flüssigkeit in den Kolben *K* fließen; vorher hat man die Flammen bei *A* angezündet; die Röhre soll rotglühend werden. Das entwickelte Gas wird in dem mit krystallisiertem (nicht ge-

[1]) Biochem. Zeitschr. 1916. **78.** Heft 1 und 2.

[2]) Zeitschr. angew. Chem. 1905. **18.** 416; P. Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chem. F. Deuticke, Leipzig u. Wien 1908. 199.

körntem) Chlorcalcium gefüllten Rohre *C* getrocknet. Wenn Arsen vorhanden ist, dann setzt sich dieses in der Kapillare vom Rohre *A* bei *d* ab; damit das Arsen sich recht schön abscheidet, ist das Rohr bei *d* mit einem Lampendochte umwickelt, auf den durch den Schlauch *q* beständig Wasser tropft. Nach 1 Stunde ist etwa vorhandenes Arsen alles abgeschieden. Durch Vergleichen mit Spiegeln, die mit bestimmten Arsenmengen hergestellt sind, kann man die Arsenmenge ziemlich genau bestimmen.

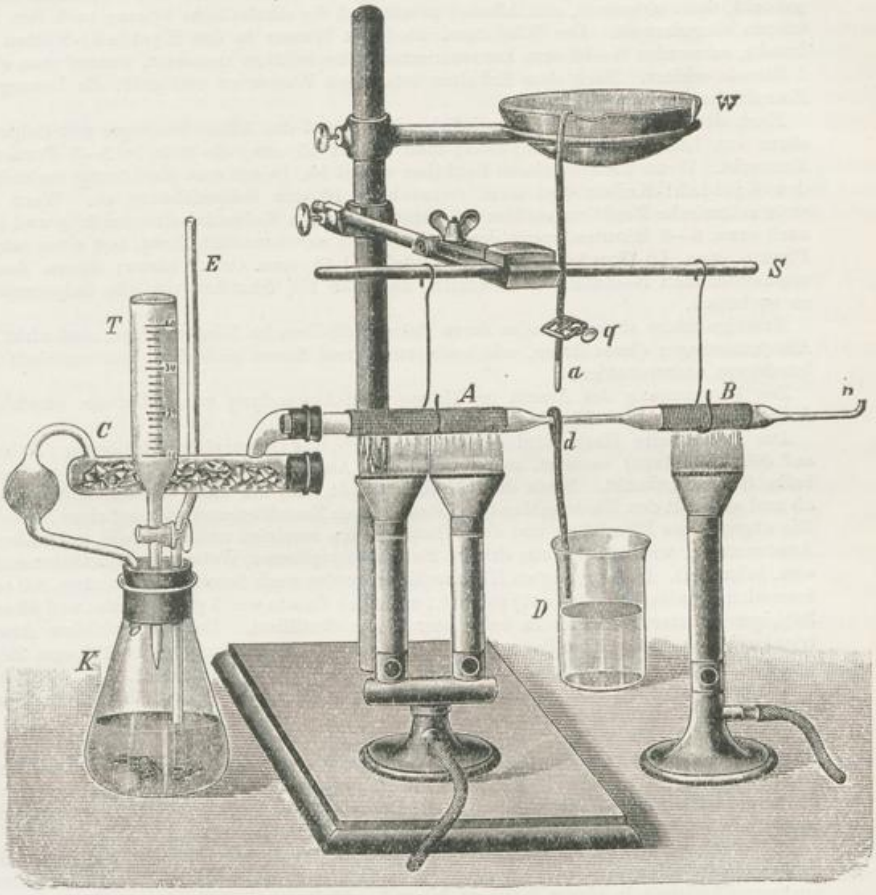


Fig. 71.

Zur Herstellung der Normalspiegel verfährt man nach Treadwell in der Weise, daß man 0,1 g reines Arsentrioxyd in wenig Natriumcarbonat löst, mit verd. Schwefelsäure ansäuert und zum Liter verdünnt; von dieser Lösung (1 ccm = 0,1 mg As_2O_3) werden 10 ccm auf 1 Liter verdünnt; 1 ccm = 0,001 mg As_2O_3. Von dieser Lösung mißt man 0,25, 0,5, 1 ccm, 2 ccm usw. ab und bringt sie der Reihe nach in den Marshschen Apparat. Diese Normalspiegel kann man haltbar machen, indem man in den weiteren Teil der Röhre etwas Phosphorpentoxyd bringt und die Röhre zuschmilzt. Sie müssen im Dunkeln verwahrt werden.

Gute Dienste kann die Gutzeitsche Probe (S. 533) leisten; man kann zur Vorprobe den Harn direkt verwenden.

E. Salkowski[1]) empfiehlt zum Nachweise des Arsens im Harne ein sog. Schmelzverfahren und ein modifiziertes Neumannsches Verfahren. Nach dem ersten wird der Harn bei neutraler Reaktion eingedampft, mit etwa 150 ccm Alkohol extrahiert, nach

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1908. **56**. 95.

kurzem Stehen filtriert, der Alkoholauszug verdunstet und der noch heiße Rückstand in der Schale mit 12—15 ccm Salpetersäure (1,48 spez. Gew.) eingedampft, wobei stürmische Reaktion eintritt. Der gelbliche Rückstand wird unter Zusatz von Kaliumcarbonat in Wasser gelöst, die trübe Lösung in einer Platinschale auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft und nach Zusatz von 15 g Salpetermischung (2 Teile Salpeter, 1 Teil Soda) geschmolzen. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert, zur Entfernung von Kohlensäure und salpetriger Säure gekocht, dann eingeengt, mit Alkohol gefällt und die alkoholische Lösung nach dem Filtrieren eingedampft. Der Rückstand wird mit Wasser in den Kjeldahl-Kolben gebracht, es werden 8—10 ccm konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt, worauf man etwa 1 Stunde erhitzt. Nach dem Erkalten setzt man Wasser zu und prüft die Lösung im Marshschen Apparate.

Nach dem zweiten Verfahren wird der Rückstand des Alkoholauszuges mit Salpetersäure von 1,48 spez. Gew. oxydiert; man nimmt 15 ccm, die man in 2—3 Portionen hinzugibt. Wenn die stürmische Reaktion vorbei ist, bringt man die Lösung sogleich in den Kjeldahl-Kolben und setzt vorsichtig 10 ccm Schwefelsäure zu. Wenn die erste stürmische Reaktion vorüber ist, erhitzt man den Kolbeninhalt vorsichtig und gibt nach etwa 6—8 Minuten, wenn der Kolbeninhalt sich bräunlich färbt, mit einer langen Pipette etwa 10 Tropfen der Salpetersäure (1,48 spez. Gew.) hinzu; diesen Zusatz wiederholt man 3—4mal. Man erhitzt ungefähr $1^1/_2$ Stunden, um alle Salpetersäure zu entfernen.

Arsenige Säure als solche oder deren Salze verbleiben im Niederschlage, sind nicht im Alkoholauszuge; dieses Arsen, wie ionisiertes Arsen lassen sich dann von organisch gebundenem unterscheiden.

Zur Bestimmung des Arsens im Harne nach Anwendung von Salvarsan empfehlen A. Heiduschka und Th. Biéchy[1]) folgende Methode.

Der gesammelte Harn wird mit 20 ccm 12%iger Aluminiumsulfatlösung (20 ccm auf 500 ccm Harn) versetzt, mit verdünntem Ammoniak alkalisch gemacht und eine halbe Stunde gekocht. Nach dem Absitzen gießt man die klare Flüssigkeit vorsichtig ab und sammelt den Niederschlag quantitativ durch Zentrifugieren oder auf einer Nutsche. Die abgegossene Flüssigkeit und das Filtrat werden vereinigt und nochmals, bei größeren Arsenmengen, wie 0,008 g ein drittes Mal in angegebener Weise mit Aluminiumsulfat usw. behandelt. Die vereinigten Niederschläge werden noch feucht in einen etwa 300 ccm fassenden Rundkolben (Schott) gebracht und nach Zusatz von 5 g Ferrosulfat und 50 ccm 36%iger reinster Salzsäure in bekannter Weise destilliert. Das das gebildete Arsentrichlorid enthaltende Destillat wird in einer gut gekühlten Vorlage, die 100 ccm 25%iger Kalilauge enthält, aufgefangen. Man gibt 2 g Natriumbicarbonat, 1 g Jodkalium und Stärkelösung zur neutralisierten Flüssigkeit, versetzt mit $^1/_{10}$ n-Jodlösung im Überschusse und titriert zurück. 1 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung = 0,003748 g As.

W. Autenrieth u H. Taege[2]) fanden, daß der Harn nach intravenöser Einspritzung von Salvarsan eine Substanz enthält, die sich nach vorausgegangener Diazotierung mit Resorcin oder Phloroglucin zu Farbstoffen kuppeln läßt. Die Farbstärke des entstandenen Azofarbstoffes kann kolorimetrisch bestimmt werden, die Bildung der Farbstoffe verläuft proportional der vorhandenen Salvarsanmenge.

P. Bohrisch und F. Kürschner[3]) haben das von Jannasch und Seidel[4]) empfohlene Destillationsverfahren angewendet; nach diesem werden 50—75 ccm der Untersuchungsflüssigkeit in einem 500 ccm fassenden Kolben mit 100 ccm rauchender Salzsäure (1,19 spez. Gew.), 4 g Hydrazinsulfat und 2 g Bromkalium versetzt; unter guter Kühlung wird eine Stunde destilliert (bis fast zur Trockne des Kolbeninhaltes) und das Destillat in einer Vorlage, mit 75—100 ccm Wasser beschickt, aufgefangen. Das Destillat wird in einer Porzellanschale mit 30 ccm Salpetersäure auf dem Wasserbade eingedampft und dann nochmals Salpetersäure (10 ccm) zugefügt; wenn alle Säure verflüchtigt ist, nimmt man den Rückstand mit Wasser auf und bestimmt in der Lösung das Arsen gewichtsanalytisch wie angegeben als $Mg_2As_2O_7$, da die titrimetrische Bestimmung des im Destillate enthaltenen Arsens zu hohe Werte finden läßt. Noch besser ist es, wenn viel organische Substanz enthalten ist, wie auch beim Harne, diese erst nach Fresenius-Babo mit Salzsäure und chlors. Kali (S. 531) zu zerstören und mit der filtrierten, wohl besser auch noch konzentrierten Flüssigkeit die Destillation wie angegeben (Heiduschka) vorzunehmen. Man vermeidet hier Dichtungen und Stopfen von Gummi bei der Verbindung des mit einem Kugelaufsatze versehenen Destillierkolbens mit dem Liebigschen Kühler.

[1]) Apoth.-Ztg. 1911. **26.** 146.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1922. **69.** 1479
[3]) Pharm. Centrlh. 1911. **52.** 1365. 1400.
[4]) Berl. Ber. 1910. **43.** 1218.

Bei der Titration des im Destillate vorhandenen Arsens würde man dieses neutralisieren (etwa 70 ccm einer Lauge aus 40 g NaOH + 60 g Wasser), 2—3 g Natriumbicarbonat zugeben und dann mit $^n/_{10}$ Jodlösung unter Zusatz von Stärkelösung titrieren. 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung = 0,003748 g As = 0,004948 g As_2O_3.

E. E. Carlson[1]) läßt zum Nachweise von Arsen 500 ccm Harn auf dem Wasserbade zur Trockne bringen; der Rückstand wird dann mit 60—70 ccm rauchender Salzsäure (spez. Gew. 1,19) aufgenommen, in einen Destillationskolben gebracht und nach Zugabe von 10 g Eisenchlorid und 5 g Eisensulfat destilliert. Das Destillat fängt man in eisgekühltem Wasser auf, bringt es in einen Scheidetrichter und dazu 15 ccm Schwefelwasserstoffwasser. Nach Verlauf von 15 Minuten gibt man 15 ccm Äther hinzu, schüttelt die Mischung 1—2 Minuten stark, trennt den Ätherauszug von der wässerigen Lösung und versetzt mit absolutem Alkohol. Im Harne vorhandenes Arsen fällt als Schwefelarsen in schönen gelben Flocken aus. Beim Nachweise sehr geringer Spuren von Quecksilber, Blei und Kupfer soll man in gleicher Weise verfahren können.

Die verschiedenen zur quantitativen Bestimmung des Arsens im Harne angegebenen Verfahren bespricht F. Utz[2]); er gibt ein Zerstörungsverfahren des Harnes mit konz. Schwefelsäure und Wasserstoffsuperoxyd an und empfiehlt die Bestimmung des Arsens auf elektrolytischem Wege.

2. Empfindlich und bequem ausführbar ist das biologische Verfahren nach B. Gosio[3]), der biochemische Nachweis des Arsens, der auf der Eigenschaft verschiedener Schimmelpilze (etwa 30 Arten) beruht, mit Arsenverbindungen ein nach Knoblauch riechendes Gas zu entwickeln (nach P. Biginelli[4]) Diäthylarsin $As(C_2H_5)_2H$). Man bringt einige Tropfen Harn, der vorher zweckmäßig mit Tierkohle behandelt worden ist, auf Brotbrei[5]) oder auf Kartoffelstreifen, sterilisiert diese in bekannter Weise im Reagenzglase, gibt von Kulturen des Penicillium brevicaule, der sich hiezu am besten eignet, hinzu und stellt das Glas in den Brutschrank (etwa 30°). Nach 1—3tägigem Stehen wird sich bei Anwesenheit selbst minimaler Arsenmengen (noch 0,001 mg As) der erwähnte Knoblauchgeruch bemerken lassen.

Über den Nachweis von Arsenverbindungen ist noch weiter eine große Anzahl von Arbeiten, die hier ihrem Inhalte nach nicht besprochen werden können, erschienen. Es mag die Literatur genannt sein.

J. Abelin, Zum Nachweise von Salvarsan, Münch. med. Wochenschr. 1911. **58.** 1002; G. Lockemann, Nachweis kleiner Arsenmengen im Harne, Biochem. Zeitschr. 1911. **35.** 478; E. Freimuth, Salvarsannachweis, Berl. klin. Wochenschr. 1912. **49.** Nr. 4; Apoth.-Ztg. 1916. **31.** 387; (Zerstören der organischen Substanz mit Antiforminlösung); W. A. Merkuriew, Salvarsannachweis, Wien. klin. Wochenschr. 1912. **25.** 588; F. Lehmann, Ausmittelung des Arsens im Blute und Harne, Archiv Pharm. 1913. **251.** 1; C. R. Sanger und C. F. Black, zum Arsennachweise im Harne, Zeitschr. anorg. Chem. 1909. **56.** 153; K. Scheringa, zur Bestimmung kleiner Arsenmengen, Pharm. Weekblad 1920. **57.** 420; W. Kosian, Bestimmung von Arsen im Harne usw., Pharm. Post. 1915. **48.** 321. J. Bang, Arsenbestimmung im Harne, Farm. Revy, 1917. 316; Apoth.-Ztg. 1917. **32.** 327 (Abscheiden des Arsens als Arsentrichlorid); P. Duret, Nachweis, Bestimmung und Ausscheidung von Arsen und Quecksilber im Harne. Compt. rend. soc. d. biol. 1918. **81.** 736; Chem. Centralbl. 1919. **90.** II. 326; H. Egleson, Bestimmung kleinster Arsenmengen in Harne usw., Zeitschr. physiol. Chem. 1920. **111.** 201; K. Schaffer und F. Gothe, kolorimetrische Arsenbestimmung im Harne usw. (empfehlen die Bettendorfsche Methode als kolorimetrische), Zeitschr. angew. Chem. 1921. **34.** 5.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. **47.** 2310; Pharm. Centrlh. 1911. **52.** 59; Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **68.** 257.

[2]) Südd. Apoth. Ztg. 1922. **62.** 453. 464.

[3]) Riv. d'igiene e. san. p. III. Nr. 8; Pharm. Centrlh. 1898. **39.** 232.

[4]) Benedic. d. R. Acad. d. Lincei Roma. 1900. [5]. **9.** Serie 2.

[5]) R. Abel u. P. Buttenberg, Zeitschr. Hygien. 1900. **32.** 449.

Blei.

Bei akuter Bleivergiftung enthält der Harn auch Eiweiß, besonders Hämatoporphyrin, sowie Urobilin. Es werden nur geringe Mengen Blei ausgeschieden und im Anfange der Vergiftung vorgefunden.

Nachweis. Allgemeiner Gang und quantitative Bestimmung s. S. 535.

1. Vorprobe. Man kocht den mit etwas Eiweiß versetzten Harn mit Natronlauge. Bei Anwesenheit von Blei entsteht eine braune bis schwarze Färbung des Harnes (Schwefelblei; umgekehrte Probe von S. 419).
2. Man bringt nach Daiber bleifreies Magnesiummetall in Bandform in den Harn (Abram gibt noch 1 Teil Ammoniumoxalat auf 100 Teile Harn hinzu) und läßt 24 Stunden stehen. Vorhandenes Blei hat sich niedergeschlagen; man nimmt die Bleischicht weg, löst sie in Salpetersäure und stellt die S. 535 angegebenen Reaktionen an.
3. Lederer[1]) läßt 500 ccm Harn mit 70 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 20—25 g Kaliumpersulfat auf die Hälfte eindampfen. Nach dem Absetzen fügt man 250 ccm 90%igen Alkohol hinzu, filtriert nach 4 Stunden, wäscht mit Salz- und Fluorwasserstoffsäure, sowie Alkohol und durchstößt das Filter. Den Filterrückstand spült man in ein Reagenzglas mit möglichst wenig Wasser, erwärmt, setzt Natriumacetat in Substanz bis zum Klarwerden hinzu und leitet durch die kalte Flüssigkeit Schwefelwasserstoff. Die geringste bräunliche Farbe beweist die Anwesenheit von Blei.

G. Meillère[2]), dann W. Denis u. A. S. Minot[3]), auch O. Schumm[4]) empfehlen eine elektrolytische Abscheidung des Bleies.

Siehe auch S. 476 bei Hämatoporphyrin.

Lithium.

Normaler Harn scheint praktisch keine Lithiumsalze zu enthalten, doch kann solches nach dem Genusse lithiumhaltiger Mineralwässer oder nach dem Einnehmen von Lithiumsalzen nach sehr kurzer Zeit in der Harnasche nachgewiesen werden; die Ausscheidung zieht sich ziemlich lange hin.

Zum Nachweise des Lithiums verascht man größere Mengen Harn, 250—500 ccm, zieht die kohlenhaltige Asche mit verdünnter Salzsäure aus und verdampft das Filtrat auf dem Wasserbade. Den Rückstand behandelt man mit Alkohol, dampft die alkoholische Lösung zur Trockne ein, zieht den Rückstand nochmals mit Alkohol aus, dampft wieder ein und prüft den Rückstand spektroskopisch.

Bei Anwesenheit von Lithium ist eine stark rote Linie, näher an der Natriumlinie liegend, bemerkbar.

Manchmal gelingt der spektralanalytische Nachweis im Harne direkt.

---

[1]) Journ. of Americ. Assoc. Nr. 21; Pharm. Centrlh. 1907. **48.** 345.
[2]) Journ. Pharm. et Chim. 1914. [7]. **10.** 225.
[3]) Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 449.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1922. **118.** 189.

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung geben F. A. Gooch[1]) und Berger[2]) an.

Die Bestimmung kann mit der der Alkalien verbunden werden und beruht darauf, daß die Chloride von Kalium und Natrium in wasserfreiem Amylalkohol unlöslich sind, Lithiumchlorid in diesem aber sich löst.

Quecksilber.

Nach Aufnahme toxischer Dosen findet sich auch Blut und Eiweiß im Harne. Nach Sublimatvergiftung reduziert der Harn Fehlingsche Lösung und zeigt eine Rechtsdrehung. Bei Quecksilberkuren kann Nephritis hervorgerufen und eine bestehende sehr verschlimmert werden; es ist deswegen eine häufige Untersuchung des Harnes geboten. Die im Harne auftretenden Mengen von Quecksilber sind je nach der Einverleibung des Quecksilbers sehr verschiedene; doch läßt sich das Quecksilber bald, nach der Injektion schon nach einigen Stunden, bei anderen Verfahren der Applikation nach 1—2 Tagen nachweisen; die im Harne ausgeschiedenen Mengen sind keine großen, Milligramme und noch weniger. Bei Schmier- und Inhalationskuren findet man Werte bis 2 mg im Tagesurin; bei interner Aufnahme können 2—7 mg, bei intramuskulärer Injektion bis 3 mg (bei löslichen Salzen) ausgeschieden werden. Vom eingeführten Metalle werden während der Kur etwa 25% im Harne ausgeschieden (E. Bürgi).[3]) Nach Quecksilberkuren ist das Metall lange (Monate bis Jahre) nachweisbar. Nach den Beobachtungen von A. Laqueur soll das Quecksilber im Harne in Verbindung mit den Säuren und den sauren Salzen (Hippursäure, Harnsäure, sauren Phosphaten), auch mit Kreatinin zur Ausscheidung kommen.

Jedenfalls können auch noch andere Verbindungen vorkommen. So wurde ich schon von verschiedener Seite darüber befragt, wie es käme, daß Quecksilber im Harne kaum oder gar nicht nachzuweisen war, obwohl solches der ganzen Sachlage nach vorhanden sein mußte. C. Boening[4]) machte auf einen Fall aufmerksam, wo er bei Verwendung des filtrierten Harnes weder Eiweiß noch Quecksilber erhalten konnte, obwohl im flockigen weißen Sedimente die typischen Harncylinder mannigfach vorhanden waren; bei der Verwendung unfiltrierten Harnes gelang der Nachweis beider Stoffe; es ist wohl anzunehmen, daß sie beide im Sedimente als Quecksilberalbuminat vorhanden waren. Boening glaubt, daß starke Acidität und geringer Kochsalzgehalt des betr. Harnes die Ausfällung so vollständig begünstigt haben könnten.

Mir ist es sehr begreiflich und es liegt auch ganz ferne, etwas anderes anzunehmen, daß Eiweiß eben mit Quecksilbersalzen die bekannten unlöslichen Verbindungen geben kann; man muß daher stets den **umgeschüttelten,**

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1887. **26.** 354.
[2]) Archiv exp. Pathol. Pharmakolog. 1906. **55.** 1.
[3]) Archiv exp. Pathol. Pharmakolog. 1906. **54.** 439; Archiv Dermatolog. u. Syph. 1906. **79.** 134.
[4]) Chem. Ztg. 1909. **33.** 376.

unfiltrierten Harn verwenden und darf andererseits niemals vergessen, ein wenn auch noch so geringes Sediment mikroskopisch zu prüfen, zumal wenn die chemische Untersuchung auf Eiweiß ein negatives Resultat ergeben hat. Weist der mikroskopische Befund Nierenelemente auf, dann ist immer — wenn man auch die Anwesenheit von Quecksilber erwartet — an die Möglichkeit zu denken, daß das Eiweiß mit dem Quecksilber als unlösliche Verbindung schon ausgefallen sein könnte.

Nachweis und Bestimmung.

1. Es kann nach dem angegebenen Analysengang verfahren werden. Die Zerstörung des Harnes kann auch mit einer Mischung von konz. Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure erfolgen (C. Siebert).[1]) Eine abgemessene Harnmenge wird nach dem Zusatze von ungefähr 15% rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbade auf etwa ein Drittel eingedampft. Man bringt die Flüssigkeit in einen Kolben, setzt langsam eine Mischung von Salpetersäure und Schwefelsäure zu und erhitzt, bis der Kolbeninhalt farblos bleibt. Die Säure wird zum größten Teile durch Abdampfen entfernt, der Rückstand mit Wasser verdünnt, mit Ammoniak alkalisch gemacht, mit Salzsäure schwach angesäuert, wieder erhitzt (am Rückflußkühler wegen Flüchtigkeit des Quecksilberchlorids) und eine Zeitlang stehen gelassen. Ins Filtrat wird Schwefelwasserstoff eingeleitet und das Quecksilbersulfid im Goochtiegel gesammelt. Wenn sich das Sulfid kolloidal abscheiden sollte, erhitzt man nochmals.

2. Verfahren von A. Jolles[2]), Schumacher II und W. Jung[3]), A. Heinzelmann.[4])

Prinzip.

Die Verfahren beruhen auf der Zerstörung der organischen Substanz des Harnes durch Chlor, Abscheidung des gelösten Quecksilbers entweder durch vergoldetes Platin (Jolles) oder durch reinstes Zink (Schumacher und Jung) und Bestimmung des wieder gelösten amalgamierten Quecksilbers auf colorimetrischem Wege (Vignou).

Bei der Zerstörung durch Chlor hat man vorsichtig zu sein, da sonst Quecksilber zu Verluste gehen kann. Man nehme die Zerstörung in Kolben, die mit Rückflußkühler versehen sind, vor.

Ausführung.

500 ccm Harn — Jolles verwendet nur 100—150 ccm — (muß man größere Harnmengen verwenden, dann dampft man diese unter Zusatz von Kochsalz zu dieser Menge ein) werden in einem Liter- (oder $^1/_2$ Liter-) Kolben mit etwa 50 ccm (oder 5—10 ccm bei der von Jolles verwendeten Menge) konzentrierter Salzsäure und mit 1—2 g chlorsaurem Kali (nach Jolles entsprechend weniger) versetzt und am Rückflußkühler erhitzt. Man gibt die gleiche Menge an chlorsaurem Kali noch etwa zweimal hinzu, bis genügende Zerstörung erzielt ist. Nun verfährt A. Jolles weiter, wie folgt:

Die Flüssigkeit, der Kolbeninhalt, wird in schwachem Kochen erhalten, bis kein Chlorgeruch mehr wahrnehmbar ist. — Ich leite Kohlensäuregas

[1]) Biochem. Zeitschr. 1910. **25.** 328.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 230.
[3]) Ebenda. 1902. **41.** 461.
[4]) Chem. Ztg. 1911. **35.** 721.

durch die erkaltete Flüssigkeit und erhitze diese nach dem Entfernen des Chlors wieder am Rückflußkühler. — Dann wird in den Kolben ein galvanisch vergoldetes Platin-Wellblech[1]) mit Hilfe eines Platindrahtes, der durch zwei in der Platte angebrachte Ösen durchgezogen ist, eingesenkt, das Gefäß auf dem Drahtnetze mäßig erwärmt, 30 ccm Zinnchlorürlösung[2]) zugegeben und das Erwärmen durch eine Viertelstunde fortgesetzt. Das vergoldete Platin-Wellblech wird herausgenommen, nach dem Abspülen mit Wasser über eine möglichst flache, mit Ausguß versehene Schale gehalten, mit warmer verdünnter Salpetersäure abgespritzt und in die Salpetersäure gelegt, so daß es allseitig von dieser bespült ist; nötigenfalls wird noch einige Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Die salpetersaure Lösung wird für sich, nachdem die Platte entfernt und mit Wasser abgespült war, weiter auf dem Wasserbade bis auf ein Volumen von 2—3 ccm eingedampft. Diese Flüssigkeit wird in ein Reagenzglas gebracht und entweder mit dem gleichen Volumen einer Zinnchlorürlösung oder noch besser mit 2—3 ccm frisch hergestellten Schwefelwasserstoffwassers versetzt. Bei Quecksilbergegenwart entsteht in ersterem Falle eine deutliche Trübung, im letzteren Falle eine deutliche Braungelbfärbung.

Nach Schumacher-Jung.

Den wie angegeben zerstörten, durch Chlor hellgelbgrün gefärbten Harn läßt man auf etwa 80° abkühlen und setzt ohne Verzug zu der heißen Flüssigkeit etwa 12 g chemisch reines Zincum raspatum Merck hinzu. Wenn die erste stürmische Einwirkung vorüber ist, bringt man noch weitere 3 g Zinc. rasp. zu und sieht nun bald die helle Farbe des Urins wieder dunkler werden. Man läßt, unter zeitweiligem Umschütteln, 2 Stunden stehen und gießt nach dieser Zeit — bei weniger genauen Bestimmungen schon früher — die überstehende Flüssigkeit ab, doch so, daß keine Zinkteilchen zu Verluste gehen. (Beim Umschütteln setzen sich an der Oberfläche befindliche, durch Wasserstoff gehaltene Teilchen zu Boden.) Man wäscht das Zink einige Male mit Wasser aus, setzt etwas verdünnte Kalilauge zu, läßt damit einige Minuten stehen, verdünnt mit Wasser, gießt ab und wäscht noch zweimal mit Wasser nach. Das zurückbleibende Zinkamalgam und Zink löst man in vorsichtiger Weise in etwa 50 ccm verdünnter Salzsäure unter Zusatz von etwas Kaliumchlorat und mit Hilfe einer kleinen Flamme; man gibt noch von Zeit zu Zeit Kaliumchlorat hinzu, um Lösung zu erzielen und eine Verflüchtigung von Quecksilber zu verhindern. Schließlich kocht man auf (unter Zusatz von einigen Siedesteinchen), entfernt das Chlor, läßt auf etwa 70—80° erkalten, setzt dann 5 ccm Alkohol zu, kocht wieder auf, kühlt unter der Wasserleitung ab und füllt die Lösung in ein 100 ccm-Kölbchen. Man setzt Wasser zu,

[1]) Von W. C. Heraeus in Hanau erhältlich; es genügt auch ein einfaches vergoldetes Platinblech.

[2]) 40 g Zinn werden in konzentrierter Salzsäure unter Erwärmen gelöst; die verdampfte Salzsäure wird so lange ergänzt, bis sämtliches Zinn gelöst ist. Die mit etwas Wasser verdünnte Lösung wird filtriert und auf 300 ccm aufgefüllt.

dann einige Kubikzentimeter frischen Schwefelwasserstoffwassers bis zur Marke, schüttelt um und bekommt hier bei Anwesenheit von Quecksilber eine deutliche gelbe bis gelbbraune Färbung, die beim Stellen des Kölbchens auf weißes Papier deutlicher sichtbar wird.

Quantitative Bestimmung.

Nach Schumacher-Jung füllt man 10 ccm der mit Schwefelwasserstoffwasser, wie eben erwähnt, versetzten Lösung in eine Vergleichsröhre und vergleicht die Intensität dieser Färbung mit der, die man aus frisch bereiteten Sublimatvergleichslösungen nach Zusatz von Schwefelwasserstoffwasser erhalten hat. Man verwendet vielleicht eine solche Lösung, die 5 mg Quecksilberchlorid in 100 ccm enthält. Von dieser Lösung mißt man:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ccm = 0,5, 1,0, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5 dmg $HgCl_2$

in gleiche Röhrchen mit Marken bei 10 ccm, gibt Wasser hinzu, einige Tropfen Salzsäure und je 1 ccm frischen Schwefelwasserstoffwassers und füllt mit Wasser bis zu den Marken auf. Man vergleicht dann diese Färbungen nach etwa 10 Minuten langem Stehen mit der aus dem Harne gewonnenen und findet leicht die Übereinstimmung. Mit der Vergleichslösung kann man selbstverständlich Lösungen mit noch niederen und näher aneinander liegenden Werten an Quecksilber herstellen.

An Stelle der aus den Sublimatvergleichslösungen mit Schwefelwasserstoffwasser gewonnenen Färbungen kann man sich Farbstofflösungen (Janusschwarz, Janusbraun, Janusgelb von Meister, Lucius & Brüning in Höchst a. M.) von der gewünschten Intensität und Nuance herstellen. Diese Lösungen halten sich etwas länger.

Bei Anwendung von 500 ccm Harn multipliziert man die gefundene Zahl mit 20 und erfährt den Quecksilbergehalt im Liter.

Nach Jolles nimmt man als Vergleichslösung nicht die Sublimatlösung, sondern führt eine solche von bekanntem Gehalte in salpetersaures Quecksilberoxyd über, da man unter gleichen Bedingungen arbeiten muß und nach dem Verfahren von Jolles eine salpetersaure Quecksilberlösung gewonnen wird.

Z. B. 100 ccm der Vergleichsflüssigkeit enthielten 4,108 mg Quecksilberchlorid ($HgCl_2$).

50 ccm davon werden mit 10 ccm Salpetersäure (1 : 10) auf etwa 20 ccm eingedampft und mit destilliertem Wasser wieder auf etwa 50 ccm aufgefüllt. Mit dieser Lösung werden die Proberöhrchen, und zwar mit 2, 4, 6, 8, 10, 12 ccm gefüllt und dann der Reihe nach mit 10, 8, 6, 4, 2 ccm destillierten Wassers verdünnt, ebenso wird das mit 7 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllte Proberöhrchen mit 7 ccm destillierten Wassers verdünnt und nun alle Eprouvetten mit 3 ccm Schwefelwasserstoffwasser versetzt. Nach sorgfältigem Umschütteln werden die Farbenintensitäten verglichen und nötigenfalls noch Lösungen mit näher aneinander liegendem Quecksilbergehalte durch anderweitiges Verdünnen zum Vergleiche hergestellt.

Bei Harn mit höherem Quecksilbergehalte empfiehlt Jolles nur 50 bis 100 ccm zu nehmen, auf 300 ccm zu verdünnen und wie S. 544 angegeben, zu behandeln; man muß sich eben durch einen Vorversuch überzeugen, ob sich bei einem zweiten Einsenken der Platte noch Quecksilber abscheidet; in diesem Falle nimmt man weniger Harn und wiederholt damit den Vorversuch.

Nach A. Heinzelmann werden 500 ccm Harn in einem Literkolben mit 5 g Kaliumchlorat und 500 ccm Salzsäure (1,12) versetzt und erhitzt (am Rückflußkühler Sp.). Der Harn färbt sich dunkelrot und wird schließlich bei höherer Temperatur wieder hellgelb und leichtflüssig. Nach kurzem Aufkochen läßt man ungefähr auf etwa 70° C abkühlen und gibt 10 g „Zink I geraspelt" Kahlbaum hinzu. Nach etwa 12stündigem Stehen, über Nacht, wird der Harn vom Zink abgegossen und dieses im Kolben mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen. Alsdann übergießt man das quecksilberhaltige Zink im gleichen Kolben mit 50 ccm rauchender Salzsäure (1,18); es tritt leicht Lösung ein; zuerst ist stürmische Entwicklung zu beobachten. Die Lösung versetzt man mit 20 g Kaliumacetat, wobei Erwärmung entsteht. Man bringt dann die Flüssigkeit in einen 100 ccm fassenden sog. Hehner-Cylinder und spült mit soviel destilliertem Wasser nach, daß der Cylinder bis zur Marke 90 gefüllt ist, um ihn dann noch bis zur Marke 100 mit gesättigtem Schwefelwasserstoffwasser aufzufüllen. Mit einem an seinem Ende ringförmig gebogenen Glasstabe mischt man das Ganze gut durch. Inzwischen hat man sich durch Auflösen von 10 g des gleichen Zinks in 50 ccm rauchender Salzsäure und Versetzen mit 20 g Kaliumacetat die erforderliche Vergleichslösung hergestellt. Je nach den zu erwartenden Quecksilbermengen setzt man nun mit einer Pipette 5 oder 10 ccm (1 oder 2 mg Hg) einer Sublimatlösung, die 0,2710 g Quecksilberchlorid im Liter enthält, zu. In den meisten Fällen dürfte man schon mit 5 ccm = 1 mg Hg ausreichen, jedoch ist es für die Berechnung bequemer, der Vergleichslösung einen etwas größeren Gehalt, als den im Harne zu erwartenden, zu geben. Diese Lösung bringt man in den Vergleichscylinder, spült einmal mit etwas Wasser nach, füllt bis zur Marke 90 mit Wasser und bis zur Marke 100 mit Schwefelwasserstoffwasser auf. Nach 5 Minuten langem Stehen nimmt man den Vergleich vor in der Weise, daß man durch die beiden parallel gehaltenen Cylinder von oben auf eine weiße Unterlage sieht und aus dem dunkler erscheinenden Vergleichszylinder so viel ablaufen läßt, bis Farbengleichheit erreicht ist. Der Quecksilbergehalt des Harnes ist dann proportional der im Cylinder gebliebenen Flüssigkeitsmenge. Das Zugeben von Schwefelwasserstoffwasser zu den beiden Lösungen muß gleichzeitig erfolgen; die Lösungen, mit Schwefelwasserstoff versetzt, sind nur etwa 20 Minuten haltbar.

Beurteilung.

Nach diesen Verfahren — das von Heinzelmann angegebene ist empfehlenswert — läßt sich, wie W. Becker[1]) neuerdings bestätigt, das Quecksilber genau und in einfacher Weise erkennen und bestimmen, nur wird es vielleicht in manchen Fällen angenehm, ja notwendig sein,

[1]) Pharm. Ztg. 1909. **54.** 987.

das Quecksilber in Substanz oder in einer charakteristischen Verbindung vorlegen zu können; in solchen Fällen kann man in dem zerstörten, von Chlor befreiten Harne auf zerschnittenen blanken Kupferblechstückchen das Quecksilber niederschlagen und das mit Wasser, Alkohol, Äther gewaschene amalgamierte Kupferblech nach S. 535, 549 behandeln.

C. Stich erwärmt die Kupferblättchen (man nimmt dünne Blättchen) zwischen 2 Objektträgern, einem flachen, einem mit Ausschliff; man sieht mikroskopisch dann die Quecksilberkügelchen. Verdunstet man einige Tropfen Jodtinktur in dem Ausschliffe eines Objektträgers bei gewöhnlicher Temperatur, bringt darüber den mit dem Quecksilberbeschlag behafteten Objektträger, so sieht man nach einiger Zeit Quecksilberjodidkryställchen.

Schumacher und Jung[1]) fällen in dem wie angegeben zerstörten, von Chlor möglichst befreiten Harne durch Zusatz von 100 ccm Zinnchlorürlösung (S. 545) das Quecksilber aus und sammeln den Niederschlag auf einem Asbestfilter (durch Aufschwemmen von gereinigtem Asbest[2]) auf einer Porzellansiebplatte) mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe. Der ausgewaschene Niederschlag wird mit wenig Kalilauge und Wasser in einen Kolben gespült, die Flüssigkeit schwach erwärmt und nach Zusatz von wenig Kaliumchlorat und Salzsäure wieder gelinde erwärmt. Die filtrierte Lösung versetzt man noch warm abermals mit 10—20 ccm der Zinnchlorürlösung und filtriert das reduzierte Quecksilber durch ein gewogenes sog. Zuckerröhrchen (S. 323), bei dem der engere Teil mit Asbest, der darauf folgende mit Goldasbest[3]) beschickt wird, worin kleine Goldkörnchen verteilt sind. Man wäscht mit verdünnter Salzsäure und Wasser, dann dreimal mit Alkohol und Äther aus, trocknet das Röhrchen im trockenen Luftstrome und wägt. Nun wird das Quecksilber durch starkes Erhitzen des Röhrchens im Luftstrome weggeglüht und das Röhrchen wieder gewogen. Differenz = Hg.

Schaltet man an dem verjüngten Teile des Filtrieramalgamierröhrchens ein mit einem bauchigen Teile versehenes Röhrchen ein (— die Dichtung wird am geeignetsten durch eine Asbestumwicklung hergestellt —), so tritt in dieses das Quecksilber ein und kann durch Jod in bekannter Weise charakterisiert werden (S. 535, 549).

Als exakte und einfache Methode wird das von P. Farup[4]) angegebene Verfahren bezeichnet und empfohlen. Die Tagesmenge oder 1 Liter Harn, gegebenenfalls auch weniger, wird nach Zusatz von 3—4 ccm konzentrierter Salzsäure in einem mit etwa 50 cm langen Steigrohr von Glas versehenen geräumigen starkwandigen Kolben auf dem Wasserbade auf 70—80° erwärmt und darauf mit ungefähr 6 g Zinkstaub tüchtig geschüttelt. Nach dem Erkalten und Absetzen des Niederschlages filtriert man die Flüssigkeit durch eine mit reinem Seidenasbest bedeckte Wittsche Platte, in einem Trichter befindlich, am besten mit der Saugpumpe; es muß die Asbestschicht so dicht sein, daß jedes Durchgehen von Metallpulver ausgeschlossen ist; die untere Schicht des Asbestbelages muß nach der Filtration vollständig weiß aussehen. Den Asbest mit Zinkstaub bringt man zu dem Inhalte des Kolbens, in dem die Hauptmenge des Zinkpulvers noch vorhanden ist, quantitativ zurück. Man spült mit 80 ccm verdünnter Salzsäure (konz. Säure und Wasser zu gleichen Teilen) nach und erwärmt nach Zusatz von 3 g in Wasser gelöstem chlorsaurem Kali den Inhalt des wieder mit Steigrohr oder Rückflußkühler versehenen Kolbens auf dem Wasserbade, bis der Kolbeninhalt gelöst ist. Nach dem Erkalten filtriert man durch ein gehärtetes Filter in einen etwa 200 ccm fassenden Kolben, erwärmt das durch Chlor grüngefärbte Filtrat auf 60° und versetzt es mit einer frischbereiteten Zinnchlorürlösung, bis die Flüssigkeit völlig entfärbt ist. (Man kocht Zinn im Überschusse mit konz. Salzsäure und verwendet vom klaren Filtrat etwa 15—20 ccm.) Das Quecksilber fällt in Form feiner grauer Kügelchen aus. Nach dem Erkalten auf 40° wird die Flüssigkeit durch ein wie vorhin schon beschriebenes Asbeströhrchen, das unten mit Seidenasbest, darüber mit einer Schicht von etwa 1 cm mit Goldasbest versehen ist, filtriert. Weiter verfährt man wie bei dem von Schuhmacher und Jung beschriebenen und angewendeten Verfahren.

3. Nachweis nach der Methode von Stuckowenkow.

Prinzip.

Das von B. Bardach[5]) und J. Malkes[6]) empfohlene Verfahren ist ein sog. Anreicherungsverfahren. Es beruht darauf, daß das Quecksilber mit Eiweiß beim Kochen aus dem mit Essigsäure schwach angesäuerten Harne als Albuminat ausgeschieden wird.

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 12.

[2]) Der Asbest muß sehr gut gereinigt sein; man kocht ihn zuerst mit Säuren (konz. Salzsäure) aus, wäscht ihn dann mit Wasser und behandelt ihn nun mit heißer Lauge, worauf wieder gründliches Waschen mit Wasser folgt.

[3]) Zur Herstellung des Goldasbestes hängt man gereinigte feine Asbestfäden in eine ziemlich konzentrierte Goldchloridlösung, trocknet die Fäden in einem Porzellantiegel (Roseschen Tiegel) und erhitzt den Tiegel mit Inhalt schließlich über freier Flamme unter Darüberleiten eines Stromes gereinigten Wasserstoffes.

[4]) Archiv exp. Patholog. Pharmakolog. 1900. **44.** 272.

[5]) Zentralbl. f. innere Mediz. 1901. **22.** 361; Münch. med. Wochenschr. 1911. **48.** 718; Chem. Ztg. 1909. **33.** 376. 431. 673.

[6]) Chem. Ztg. 1900. **24.** 816.

Ausführung.

In 500 ccm Harn, der vorher tüchtig umgeschüttelt, nicht filtriert worden ist, werden etwa 5 ccm Eiweiß, Hühnereiweiß, das mit der gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung in einem Mörser tüchtig verrieben wurde, aufgelöst. Die Flüssigkeit wird im Wasserbade bis zur vollkommenen Gerinnung des Eiweißes erwärmt, das ausgeschiedene Eiweiß wird auf einem Filter gesammelt, ausgewaschen, zwischen Filtrierpapier getrocknet und in einem Mörser mit etwa 10 ccm konzentrierter Salzsäure verrieben. Man fügt noch weitere 40 ccm Salzsäure hinzu und läßt die Flüssigkeit, in die man eine blanke Kupfer- oder Messingspirale gebracht hat, in einem Becherglase etwa 24 Stunden stehen. Das bei Anwesenheit von Quecksilber amalgamierte Kupferblech wird zuerst mit kaltem, dann warmem Wasser, hierauf mit Alkohol, Äther abgespült und an der Luft getrocknet. Das Blech oder die Spirale bringt man in ein enges, an einer Seite zugeschmolzenes Glasröhrchen; an den oberen Rand der Spirale oder des Bleches wird ein kleines Kryställchen Jod sublimiert, dann wird das Gläschen von unten nach oben hin erwärmt, wobei das Quecksilber sublimiert und sich mit dem Jod zu schön rotem Jodid verbindet, das auch mikroskopisch an den schönen Krystallen nachgewiesen werden kann.

Bardach läßt in 250—1000 ccm Harn 0,8 g fein gepulvertes Eieralbumin auflösen, gibt auf 500 ccm Harn 5—7 ccm 30%iger Essigsäure zu, erhitzt $^1/_4$ Stunde im siedenden Wasserbade und filtriert. Den Niederschlag schüttelt man mit 10 ccm Salzsäure (1,19), fügt eine blanke, etwa 2 cm lange Kupferspirale aus 40 cm langem, dünnem Drahte zu und läßt im Erlenmeyer-Kölbchen $^3/_4$ Stunde lang im siedenden Wasserbade stehen. Die Spirale wird weiter in der angegebenen Weise behandelt, ebenso auch vorhandenes Quecksilber identifiziert.

F. Glaser und A. Isenburg[1]) haben das Quecksilber durch Tonerdehydrat niedergeschlagen. Auf 250 ccm des umgeschüttelten Harnes verwendet man 5 g Aluminiumsulfat purissimum Merck und fällt in der Wärme mit Ammoniak. Man filtriert heiß, saugt ab, übergießt den Niederschlag mit konzentrierter Salzsäure und behandelt ihn $^3/_4$ Stunden lang auf dem siedenden Wasserbade in Gegenwart einer Kupferspirale, die von der Salzsäure bedeckt ist usw.

Beurteilung.

Diese Methode wird als sehr brauchbar bezeichnet. Glaser u. Isenburg erhielten mit dieser einfachen Methode (Eiweiß- oder Tonerdehydrat) sehr zuverlässige Ergebnisse; im Filtrate war kein Quecksilber mehr nachweisbar, während nach anderen Methoden von Zenghelis, Almén und Eschbaum das Quecksilber niemals alles zur Ausscheidung kam.

Beim Erhitzen des mit Eiweißlösung versetzten Harnes möchte ich anraten, mit dem Zusatze von Essigsäure vorsichtig zu sein und nicht zuviel zu verwenden.

Von C. Lombardo[2]) wird ein mikrochemischer Quecksilbernachweis angegeben. Man setzt zu 5 ccm Harn einen Tropfen Hühnereiweiß, schüttelt kräftig durch und fügt 2—3 ccm einer frisch bereiteten 12%igen Zinnchlorürlösung hinzu. Dann wird die Flüssigkeit mit 25%iger Salzsäure übersättigt. Wenn der Harn durchscheinend geworden ist, wird zentrifugiert und der gewonnene Niederschlag bei etwa 600facher Vergrößerung unterm Mikroskope untersucht. Ist Quecksilber vorhanden, dann findet man dieses in sehr kleinen Quecksilberkügelchen vor.

Eine andere mikrochemische Methode empfiehlt P. E. Raaschou.[3])

4. Zur Bestimmung und zum Nachweise geringer Mengen Quecksilber im Harne wendet C. Zenghelis[4]) die Jodidmethode in einer besonderen Form an.

---

[1]) Chem. Ztg. 1909. **33.** 1258.
[2]) Monatsh. prakt. Dermatolog. 1909. **44.** 116; Pharm. Centrlh. 1909. **50.** 686.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1910. **49.** 172.
[4]) Ebenda. 1904. **43.** 544.

5. Zum Nachweis und zur Bestimmung sehr geringer Quecksilbermengen kann man sich nach E. Jaeneke[1]) der Wägung dieser mit Hilfe der Nernst-Wage bedienen. Der Harn wird auch hier mit 2 g Kaliumchlorat und 10 g konz. Salzsäure versetzt und einige Stunden auf dem Wasserbade (Rückflußkühler) erhitzt, bis die Lösung nur noch schwach gelb gefärbt ist. Das gelöste Quecksilber wird in bekannter Weise auf Kupferdraht niedergeschlagen, das Quecksilber vom Kupferdrahte wieder abdestilliert, das abdestillierte in einem Gemische aus verdünnter Salpetersäure und verdünnter Schwefelsäure unter Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst und die Lösung nach Zusatz von 5%iger Kaliumsulfatlösung in einem kleinen, als elektrolytischer Trog dienenden Wägegläschen elektrolysiert, wobei als Kathode ein Golddraht benützt wird. Der Golddraht wird nach beendeter Elektrolyse in bekannter Weise getrocknet und auf der Nernst-Wage gewogen.

6. In ähnlicher Weise verfährt O. Schumm.[2]) Als Kathode wird „elektrolytisches" Goldblech benützt. H. Buchtala[3]) empfiehlt die elektrolytische Bestimmung in dem mit Salzsäure und Kaliumchlorat zerstörten Harne, als Kathode dient ebenfalls ein Goldblech, als Anode leitfähige Gaskohle.

7. E. Salkowski[4]) läßt 1 Liter Harn nach Zusatz von 4 ccm 25%iger Salzsäure eindampfen, dann mit Salzsäure und Kaliumchlorat zerstören und mit Alkohol ausziehen. Der Rückstand der filtrierten und eingedampften alkoholischen Lösung (vorh. Hg ist als $HgCl_2$ in Lösung) wird mit 40 ccm absol. Alkohols behandelt, worauf man 60 ccm Äther zugibt und das Filtrat abermals eindampft. Mit 10 ccm Wasser wird der Rückstand unter starkem Schütteln aufgenommen. Im Filtrate vorhandenes Quecksilber wird nach dem Ansäuern der Lösung mit 5 Tropfen konz. Salzsäure durch Zinnchlorürlösung abgeschieden und durch Erhitzen der Fällung mit Joddampf in rotes Jodid übergeführt. Entstehendes Zinnjodid löst sich in verd. Salzsäure (1 T. 25%ig: 9 T. Wasser).

In ähnlicher Weise verfährt J. Abelin[5]), auch A. Klotz.

Die übrigen empfohlenen Methoden sollen in ihrem Prinzipe Erwähnung finden, da sie nach den vorliegenden und den selbst gewonnenen Erfahrungen an Genauigkeit die angegebenen nicht übertreffen.

F. Eschbaum[6]) verwendet das bekannte G. Alménsche[7]) Verfahren und scheidet das Quecksilber durch Kochen des Harnes mit etwas Traubenzucker unter allmählichem Zusatze von Natronlauge mit den Phosphaten zugleich aus; der Niederschlag wird mit Salzsäure behandelt, gelöst und aus der Lösung das Quecksilber durch Kupfer- oder Messingdraht ($1^1/_2$stündiges Erhitzen zum schwachen Sieden) abgeschieden. Eschbaum[8]) verwendet, was schon von M. Höhnel[9]) empfohlen wurde, Cyankalium und digeriert den Harn nach dem Abstumpfen der Säure mit Natronlauge bei 60—70°; sonst ist das weitere Verfahren das frühere.

K. Enoch[10]) kocht den Harn (500 ccm) mit Natronlauge in geringem Überschusse und löst den gewaschenen Phosphatniederschlag unter gelindem Erwärmen in verd. Salpetersäure (5 ccm Salpetersäure 1,4 spez. Gew. auf 100 ccm Wasser). Das Filter wird mit heißem Wasser nachgewaschen, das Filtrat auf 150 ccm verdünnt und noch soviel Salpetersäure (1,4) zugegeben, daß sie 5 Vol.-Proz. der Gesamtflüssigkeit ausmacht. Auf eine verkupferte Platinelektrode wird das in der Flüssigkeit vorhandene Quecksilber mit Hilfe des elektrischen Stromes niedergeschlagen.

H. Palme[11]), H. Ilzhoefer[12]) verfahren nach bereits bekannten Verfahren, ersterer nach dem von Raaschou, letzterer nach dem von Buchtala empfohlenen.

W. Autenrieth und W. Montigny[13]) empfehlen ein Verfahren, das auf der kolorimetrischen Vergleichung kolloidaler Lösungen von Schwefelquecksilber beruht; es wird das Kolorimeter von Autenrieth unter Zuhilfenahme eines geeichten Vergleichskeiles benützt.

R. Fabre[14]) beschreibt ein ähnliches Verfahren, wie das von Schuhmacher und Jung, von Farup.

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1904. **43.** 547.
[2]) Ebenda. 1905. **44.** 73; Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **84.** 239; Biochem. Zeitschr. 1914. **61.** 27.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **83.** 249.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **72.** 387. **73.** 401; Pharm. Centrlh. 1911. **52.** 1292.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **59.** 1812.
[6]) Deutsch. med. Wochenschr. 1900. **26.** 52.
[7]) Zeitschr. analyt. Chem. 1887. **26.** 669.
[8]) Pharm. Ztg. 1902. **47.** 260.
[9]) Ebenda. 1900. **45.** 126.
[10]) Zeitschr. öffentl. Chem. 1907. **13.** 307.
[11]) Zeitschr. physiol. Chem. 1914. **89.** 345.
[12]) Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 14.
[13]) Münch. med. Wochenschr. 1920. **67.** 928.
[14]) Journ. Pharm. et Chim. 1920. **22.** 81.

Uran.

Nach den Untersuchungen von R. Kobert[1]) das giftigste Metall, ist es für uns insoferne interessant, als die Anwendung von Uransalzen gegen Diabetes empfohlen wurde. R. Kobert warnt dringend vor Darreichung von Uranpräparaten an Patienten. Minimale Dosen verursachen Glykosurie, größere Albuminurie, noch größere Cylindrurie und Blutharnen. Im Harne findet sich nach dem Einnehmen von Uransalzen Uran nur in Spuren vor.

Wismut.

Nach toxischen Dosen von Wismut findet man Eiweiß und Blut im Harne. Wismut geht reichlich in den Harn über. Dorner-Weingärtner.[2])

Nach W. H. Higgins[3]) sollen besonders Nierenkranke bei der Behandlung mit Wismutsalzen einer größeren Gefahr ausgesetzt sein.

Wismut findet sich (S. 535) im Rückstande des in Schwefelammonium unlöslichen Teiles des Schwefelwasserstoffniederschlages und geht beim Behandeln mit Salpetersäure mit Kupfer und Blei in Lösung.

Nachweis.

Die salpetersaure Lösung wird konzentriert, mit einigen Kubikzentimetern Schwefelsäure verdampft, nach dem Erkalten mit wenig Wasser verdünnt und das ausgeschiedene Bleisulfat abfiltriert. Das Filtrat ($CuSO_4$ und $Bi_2(SO_4)_3$) übersättigt man mit Ammoniak; ein weißer Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Wismut an.

Dieser Niederschlag ($BiSO_4OH$) wird abfiltriert und in wenig Salzsäure gelöst; die Lösung versetzt man mit alkalischer Zinnchlorürlösung; eine schwarze Fällung zeigt die Anwesenheit von Wismut (Wismutoxydul BiO) an.

Quantitative Bestimmung.

Hiezu dampft man die schwefelsaure Lösung von Kupfer und Wismut nach Entfernung vom Bleisulfat ein, nimmt mit etwas salzsäurehaltigem Wasser auf und fällt durch Schwefelwasserstoff. Die Sulfide löst man in Salpetersäure, verdampft die Lösung im Wasserbade, nimmt den Rückstand mit wenig Wasser auf, versetzt die möglichst neutrale Nitratlösung mit verdünnter Kochsalzlösung und verdünnt mit viel Wasser. Das abgeschiedene Wismutoxychlorid filtriert man auf einem bei 100° gewogenen und getrockneten Filter ab, wäscht mit Wasser, das einige Tropfen Salzsäure enthält, und trocknet Filter mit Inhalt bei 100°.

$$BiOCl \,.\, 0{,}802 = Bi.$$

Das BiOCl kann man noch mit der 5fachen Menge von Cyankalium schmelzen, das entstandene metallische Wismut nach dem Lösen der Schmelze in Wasser auf einem Filter sammeln, mit Alkohol waschen, trocknen und wägen.

---

[1]) Lehrbuch der Intoxikationen. F. Enke, Stuttgart 1904.
[2]) Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1910. **98.** 258.
[3]) Pharm. Weekblad. 1916. **13.** 1649.

Man kann auch aus dem zerstörten Harne, wenn nur auf Wismut Rücksicht zu nehmen ist, dieses durch Schwefelwasserstoff aus allerdings schwach saurer Lösung fällen, das Sulfid durch einen Goochtiegel oder durch ein gewogenes Filter filtrieren, den Rückstand mit Schwefelwasserstoffwasser, dann mit Alkohol, mit reinem schwefelfreiem Schwefelkohlenstoff, dann wieder mit Alkohol und Äther waschen, bei 100° trocknen und wägen. Wismutsulfid (Bi_2S_3) . 0,81259 = Wismut.

Einen schnellen Nachweis von Wismut im Urin und Speichel erwähnt D. Ganassini.[1])

Prüfung auf andere anorganische Stoffe, Arzneimittel.

Borax. Borsäure. $Na_2B_4O_7 + 10H_2O$. $B(OH)_3$.

Die Ausscheidung im Harne beginnt nach kurzer Zeit (10 Minuten), die Hauptmenge der Borsäure wird durch die Nieren ausgeschieden. Die Ausscheidung dauert längere Zeit. Nach G. Moscati[2]) soll Harn regelmäßig Bor enthalten.

Nachweis.

1. Man dampft den Harn unter Zusatz von Natriumcarbonat ab, nimmt mit Schwefelsäure auf und extrahiert mit Alkohol, besser noch mit Methylalkohol. Die filtrierte alkoholische Lösung verbrennt bei Anwesenheit von Borsäure mit grüngesäumter Flamme.
2. Curcumapapier wird, mit einer mit Salzsäure angesäuerten Lösung von Borsäure befeuchtet, nach dem Trocknen rotbraun; mit verdünnter Kalilauge (auch Sodalösung) färbt sich das rotbraun gewordene Papier schwarzblau.

Bromverbindungen. Bromsalze.

Nach Bromtherapie erschienen nur 22—32% im Harne, ein großer Teil wird im Organismus zurückgehalten (Ch. Féré, E. Pflaumer, R. Laudenheimer, v. Wyss). Nach Guareschi kann man die Ausscheidung sehr lange beobachten; er meint, daß, was schon Rabuteau 1868 als sicher hinstellte, Brom im Harne jedes Menschen enthalten ist.

Nachweis (s. auch S. 83).

1. Wenn nicht größere Mengen vorhanden sind, kann die Abscheidung des freigemachten Broms im Harne direkt nicht vorgenommen werden, da Harn freies Brom bindet. Man verascht größere Mengen Harn, den man mit Ätznatron oder kohlensaurem Natron eingedampft hat, und gibt zur Lösung der Asche frisches, starkes Chlorwasser und Salzsäure und schüttelt mit Schwefelkohlenstoff oder Chloroform aus; Gelbfärbung bis Braunfärbung der letzteren zeigt Brom an.
2. Eine bequeme und schnelle Methode gibt A. Jolles[3]) an.

---

[1]) Boll. Chim. Farm. 1922. **61.** 321; Chem. Centralbl. 1923 **94.** II. 78.
[2]) Archiv di scienc. biol. 1922. **3.** 279; Ber. ges. Physiol. 1922. **15.** 178.
[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1898. **37.** 439.

Prinzip.

Paradimethylphenylendiaminchlorhydrat gibt mit Brom einen roten Farbstoff. Man verwendet Filtrierpapier, das mit einer Lösung des Reagens (0,5 : 500 ccm Wasser) getränkt und getrocknet ist.

Ausführung.

10 ccm Harn werden in einem enghalsigen Kölbchen mit Schwefelsäure angesäuert und mit Kaliumpermanganat bis zur Rotfärbung versetzt. In dem Halse des Kölbchens wird ein angefeuchteter Streifen des Papiers (durch Einklemmen in einen Kork) angebracht und das Kölbchen auf dem Wasserbade erwärmt. Bei Anwesenheit selbst von Spuren von Brom entsteht auf dem Papier der charakteristische Farbenring (im Innern violett, am Rande blau, grün, braun). Baubigny verwendet Fluoresceinpapier — Fluorescein in 50%iger Essigsäure gelöst, damit werden Filtrierpapierstreifen getränkt und an der Luft getrocknet —, das sich unter Bildung von Eosin rot färbt.

Nach P. Cathcart[1]) ist die Probe von Jolles bei sehr kleinen Mengen von Brom unsicher. Das gleiche gilt von der Fluoresceinprobe. Eine leichte Rosafärbung kann nach der letzten Probe auch normaler Harn geben; nur eine deutliche Farbe ist beweisend.

Chlor, freies.

Nach Chlorvergiftungen ist der Harn braun, er reagiert alkalisch und enthält reichlich Cylinder (Blutcylinder) und Blutkörperchen, zum Teil zertrümmert.

Chlorsaures Kali. $KClO_3$. **Chlorate.**

Dieses wird schnell resorbiert und fast unzersetzt durch den Urin (Speichel usw.) ausgeschieden; die Ausscheidung ist innerhalb 36 Stunden beendigt; zugleich wird ein dunkler, methämoglobinhaltiger Harn entleert.

Nachweis.

1. Man findet Chlorsäure im Harne, wenn man den nötigenfalls verdünnten Harn (bei starker Färbung) mit Salzsäure ansäuert und mit Jodkalium und Stärkelösung versetzt. Bei gelindem Erwärmen entsteht aus Salzsäure und chlorsaurem Kali Chlor, das aus Jodkalium Jod frei macht und die Stärke bläut.
2. Säuert man Harn mit etwas Schwefelsäure an, färbt mit Indigolösung schwach blau und fügt nun einige Tropfen einer Lösung von schwefliger Säure oder von Natriumsulfit zu, so tritt bei Anwesenheit der Chlorsäure Entfärbung ein. (Rabuteau.)[2])
3. Harn (1 ccm) färbt sich mit 4 ccm einer Lösung von 50 g Anilinchlorhydrat: 100 ccm Salzsäure (1,12—1,145) purpurfarben, bei größerer Menge Chlorate hellblau, purpurblau, zuletzt grün (J. F. Virgili).[3])

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. **38.** 165.
[2]) Gazette med. de Paris 1868. 665; Zeitschr. anal. Chem. 1869. **8.** 223.
[3]) Annal. Chim. anal. appl. 1910. **14.** 85. 170; Zeitschr. analyt. Chem. 1911. **50.** 132.

Zur quantitativen Bestimmung fällt man den Harn mit Bleiessig, entfernt den Überschuß durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat vom Schwefelblei ein. Den Rückstand zieht man mit wenig heißem Wasser aus, filtriert und fällt die Chloride mit Silbernitrat aus. Das im Überschusse zugesetzte Silber entfernt man mit chlorfreiem Natriumcarbonat, filtriert und glüht den Trockenrückstand. Das chlorsaure Kali geht hiebei in Chlorkalium über, dessen Chlormenge sich leicht nach einer der S. 80—82 angegebenen Methoden bestimmen läßt.

Die durch Behandeln des Abdampfrückstandes mit heißem Wasser gewonnene Lösung kann man auch auf ein bestimmtes Volumen bringen und in einem Teile die Menge der vorhandenen Chloride ermitteln. Den anderen Teil der Lösung trocknet man unter Zusatz von reinster Soda ein und glüht. Im Rückstande bestimmt man wieder die Chloride, die sich nun, wenn Chlorate zugegen sind, dementsprechend vermehrt vorfinden.

Jodverbindungen, Jodsalze.

Diese gehen sehr rasch, schon nach einigen Minuten als Jodalkalien in den Harn über, und zwar erscheint fast rund $^3/_4$ der Gesamteinnahme im Harne (H. Anten[1]), Kellermann).

Doch kommt es auch auf die betreffende Jodverbindung an, so ist z. B. bei organischen Jodverbindungen die Jodausscheidung von der Schnelligkeit, mit der der organische Komponent oxydiert wird, abhängig.

Beim Einführen von Jod-Ion auf elektrolytischem Wege beginnt nach G. Bourguignon und Conduche[2]) die Ausscheidung von Jod im Urin erst nach einigen Tagen und steigt langsam zu einer gewissen Höhe. Der Abfall erfolgt wieder allmählich.

Nachweis.

1. Man versetzt Harn (10 ccm) mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure oder Chlorwasser und Chloroform oder Schwefelkohlenstoff; bei Anwesenheit von Jod wird das Chloroform usw. sehr schön rotviolett gefärbt. Siehe auch S. 83.

   Zum Nachweise von Chlor, Brom und Jod in organischen Verbindungen verfährt man, wenn nicht flüchtige Verbindungen zugegen sind, wie bei der quantitativen Bestimmung des chlorsauren Kalis angegeben wurde. Man fällt den mit Salpetersäure stark angesäuerten Harn mit Silberlösung im Überschuß, scheidet aus dem Filtrate das vorhandene Silber durch kohlensaures Natron ab und dampft das Filtrat hievon mit einigen Grammen Kalisalpeter ein. Man glüht den Verdampfungsrückstand und bestimmt in diesem die Halogene, wie S. 83 angegeben wurde.

   Sind flüchtige Verbindungen vorhanden, dann leitet man durch den, wenn nötig, etwas erwärmten Harn einen Luftstrom und diesen, der die flüchtigen Verbindungen aufnimmt, durch eine zum Glühen erhitzte Verbrennungsröhre. Mit dieser ist ein zum Teil mit Silberlösung gefüllter Kugelapparat verbunden, der die beim Erhitzen der flüchtigen organischen Halogenverbindungen entstandene Salzsäure, den Jod- oder Bromwasserstoff (auch freies Jod) aufnimmt und bindet.

2. Man kann auch den Harn mit etwas Kaliumnitrit und konzentrierter Schwefelsäure und Chloroform oder Schwefelkohlenstoff versetzen; letztere werden violettrot gefärbt.

---

[1]) Archiv exp. Pathol. Pharmakolog. 1902. **48.** 331.

[2]) Compt. rend. d. l Acad. des scienc. 1922. **174.** 1637; Chem. Centralbl. 1922. **93.** III. 1384.

Beurteilung.

Da eine rötliche Färbung des Chloroforms auch durch Harnfarbstoffe (Indoxyl, Urorosein) veranlaßt werden kann, so hat man der Vorsicht halber einige Tropfen Natriumthiosulfatlösung zuzusetzen. Bei Gegenwart von Jod wird das Chloroform wieder entfärbt.

3. B. Ehrmann[1]) empfiehlt folgende Probe: 2 ccm Urin werden mit 0,5—1,0 ccm verdünnter Salzsäure und 0,5 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt; das freigewordene Jod wird mit 1 ccm Toluol oder Chloroform aufgenommen.
4. A. Jolles[2]) läßt 10 ccm Harn mit 10 ccm konz. Salzsäure (1,19) und 2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung versetzen und das Jod mit 2 ccm Chloroform ausschütteln; die violette Chloroformlösung wird nach Entfernung der darüber stehenden wässerigen Schicht beim Schütteln mit 2 ccm 10%iger Natronlauge entfärbt; ist Indican vorhanden, dann tritt die blaue Indigofärbung ein; es kann mit der Jodprobe auch die Prüfung auf den Indikangehalt des Harnes verbunden werden.
5. J. Schumacher[3]) wendet Ammoniumpersulfat in einem Falle an; für einen weiteren Nachweis wird Wasserstoffsuperoxyd und alkoholische Benzidinlösung empfohlen.
6. Etwas Harn mit Stärkekleister und frischem Chlorwasser versetzt, wird bei Anwesenheit von Jod dunkelblau gefärbt; man kann auch den mit etwas Stärkekleister vermischten Harn vorsichtig auf konzentrierte gelbliche Salpetersäure schichten (Ringprobe); ein entstehender blauer Ring — Jod.

Beurteilung.

Probe 6 ist einwandfrei und scharf; bei den anderen könnte in größerer Menge vorhandenes Indican stören.

7. Nach F. Lesser[4]) verrührt man zum Nachweise von Jod ein paar Tropfen Urin auf einem Objektträger mit Kalomel; bei Anwesenheit von Jod tritt Gelbfärbung ein (Jodquecksilber).

Die Probe ist nicht immer zuverlässig.

Kohlenoxydgas. CO.

Ist nicht als solches nachweisbar; der Harn reduziert wegen hohen Zuckergehaltes und ist eiweißhaltig.

Phosphor. P.

Bei Phosphorvergiftung wird wenig Harn (meist ikterisch braungefärbt) entleert, der Gallenfarbstoffe, Gallensäuren, Eiweiß, Leucin, Tyrosin, Oxysäuren in vermehrter Menge, Fette, Fettsäuren, auch Zucker, Cylinder, Epithelien enthalten kann. Der Harnstoffgehalt nimmt stark ab.

Nach der Literatur der letzten Jahrzehnte kann die Ausscheidung unveränderten Phosphors im Harne verneint werden. Die Frage wegen des Vorkommens von Oxydationsprodukten des Phosphors im Harne liegt nicht ganz so klar.

Eine Prüfung des Harnes nach Mitscherlich führt zu keinem positiven Ergebnis.

Säuren und ätzende Alkalien.

Im Harne finden sich Blut und Eiweiß. Nach Intoxikationen mit Säuren sind in den ersten Stunden im Urin die betreffenden Salze vermehrt, die Reaktion ist stark sauer; bei Vergiftung mit Alkalien ist die Reaktion stark alkalisch.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1913. **50.** 1400.
[2]) Ebenda. 1913. **50.** Nr. 41.
[3]) Deutsch. med. Wochenschr. 1915. **41.** 2. 532.
[4]) Pharmaz. chesk. Journ. 1915. **54.** 265.

II. Organische Stoffe.

Alkaloide.

Die Alkaloide werden nach den angestellten Versuchen durch den Harn bald nach ihrer Aufnahme wohl zum größten Teile in unveränderter Form ausgeschieden und können an den, den einzelnen Alkaloiden zukommenden, charakteristischen Reaktionen erkannt werden.

Der zur Isolierung der einzelnen Alkaloidgruppen einzuschlagende Gang — das Ausschüttelungsverfahren nach Stas-Otto — ist folgender:

Man dampft eine größere Menge Harn (500—2000 ccm) auf dem Wasserbade zum Sirup ein und extrahiert den Verdampfungsrückstand nach Zusatz von etwas Weinsäure mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbade am Rückflußkühler. Man filtriert von den ausgeschiedenen Salzen ab und verdunstet das alkoholische Filtrat bei nicht zu hoher Temperatur. Den Rückstand nimmt man mit Wasser auf und schüttelt nun zuerst bei saurer Reaktion mit Äther 2—3mal aus. Die Ätherlösung läßt man verdunsten. Rückstand I, der Colchicin, Pikrotoxin enthalten kann.

Die mit Äther erschöpfte wässerige saure Flüssigkeit wird durch gelindes Erwärmen vom Äther befreit und mit Natronlauge im Überschusse versetzt; diese alkalische Flüssigkeit wird nun gleichfalls wiederholt mit Äther ausgeschüttelt, und zwar empfiehlt es sich, hiebei möglichst rasch zu arbeiten, da die Löslichkeit der Alkaloide durch eintretende Krystallisation vermindert wird. Mit Ausnahme des Morphins, das durch die im Überschusse vorhandene Natronlauge in Lösung gehalten und aus der ammoniakalischen Lösung von Amylalkohol aufgenommen wird, gehen die meisten Alkaloide in den Äther über. Die Ätherlösungen werden wie oben angegeben behanhelt; bei diesem Verdunsten hinterbleiben etwa vorhandenes Nicotin und Coniin als ölige Tropfen von bekanntem Geruche, andere Alkaloide in amorphem oder krystallinischem Zustande.

In diesem Ätherauszuge können enthalten sein — Rückstand II:

Aconitin, Atropin, Brucin, Chinin, Cocain, Coniin, Delphinin, Emetin, Hyoscyamin, Kodein, Narkotin, Nicotin, Papaverin, Physostigmin, Strychnin, Thebain, Veratrin.

Die vom Äther befreite wässerige, alkalische Flüssigkeit wird nach Zusatz von Chlorammonium ammoniakalisch gemacht und, wenn Apomorphin in Frage kommt, erst mit Äther, anderenfalls sogleich mit Amylalkohol, der auf etwa 50° erwärmt ist, wiederholt ausgeschüttelt und der Amylalkohol verdunstet — Rückstand III:

Morphin, Coffein, Theobromin, Curarin, Cinchonin, Muscarin, Solanin.

Morphin wird aus der carbonat- oder bicarbonathaltigen Flüssigkeit (man gibt zu der wässerigen alkalischen Lösung eine gesättigte Lösung von Natriumbicarbonat) sehr leicht von Chloroform, das 10% Alkohol enthält,

aufgenommen (C. Kippenberger). Diese Ausschüttelungsart ist im Gegensatze zu den Arbeiten mit Amylalkohol eine bei weitem angenehmere, doch siehe bei Morphin.

Die erhaltenen Rückstände sind meist verunreinigt und müssen noch weiter gereinigt werden. Zu ihrer Reinigung empfiehlt es sich, die Rückstände in etwas saurem Wasser zu lösen und dann je nach dem Übergange der in Betracht kommenden Alkaloide in den Äther entweder in alkalischer oder in saurer Lösung auszuschütteln. Man würde also den Rückstand I — die aus saurer Lösung in Äther übergegangenen Alkaloide — in wenig saurem Wasser lösen, dann alkalisch machen und wiederholt mit Äther ausschütteln, der hier nur färbende Bestandteile aufnimmt; nach Entfernung des Äthers säuert man die wässerige alkalische Lösung mit Weinsäure an und schüttelt wieder mit Äther. Die Ätherlösung enthält das freie Alkaloid, das durch Schütteln mit stark verdünnter Natronlauge oder mit Ammoniakflüssigkeit entzogen werden kann. Macht man die alkalische Flüssigkeit wieder sauer und schüttelt mit Äther aus, so bleiben beim Verdunsten des Äthers die Alkaloide schon in recht reinem Zustande zurück.

Rückstand II — die aus alkalischer Lösung in Äther übergegangenen Alkaloide — würde man zur Reinigung in Wasser mit etwas Weinsäure lösen und diese Lösung bei deutlich saurer Reaktion mit immer erneuten Mengen von Äther schütteln, bis das Reinigungsmittel nicht mehr gefärbt erscheint. Die so gereinigte, wässerige, saure Flüssigkeit wird nun alkalisch gemacht und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Man erhält beim Verdunsten des Äthers reine Rückstände.

Rückstand III würde wie I und II entsprechend mit den hier in Betracht kommenden Lösungsmitteln zu behandeln sein.

Mit den einzelnen Rückständen, wenn solche vorhanden sind, stellt man erst allgemeine Alkaloidreaktionen an. Man löst den Verdunstungsrückstand in wenig schwach saurem Wasser, gibt kleine Tropfen der Lösung auf Uhrgläser und versetzt mit den Alkaloidreagenzien. Ergibt diese Prüfung weder eine Fällung noch eine Trübung, so sind keine Alkaloide vorhanden; entsteht eine Fällung, so prüft man die gereinigten Rückstände auf ihr Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure, konzentrierte Salpetersäure, Erdmanns und Fröhdes Reagens; zum definitiven Nachweis sind die den einzelnen Alkaloiden zukommenden Reaktionen anzustellen.

Erdmanns Reagens: 10 Tropfen sehr verdünnter Salpetersäure (10 Tropfen konzentrierte HNO_3: 100 ccm Wasser) auf 20 g reine Schwefelsäure.

Fröhdes Reagens: Reine Schwefelsäure, die in jedem Kubikzentimeter 10 mg molybdänsaures Natron oder Ammonium enthält. Stets frisch bereiten!

Allgemeine Alkaloidreagenzien sind:

Jodjodkalium. (5 Teile Jod, 10 Teile Jodkalium: 100 Teilen Wasser.)

Phosphorwolframsäure. (10 g wolframsaures Natron, 6—8 g Natriumphosphat in 50 ccm salpetersaurem Wasser.)

Phosphormolybdänsäure. (5 Teile molybdänsaures Natron, 1 Teil phosphorsaures Natron löst man in möglichst wenig Wasser und fügt so viel Salpetersäure hinzu, bis die Lösung gelbgefärbt erscheint.)

Gerbsäure. (1 Teil Tannin: 8 Teilen Wasser und 1 Teil Alkohol.)

Wismutjodidjodkalium. (Man trägt Wismutjodid in eine warme, konzentrierte, wässerige Lösung von Jodkalium ein, solange es davon aufgenommen wird, und vermischt diese Lösung mit dem gleichen Volumen konzentrierter Jodkaliumlösung.)

Quecksilberjodidjodkalium. (13,5 g Quecksilberchlorid + 49,8 g Jodkalium: 1 Liter Wasser.)

Die Reaktionen für die wichtigsten Alkaloide finden sich bei diesen angegeben.

Zur quantitativen Bestimmung eines vorhandenen Alkaloides kann man, da aus dem Harne in der angegebenen Weise diese Pflanzenstoffe ziemlich rein gewonnen werden können, die ätherische Lösung des Alkaloides auf einem gewogenen Uhrglase vorsichtig verdunsten lassen, den Rückstand über Schwefelsäure trocknen und dann wägen.

Aconitin.

Wird durch den Harn und den Speichel relativ schnell und unverändert ausgeschieden. Die Aconitalkaloide sind leicht zersetzlich und keine einheitlichen Körper.

Nachweis.

Dieser erfolgt am besten durch die Jürgenssche Reaktion.

Man löst den Verdunstungsrückstand der Ätherlösung (S. 556) in einem Tropfen essigsäurehaltigen Wassers, gibt ein Körnchen Jodkalium hinzu und läßt verdunsten. Unter dem Mikroskope sieht man rhombische, tafelförmige, an den spitzen Kanten abgestumpfte Krystalle, manchmal kreuzförmig durchwachsen.

Adrenalin, Suprarenin u. dergl. benannt, **Methylaminoäthanolpyrokatechin,**

$$C_9H_{13}NO_3;\ C_6H_3\begin{cases}OH\\OH\\CH\cdot OH\cdot CH_2\cdot NH\cdot CH_3.\end{cases}$$

Zum Nachweise im Harne gibt Freund[1]) folgende Reaktionen an:

1. In neutraler Lösung tritt mit Eisenchlorid eine rasch verschwindende Grünfärbung auf.
2. Bei Gegenwart von Alkali und Zusatz eines Oxydationsmittels z. B. je eines Tropfens Kupfersulfatlösung und Cyankaliumlösung entsteht Rotfärbung. Sie tritt auch ein, wenn man mit gleichem Volumen $^n/_{1000}$ Kaliumbijodatlösung und einigen Tropfen verdünnter Phosphorsäure bis zum beginnenden Sieden erwärmt.
3. Es erfolgt Reduktion von ammoniakalischer Silberlösung, Goldchlorid und Nesslers Reagens.
4. Erwärmt man mit Choral und Kalilauge, so tritt der Geruch nach Isonitril auf, da zunächst Methylamin entsteht.

Adrenalon $(OH_2)_2\cdot C_6H_5\cdot CO\cdot CH_2\cdot NH\cdot CH_3$.

Der Harn enthält nach E. Jaeger Zucker und ist vermehrt.

[1]) Pharm. Ztg. 1916. 61. 592.

Alkohol, Äthylalkohol. $C_2H_5 \cdot OH$.

Geht nach dem Genusse nur großer Mengen, als solcher allerdings in geringen Mengen, in den Harn über; kann bei Diabetes durch Gärung des Harnes auch schon in der Blase entstehen. Reichlicher Alkoholgenuß kann vorübergehende Albuminurie hervorrufen.

Schweissheimer fand, daß die Ausscheidung bei Trinkern nach dem Genusse von größeren Mengen nach $7\,^1/_2$ Stunden beendet war; bei Nichttrinkern dauert sie länger an. Widmark konnte schon 15 Minuten nach dem Genusse von 30 ccm abs. Alkohol (in Form von Bier) Alkohol im Harne in einer Menge von etwa $0{,}2\,^0/_{00}$ nachweisen.

Nachweis.

Man destilliert den Harn, läßt das Destillat über gebranntem Kalk stehen und destilliert nochmals; die ersten Anteile fängt man auf.

1. Mit Jodkalium und Kalilauge entsteht Jodoform.
2. Alkohol und Benzoylchlorid geben Benzoesäureäthylester; man schüttelt etwa 5—10 ccm des Destillates mit einigen Tropfen Benzoylchlorid gut durch und setzt Natronlauge zu, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist; bei Anwesenheit von Spuren von Alkohol tritt der charakteristische aromatische Geruch des Benzoesäureäthylesters hervor. Sehr empfindlich (Berthelot).
3. Mit Schwefelsäure und Kaliumdichromat erhitzt, wird das Destillat grün (Bildung von Chromoxydsulfat); außerdem bildet sich Acetaldehyd, durch seine Reduktionsfähigkeit gegenüber ammoniakalischer Silberlösung und durch die Rötung von fuchsinschwefeliger Säure erkennbar.

Eine genaue quantitative Bestimmung ist kaum möglich; das zum zweiten Male gewonnene Destillat (s. vorstehend) würde man in bekannter Weise im Pyknometer auffangen und das spezifische Gewicht, daraus wieder den Alkohol, bestimmen und berechnen.

Der Harn muß frei von Aceton sein.

Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung hat J. Pringsheim[1]) angegeben.

Aloe. Aloin.

Wird zum Teil durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

Aloinhaltigen Harn schüttelt man mit Essigäther und versetzt diese Lösung mit Piperidin; es tritt eine violettrote (auch blaue) oder gelbe Farbe ein, je nachdem Natal-Aloe oder Barbados-Aloe vorlag; die gelbe Farbe der letzteren bleibt nach Zusatz von verdünnter Essigsäure bestehen, die wässerige Lösung ist aber dann violettrot (H. Meyer).[2])

[1]) Biochem. Zeitschr. 1908. **12.** 143.
[2]) Archiv exp. Pathol. u. Pharmakolog. 1891. **28.** 188.

Amidophenole. $C_6H_4NH_2 \cdot OH$.

Ortho-, Meta- und Paraverbindung erscheinen im Harne als gepaarte Schwefelsäuren, siehe bei Acetanilid.

Amygdophenin.

Phenetidinderivat, siehe Phenetidin.

Amylnitrit. $C_5H_{11}O \cdot NO$.

Der Harn enthält Zucker, Methämoglobin und wird rechtsdrehend.

Analgen. Äthoxy-Acetylaminochinolin. $C_9H_5N(O \cdot C_2H_5)NH \cdot C_2H_3O$.

Erscheint im Harne zum Teil als Benzoesäure, zum Teil als Oxyäthylaminochinolin.

Nachweis.

1. Nach größeren Dosen ist der Harn blutrot gefärbt; diese Farbe geht auf Zusatz von Kalilauge oder Natriumcarbonat in Gelb über. (Unterschied von Blut.)
2. Schüttelt man den Harn nach dem Ansäuern mit Äther aus und löst den Verdunstungsrückstand in Wasser, so gibt dieser mit Chlorkalk eine hellpurpurrote Färbung.
3. Man setzt zum angesäuerten Harne Eis und etwas Natriumnitrit und dazu eine alkalische Auflösung von β-naphtholdisulfosaurem Natrium — dunkelkirschrote Färbung.

Anilin. Aminobenzol. $C_6H_5 \cdot NH_2$.

Erscheint im Harne zum Teil als Alkalisalz der Paraaminophenolschwefelsäure, nach reichlicher Zufuhr als Anilin (F. Müller).

In geringem Grade soll im Organismus eine Bildung von salzsaurem Rosanilin (Fuchsin) vor sich gehen (Leloir, v. Engelhardt).

Der rotbraune Harn kann Zucker, Hämoglobin, Methämoglobin, Hämatin, Urobilin enthalten. Anilin ist ein Blutgift.

Vergiftungen wurden bei Arbeitern in chemischen Fabriken beobachtet; die Hämaturie war durch herbeigeführte Papillome und Sarkome der Blase bedingt, die durch den Reiz ausgeschiedenen Farbstoffes entstanden waren.

In schweren Fällen einer Vergiftung wurde ein linksdrehender Körper beobachtet. Die meist vorhandene reduzierende, nicht vergärbare Substanz dürfte lediglich das Paramidophenol sein.

Nach Dragendorff kann man mit Chloroform oder Amylalkohol aus dem mit Salzsäure angesäuerten Harne einen prachtvoll roten Farbstoff ausziehen, manchmal wird der anfangs ungefärbte Auszug an der Luft rot.

Nachweis des Anilins.

Das Destillat des Harnes (gewonnen durch Destillation des mit Kalilauge alkalisch gemachten Harnes) oder der mit Wasser aufgenommene Verdunstungsrückstand der Ätherausschüttelung gibt 1. mit Bromwasser eine fleischrote Fällung, wird 2. auf Zusatz

von wenig Chlorkalk oder unterchlorigsaurem Natron violett, 3. auf Zusatz von Kairinlösung, verdünnter Salzsäure und Kaliumnitrit sehr schön blau (Ehrlich) und gibt 4. die Millonsche Reaktion.

Schwefelsäure und Kaliumbichromat färben das Anilin vorübergehend blau.

S. Carbylaminprobe bei Chloroform.

Nachweis des Paraaminophenols s. Antifebrin.

Um das p-Aminophenol genau zu ermitteln, soll man nach E. Meyer[1]) die Diacetyl- oder Dibenzoylverbindung darstellen.

Man engt den Harn nach Zusatz von Salzsäure ein und schüttelt erst aus saurer Lösung mit Äther aus, um störende Stoffe zu entfernen, hierauf aus alkalisch gemachter Lösung. Der Rückstand der Ätherlösung von der Ausschüttelung aus alkalischer Lösung wird zur Herstellung der Diacetylverbindung mit Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler gekocht, im Überschusse zugesetztes Anhydrid abdestilliert und der Rückstand aus Wasser und dann aus Benzol umkrystallisiert (Schmelzp. 150°). Zur Isolierung als Dibenzoylverbindung nimmt man den Ätherrückstand mit Pyridin auf, versetzt mit Benzoylchlorid, läßt das Reaktionsprodukt in Wasser eintropfen und krystallisiert aus Benzol um. Die reine Dibenzoylverbindung schmilzt bei 233°.

Antifebrin. Acetanilid. $C_6H_5NH(CH_3 \cdot CO)$.

Erscheint im Harne schon nach kurzer Zeit (nach einer Stunde) teils als Ätherschwefelsäure, Paraaminophenol- und Acetylparaaminophenolschwefelsäure, teils als Glykuronsäurederivat. Nach 8 Stunden ist die Ausscheidung eine geringe, nach 24 Stunden ist sie verschwunden. Harn nach Genuß von Antifebrin ist wegen des Gehaltes an Glykuronsäuren linksdrehend und reduziert Fehlingsche, auch alkalische Wismutlösung, auch ist er meist reich an Urobilin, deshalb stark rotgelb; manchmal zeigt der Harn eine moosgrüne Farbe.

Nachweis des p-Aminophenols.

1. Man kocht 10—20 ccm Harn mit 2 ccm konzentrierter Salzsäure, um Aminophenol aus der gepaarten Verbindung zu spalten, fügt nach dem Erkalten einige Kubikzentimeter 5%iger wässeriger Carbolsäurelösung und tropfenweise verdünnte Chromsäure oder filtrierte Chlorkalklösung (etwa 1%) zu. Die Flüssigkeit wird rot und nach dem Übersättigen mit Ammoniak (Aufschichten — Zonenreaktion) schön blau — Indophenolreaktion (Nachweis des Paraaminophenols).

Grégoire und Hendrik empfehlen, den Harn nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure mit Äther auszuschütteln, also nicht mit Salzsäure zu kochen, und erst den Ätherrückstand nach Zugabe von etwas Wasser kurze Zeit mit $^1/_4$ Vol. Salzsäure zu erhitzen. Nach dem Erkalten verfährt man, wie angegeben.

Bei dunkel gefärbten Harnen wird der durch Verdunsten etwas eingeengte Harn einige Minuten mit Salzsäure gekocht und nach dem Erkalten mit Äther ausgeschüttelt. Der Verdunstungsrückstand des Ätherauszuges wird mit Wasser aufgenommen, mit der Phenollösung versetzt und wie angegeben behandelt.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1905. **46.** 497.

Ist nur wenig p-Aminophenol vorhanden, so entsteht meist nur Grünfärbung.

2. Versetzt man die stark abgekühlte salzsaure Lösung (oben) mit 2 bis 3 Tropfen Natriumnitritlösung (1 : 100) und bringt etwas alkoholische α-Naphthollösung hinzu, so entsteht nach Ammoniakzusatz eine rote Färbung. (Bildung eines Oxyazofarbstoffes.)

Antinervin (Radlauer)

ist eine Mischung aus Salicylsäure, Bromammonium und 50% Acetanilid bestehend.

Nachweis: S. Salicylsäure, Brom, Antifebrin.

Antipyrin. Phenyldimethylpyrazolon. $C_9H_6N_2O(CH_3)_2$.

Nach D. Jonescu[1]) erfolgt bei kleineren Dosen die Ausscheidung von Antipyrin fast unverändert; nach Einnehmen von größeren Mengen kommt ein Teil an Schwefelsäure gebunden zur Ausscheidung; mit Glykuronsäuren soll keine Paarung im Organismus stattfinden; der Harn dreht nicht und reduziert nicht, auch nicht nach der Hydrolyse durch Kochen mit Säuren.

Harn nach dem Einnehmen von Antipyrin zeigt nach F. Penzoldt zuweilen gelbe bis blutrote Farbe (wie sog. Blutharn) und Dichroismus; im durchfallenden Lichte ist die Lösung rot, im reflektierten grünlich. Bei Antipyringenuß sind die Ätherschwefelsäuren vermehrt, die Sulfate vermindert. Man beobachtet auch Albuminurie, Glykosurie, Hämaturie.

Nachweis.

1. Auf Zusatz von einigen Tropfen Eisenchlorid wird die in dünnen Schichten rotgelbe Färbung schön dunkelrot und verschwindet beim Erwärmen nicht (Unterschied von Acetessigsäure).

   Stark gefärbten Harn schüttelt man nach Zusatz von Ammoniak mit Chloroform aus und prüft den Rückstand mit Eisenchlorid.

2. Wird Harn mit Salzsäure gekocht und nach dem Neutralisieren mit Natronlauge destilliert, so ist im Destillate Antipyrin nachweisbar; nach Zusatz von salpetrigsaurem Natron und von Essigsäure entsteht eine grüne Färbung, Nitrosoantipyrin. Antipyrin gibt auch Alkaloidreaktionen und erzeugt mit Pikrinsäure Fällungen. (Vorsicht bei Eiweißprüfung mit Pikrinsäure.)

3. Nach Thoms kann man die Abscheidung des Antipyrins mit Hilfe von Kaliumwiswutjodidlösung vornehmen.

   Der Harn wird nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Kaliumwismutjodidlösung gefällt, der Niederschlag mit einer Mischung von krystallisiertem Natriumcarbonat und 10%iger Natronlauge (Anreibung) zerlegt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Beim Verdampfen des Chloroforms hinterbleibt ein krystallisierter Rückstand, der in

[1]) Berl. Ber. 1906. **16.** 133.

Wasser gelöst sämtliche Reaktionen des Antipyrins gibt. Purinkörper des normalen Harnes, die ebenfalls gefällt werden, gehen nicht in Chloroform, stören also die Reaktion nicht. Der Schmelzpunkt des Antipyrins beträgt 113°.

Antisepsin. Paramonobromacetanilid. $C_6H_4Br \cdot NH \cdot C_2H_3O$.

Nachweis s. Brom und Acetanilid.

Antrachinonharne. S. Rheum.

Antithermin.

Lävulinsäure und Phenylhydrazin. Bewirkt ähnliche Erscheinungen wie Pyrodin.

Apochin,

eine chemische Verbindung von Acetylsalicylsäure und Chinin, als schmerzstillendes Mittel angewendet.

S. Chinin und Acetylsalicylsäure.

Apolysin.

Verbindungen der Citronensäure mit Phenetidin s. dieses.

Arbutin. $C_{12}H_{16}O_7 + H_2O$.

Arbutin zerfällt im Organismus in Zucker und in hydrochinonschwefelsaure und methylhydrochinonschwefelsaure Salze, die Linksdrehung verursachen. Da außerdem je nach der Menge dieser Salze auch die Gärfähigkeit des zuckerenthaltenden Harnes gehindert oder aufgehoben werden kann, so ist bei der Prüfung auf Zucker im Harne Vorsicht geboten, wenn der Verdacht besteht, daß Auszüge von Bärentraubenblättern oder Heidelbeerblättern, die Arbutin enthalten und als Geheimmittel zur Beseitigung der Harnruhr verkauft werden, zur Anwendung gekommen sein sollten. Hier liegt der Fall vor, daß auch die Gärprobe versagen könnte; aber auch die gewichtsanalytische Bestimmung des Zuckers würde unrichtige Werte geben. Der Harn ist manchmal olivgrün.

Nachweis.

Eisenchlorid gibt eine blaue Färbung.

Aristol. Dithymoldijodid. $C_{20}H_{24}O_2J_2$.

Nachweis.

Im Harne ist Jod nachweisbar; es werden nach H. Singer etwa 15% im Harne ausgeschieden; s. Thymol.

Arsacetin, Acetylparaaminophenylarsinsaures Natrium. Enthält 21,2—21,7% Arsen. S. Atoxyl.

Asaprol, Abrastol, β-Naphthol-α-monosulfosaures Calcium. $(C_{10}H_6 \cdot \beta OH \cdot \alpha SO_3)_2Ca + 3H_2O$.

Nachweis.

Wird im Harne rasch ausgeschieden; durch Eisenchlorid nachweisbar, es entsteht eine blaue Färbung.

Asepsin s. **Antisepsin.**

Aspirin. Acetylsalicylsäure. $C_6H_4\begin{cases}O\cdot COCH_3(2)\\COOH(1)\end{cases}$.

Nachweis s. Salicylsäure.

Atophan. 2-Phenylchinolin-4-Karbonsäure.

Verursacht eine stärkere Urochromausscheidung (W. Skorczewski). Es tritt im Harne jedenfalls als Abbauprodukt auf.

Nach Atophanverabreichung gab Harn nach Skorczewski mit konz. Salzsäure eine zeisiggelbe Färbung, mit Phosphorwolframsäure einen gelben Niederschlag, mit dem Ehrlichschen Reagens eine charakteristische Diazoreaktion und mit Millons Reagens, sowie mit Eisenchlorid schwach positive Reaktionen auf Phenole. Aus Atophanharn konnten büschelförmige Nadeln vom Schmelzpunkte 231—232°, eine Phenylchinolinkarbonsäure, in der ein Wasserstoffatom durch eine Hydroxylgruppe substituiert ist, gewonnen werden.

Atoxyl. p-aminophenylarsinsaures Natrium.

$$C_6H_4\begin{cases}NH_2\\AsO(OH)(ONa)\end{cases}+4\,H_2O.$$

Dieses wird nach subcutaner Einspritzung sehr bald (nach 24 Stunden) und meist in unveränderter Form im Harne ausgeschieden (J. Igersheimer und A. Rothmann[1]), G. Lockmann und M. Paucke).[2]) F. Blumenthal und Herschmann, auch Ehrlich und Bentheim haben gefunden, daß sich außerdem nicht Anilin, wie vermutet, sondern ein Körper vorfindet, der sowohl die Aminogruppe, wie auch die Arsengruppe gleich dem Atoxyl besitzt; in dieser Form findet sich das Arsen nur in geringer Menge vor. Das Atoxyl enthält 24,1—24,6 (25,0) % Arsen.

Nachweis.

Man bestimmt in bekannter Weise nach der Zerstörung des Harnes mit Salzsäure und Kaliumchlorat usw. das Arsen.

Die vorhandene Aminoverbindung weist man nach F. Blumenthal[3]) durch die bekannte Azofarbstoffreaktion nach. 10 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure mit 2 Tropfen Natriumnitritlösung (1 %ig) versetzt und dann einige Tropfen einer ziemlich konzentrierten, mit Natronlauge alkalisch gemachten α-Naphthollösung zugefügt. Bei weiterem Zusatze von Natronlauge färbt sich der Harn tiefrot.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **56.** 256.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1908. **34.** 1460.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1908. **10.** 240.

Atropin. $C_{17}H_{23}NO_3$.

Wird im Harne in nicht zu langer Zeit zum Teil unverändert ausgeschieden, wahrscheinlich wird ein Teil im Organismus in Tropasäure und Tropin gespalten; die Spaltungsprodukte werden jedenfalls oxydiert. Aus alkalischer Lösung wird es von Äther aufgenommen (S. 556).

Nachweis.

1. Physiologischer Versuch. Wenige Tropfen Harn ins Katzenauge gebracht, bewirken eine Erweiterung der Pupille. Nach Feddersen tritt eine solche Erweiterung im Menschenauge schon durch 0,0002 mg Atropin sicher auf. Spuren von Atropin bringen bei einem Frosche, dessen Herz durch Muscarin zum Stillstande gebracht worden ist, dieses wieder zum normalen Schlagen.
2. Das im Porzellanschälchen mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbade eingedampfte Atropin gibt einen Rückstand, der, mit alkoholischer Kalilauge übergossen, sich prächtig violett, dann kirschrot färbt (Vitali).
3. Beim Erhitzen ist ein eigentümlicher Geruch, besonders nach Zusatz von 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 2 ccm Wasser zu bemerken; Kaliumdichromat zur heißen Mischung gegeben, erzeugt einen Geruch an die Blüten von Spiraea ulmaria erinnernd; beim Erwärmen der Mischung entsteht Bittermandelölgeruch.

Azobenzol. $C_6H_5N—NC_6H_5$

ruft eine mit Bildung von Methämoglobin verlaufende Erkrankung hervor.

Benzol. C_6H_6.

Nach Benzolgenuß will K. Chelchowski einen dunkelschwarzen Urin mit viel Eiweiß und Cylindern beobachtet haben. Jedenfalls waren nach R. Kobert Methämoglobin und Hämoglobin darin enthalten.

Benzonaphthol. Benzoyl-β-Naphthol. $C_{10}H_7 \cdot O \cdot C_7H_5O$.

Nach Einführung von Benzonaphthol in kleineren und mittleren Dosen (0,6—1,2 g) wird das β-Naphthol immer als Ätherschwefelsäure ausgeschieden (Edlefsen).

Nachweis.

S. Nachweis von Naphthol von Edlefsen.

Benzosol.

Benzoylguajacol s. Guajacol.

Betol. β-Naphtyl-Salicylsäureäther. $C_6H_4\begin{matrix}OH\\CO \cdot OC_{10}H_7\end{matrix}$.

Nachweis.

Die Salicylsäure durch Eisenchlorid.

Blausäure. CHN.

Im Harne können sich nach dem Einnehmen von Blausäure Rhodanverbindungen (Thiocyanursäure) S. 91, dann Spuren von Blut, Eiweiß, Milchsäure, Traubenzucker finden. Die Blausäure geht nur sehr schwer im Tierexperimente in den Harn über. Kobert fand sie mit Sicherheit im Menschenharne nur einmal. Der Harn kann rechts drehen und wirkt reduzierend.

Brucin. $C_{23}H_{26}N_2O_4 + 4H_2O$.

Wird im Harne als solches ausgeschieden.

Nachweis (S. 556).

1. Konz. Salpetersäure erzeugt blutrote Färbung.
2. Konz. Schwefelsäure und Salpeter bewirken die gleiche Färbung.

Campher.

Erscheint im Harne zum Teil in Gestalt von zwei Campherglykuronsäuren, einer krystallinischen und einer amorphen und einer amorphen stickstoffhaltigen gepaarten Säure (s. S. 246).

Cannabis sativa indica. Cannabinol.

Der Harn zeigt nach dem Erhitzen mit verdünnter Mineralsäure reduzierende Eigenschaften und Rechtsdrehung. Das Cannabinol läßt sich bei saurer Reaktion mit Äther, Chloroform ausschütteln. Der in Alkohol gelöste Verdunstungsrückstand gibt bei vorsichtigem Zusatze von Eisenchlorid eine rasch vorübergehende Blaugrünfärbung. Beim Kochen des Cannabinols mit Millons Reagens tritt Rotfärbung ein (Kobert).

Canthariden, Cantharidin.

Cantharidin erscheint in geringen Mengen im Harne; es wirkt stark reizend auf die Nieren; im Harne sind meist Eiweiß, Epithelien, Cylinder, reichlich Blut vorhanden.

Nachweis.

Man kocht den Harn mit Kalilauge, zersetzt das gebildete Kaliumcantharidat mit Schwefelsäure und schüttelt das Cantharidin mit Chloroform aus. Der Rückstand der Chloroformlösung (vorsichtig und langsam verdunsten lassen) wird in Mandelöl gelöst und auf seine blasenziehende Wirkung geprüft.

Carbolsäure s. Phenol (S. 359).

Cascara sagrada und Rhamnus cathartica.

Meist gelbgefärbter Harn.

Nachweis.

Kocht man den Harn nach Zusatz von Alkalien auf, so fallen die Phosphate mit roter Farbe aus, die sich in Essigsäure rot lösen. Der Farbstoff geht in Äther mit gelber Farbe über (s. auch Rheum).

Chinin. $C_{19}H_{20}N_2\begin{cases}O\cdot CH_3\\OH\end{cases} + 3H_2O$.

Wird größtenteils durch den Harn ausgeschieden; die Ausscheidung erfolgt schon nach 15—30 Minuten; ein Teil (aber nur Spuren) soll in Dihydroxylchinin übergehen. Nach M. Nishi findet man vom eingenommenen Chinin während 72 Stunden 34,45% und davon in den ersten 24 Stunden durchschnittlich 25,5% wieder. Harn ist nach dem Einnehmen von Chinin meist dunkel gefärbt.

Nachweis.

G. Giemsa und J. Halberkann[1]) empfehlen, den Harn direkt mit Kaliumquecksilberjodid, einem bekannten Reagens auf Pflanzenalkaloide zu prüfen; es wird Chinin noch in einer Verdünnung von 1 : 200,000 nachgewiesen, es entsteht eine Trübung, die in der Hitze verschwindet. Da auch Eiweiß durch das Reagens gefällt wird, ist folgendes zu beachten. Wenn der klar filtrierte Harn (kalt) beim Zusatze des Reagens klar bleibt, so ist weder Chinin, noch Eiweiß vorhanden. Tritt eine beim Erwärmen verschwindende Trübung ein, so ist Chinin zugegen; bleibt die Trübung beim Erhitzen bestehen, so ist Eiweiß vorhanden; wird das heiße Filtrat letzterer Probe beim Erkalten wieder getrübt, so ist Eiweiß und Chinin vorhanden. O. Keller[2]) hält diese Probe als Vorprüfung für die einfachste.

Das Reagens wird bereitet, daß einerseits 10 g Kaliumjodid in 50 ccm Wasser, andererseits 2,7 g Quecksilberchlorid in 150 ccm heißem Wasser gelöst werden. Beide Lösungen werden zusammengegossen und 2,5 g Eisessig hinzugefügt.

Nachweis mit dem isolierten Chinin (aus alkalischer Lösung mit Äther).

1. Man versetzt die wässerige Lösung des isolierten Chinins mit frischem Chlorwasser oder noch besser mit Bromwasser und darauf sofort mit Ammoniak; es entsteht eine prächtige smaragdgrüne Färbung (Thalleiochininreaktion, Brandes Reaktion). Nach dem Neutralisieren der Lösung mit Säure geht die Farbe in Blau (himmelblau) über; ein weiterer Säurezusatz bewirkt Rotfärbung; Ammoniakzusatz stellt die grüne Farbe wieder her (André).
2. Eine Lösung mit wenig verdünnter Schwefelsäure zeigt Fluorescenz und dreht links.
3. Erwärmt man das isolierte Chinin mit verdünnter Schwefelsäure oder mit 1—2 Tropfen einer Mischung von 12 g Essigsäure, 4 g Alkohol, 6 Tropfen verdünnter Schwefelsäure und wenig (einer Spur) verdünnter alkoholischer Jodlösung, so erhält man im auffallenden Lichte grüne, metallglänzende Blättchen von Jodchinin (Herapathit).

[1]) Deutsch. med. Wochenschrift. 1917. **43.** 1501; Münch. med. Wochenschr. 1918. **65.** 972; Biochem. Zeitschr. 1919. **95.** 24.

[2]) Pharm. Ztg. 1918. **63.** 342.

Man kann die Probe auf dem Objektträger vornehmen; zuerst entsteht eine zimtbraune Färbung, später die beschriebene Ausscheidung des Jodchinins. Dieses polarisiert das Licht sehr stark.

Zur quantitativen Bestimmung empfiehlt M. Nishi[1]) die Überführung des aus dem stark alkalisch gemachten Harne mit Äther ausgeschüttelten Chinins in saures Chinincitrat durch Sättigung der Ätherlösung mit in Äther gelöster Citronensäure. Das saure Chinincitrat enthält 62,79% Chinin. Die Extraktion erfolgt am besten in einem der bekannten Ätherextraktionsapparate etwa 25—30 Stunden lang. Den Ätherrückstand nimmt man wieder mit wasserfreiem Äther auf, versetzt ihn in einem gewogenen Kölbchen mit der ätherischen Lösung von wasserfreier Citronensäure und sammelt nach mehrtägigem Stehen den Niederschlag auf einem Asbestfilter; den Niederschlag wäscht man mit Äther. Da dem Kölbchen ein Teil des Chinincitrates fest anhaftet, so trocknet man das Kölbchen, das man mit Äther natürlich gespült hat und wägt Kolben mit dem Rückstande und Asbestrohr.

Das Prinzip der Methode ist von H. Meyer angegeben; T. Cockburn und J. W. Black[2]) haben es wieder abgeändert.

Das von R. Schmitz[3]) angegebene, von F. K. Kleine und H. Gordin[4]) ursprünglich angewendete Verfahren hält J. Katz[5]) nicht für genau; letzterer gibt ein besonderes an.

Auch H. Meyer[6]) empfiehlt ein Verfahren, das aber im Prinzipe schon von Personne[7]) veröffentlicht wurde.

Chinolin. C_9H_7N.

Geht nicht als solches in den Harn über.

Mit Ammoniak färbt sich Chinolinharn schön grün.

Nach H. Führer[8]) kann das Chinolinstoffwechselprodukt isoliert werden. Man engt etwa 200 ccm Harn mit 50 ccm konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbade zur Hälfte ein, bringt Lauge hinzu, daß nur schwach saure Reaktion vorhanden ist, filtriert und schüttelt mit Äther aus. Die Ausschüttelung wäscht man mit Wasser und schüttelt mit stark verdünnter Salzsäure aus; diese wird hiebei gelb, der Äther karminrot. Die salzsaure Lösung gibt mit Ammoniak Grünfärbung, die bald durch den Luftsauerstoff in Blau übergeht. Der Verfasser macht noch eingehende Mitteilung über die Zusammensetzung des die Reaktion bedingenden Stoffes.

Chloralformamid. $CCl_3CH\begin{matrix}OH\\NHCHO\end{matrix}$.

Erscheint im Harne als Urochloralsäure, s. Chloralhydrat.

---

[1]) Archiv exp. Patholog. Pharmakolog. 1909. **60.** 312.
[2]) The Analyst. **36.** 396; Zeitschr. analyt. Chem. 1913. **52.** 241.
[3]) Archiv exp. Patholog. Pharmakolog. 1907. **56.** 301.
[4]) Berl. Ber. 1899. **32.** 2873.
[5]) Biochem. Zeitschr. 1911. **36.** 147.
[6]) Münch. med. Wochenschr. 1917. **64.** Nr. 50.
[7]) Bull. d. l. Acad. d. méd. 1878. **34**; Centralbl. med. Wissensch. 1879. 110.
[8]) Archiv exp. Patholog. Pharmakolog. 1906. **55.** 27; Berl. Ber. 1905. **38.** 2713.

Chloralhydrat. $\begin{matrix} CCl_3 \\ | \\ COH \end{matrix} + H_2O.$

Das Chloral erscheint im Harne beinahe ganz als Urochloralsäure (Trichloräthylalkohol mit Glykuronsäure). Geringe Mengen sollen unverändert in den Harn übergehen, teils zersetzt werden und die Chloride des Harnes vermehren.

Nachweis.

Urochloralsäurehaltiger Harn reduziert Fehlingsche Lösung, aber nicht alkalische Wismutlösung; ferner dreht er links; nach gewöhnlichem Gebrauche von Chloral soll nach A. Bornträger die spezifische Drehung des Harnes etwa -1^0 betragen. Die Urochloralsäure wird durch Bleiessig gefällt; es beruht darauf ihre Isolierung. Die Urochloralsäure krystallisiert in seidenglänzenden Nadeln, die bei 142° schmelzen (s. S. 247).

Nach D. Vitali wird der Harn bis zur Hälfte seines Volumens konzentriert, mit Bleiacetat in geringem Überschusse und dann mit Bleiessig versetzt, bis ein Niederschlag entsteht und nun Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion hinzugegeben. Der gesammelte und gewaschene Niederschlag wird mit verdünnter Schwefelsäure im Überschusse behandelt, die Mischung schwach erwärmt und das Bleisulfat abfiltriert. Das die Urochloralsäure enthaltende saure Filtrat wird $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler erhitzt, um die Säure in Glykuronsäure und in Trichloräthylalkohol zu spalten; man gibt dann zur Flüssigkeit Zinkpulver und verwandelt hiedurch den Trichloräthylalkohol in gewöhnlichen Alkohol; man macht alkalisch, filtriert vom Zinkcarbonat ab und isoliert den Alkohol aus dem Filtrate durch Destillation. Das Destillat destilliert man noch einige Male über Ätzkalk und stellt schließlich die S. 559 angegebenen Reaktionen an.

R. Külz[1]) isolierte die Urochloralsäure als solche.

Chloroform. $CHCl_3$.

Im Körper sollen $^2/_3$ zersetzt werden, wodurch eine Vermehrung der Harnchloride eintritt; nach reichlicher Narkose wird eine dem Cystin ähnliche organische Schwefelverbindung beobachtet.

Nach D. Vitali ist unverändertes Chloroform im Harne nach Chloroformnarkose nicht auffindbar, auch kann durch Destillation keine chlorhaltige Substanz aus solchen Harnen abgeschieden werden. Nach Kobert kann der Harn höchstens Spuren unveränderten Chloroforms enthalten. Nach Serkowski wurde nach Chloroformnarkose unverändertes Choroform im Harne nachgewiesen. Im Harne wurden dann Gallenfarbstoffe, Eiweiß, Cylinder, Blutkörperchen usw., auch Zucker beobachtet. In den Tagen nach

[1]) Archiv ges. Physiolog. 1884. **33.** 221.

der Narkose kann der Harn reichlich Urobilin enthalten. Auch linksdrehender Harn wurde vorgefunden.

Da es notwendig werden kann, nachweisen zu müssen, ob Chloroform zur Konservierung verwendet wurde, so folgen einige für Chloroform kennzeichnende Proben.

Nachweis.

1. Chloroformhaltiger Harn reduziert beim Kochen Fehlingsche Lösung.
2. Man destilliert den im Wasserbade auf 50—60° erwärmten Harn in einem Strome Kohlensäure oder Wasserstoff und fängt das Destillat in einer gut gekühlten Vorlage auf. Wird dieses mit einigen Tropfen Anilins und alkoholischer Kalilauge versetzt und erwärmt, so tritt ein ekelhafter Geruch nach Isocyanphenyl, Phenylisonitril auf (Carbylaminprobe nach Hofmann).

   $$CHCl_3 + 3NaOH + C_6H_5NH_2 = C_6H_5NC + 3NaCl + 3H_2O.$$
3. Thymol in Alkohol und Kalilauge gelöst, gibt mit dem chloroformhaltigen Destillate erwärmt dunkelviolette Färbung (Vitali); α- oder β-Naphthol an Stelle des Thymols gibt vorübergehende Blaufärbung (S. Lustgarten).
4. Man leitet durch den auf 50° erwärmten Harn einen kräftigen Luftstrom und diesen durch eine glühende Röhre, verbunden mit einem Liebigschen Kugelapparate, der Silberlösung enthält. Die Chloroformdämpfe werden zersetzt (Chlor und Chlorwasserstoff) und vom Silber absorbiert; aus der Menge des Chlorsilbers läßt sich das Chloroform berechnen (Maréchal).

   Bei Mangel an Sauerstoff könnten sich auch Acetylen und Blausäure bilden.

M. Nicloux[1]) erwähnt ein Verfahren zur Bestimmung des Chloroforms, das darauf beruht, daß das aus dem Harne durch Destillation entfernte, in Alkohol aufgefangene Chloroform durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge zersetzt und das entstandene Kaliumchlorid mit Silber titriert wird.

Chrysarobin.

Nachweis.

Wird hauptsächlich als Chrysophansäure ausgeschieden (s. Rheum).

Chrysophansäure s. Rheum, Senna.

Citarin.

Anhydromethylcitronensaures Salz des Urotropins, Methylencitronensaures Natrium.

Soll nach A. Nicolaier, Th. Brugsch zum größten Teile im Organismus zerstört werden. Impeus fand, daß ein Teil mehr oder weniger locker gebundenes Formaldehyd in den Harn übergeht (J. Abelin).[2])

[1]) Compt. rend de l'Acad. des scienc. 1906. **142.** 163; Compt. rend. soc. biol. 1906. **60.** 93.
[2]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1914. **75.** 317.

Citrophen.

Citronensäure mit 3 Phenetidingruppen s. Phenetidin.

Cocain. Methyl-Benzoyl-Ecgonin. $C_{17}H_{21}NO_4$.

Soll im Harne zu finden sein, wird aber im Organismus schnell zersetzt; es setzt jedenfalls die Oxydationsvorgänge in diesem herab. Wohlgemuth fand in einem Falle in den ersten 4 Tagen im Harne Traubenzucker, in den ersten 6 Tagen noch gepaarte Glykuronsäuren.

Nachweis. (Isolierung S. 556.)

1. Eine wässerige Cocainlösung, mit 2—3 ccm Chlorwasser erhitzt und mit 2—3 Tropfen 5%iger Palladiumchlorürlösung versetzt, gibt einen schönen roten Niederschlag.
2. Fügt man zu einer wässerigen konzentrierten Lösung von Cocainhydrochlorid tropfenweise Kaliumpermanganatlösung (1 : 100), so scheiden sich violette Kryställchen von Cocainpermanganat aus.
3. Mit Goldchlorid entsteht eine charakteristische Fällung (Mikroskop).

Zur Bestimmung des Cocains im Harne hat Wiechowski[1]) ein Verfahren angegeben.

Coffein. $C_5H(CH_3)_3N_4O_2 + H_2O$.

In den Harn geht ganz wenig unverändertes Coffein über, meist wird dieses entmethyliert und in Xanthin (Di- und Monomethylxanthin) umgewandelt.

Nachweis. (Isolierung S. 556.)

Man kann den Rückstand des alkoholhaltigen Auszuges (Amylalkohol) in schwefelsäurehaltigem Wasser lösen und diese Lösung wiederholt mit warmem Chloroform ausziehen; einen erhaltenen Rückstand krystallisiert man vorsichtig um oder sublimiert ihn vorsichtig zwischen 2 Uhrgläsern. Sublimiert bei 180° in Nadeln, schmilzt bei 230°.

Mit Salpetersäure, besser mit frischem Chlorwasser, zur Trockene verdampft, verbleibt ein rotgelber Rückstand, der in Berührung mit Ammoniak purpurrot wird. (Bildung von Amalinsäure, Tetramethylalloxanthin.)

Colchicin. $C_{15}H_9(O \cdot CH_3)_3 \begin{cases} NH \cdot CO \cdot CH_3 \\ \\ CO \cdot OCH_3 \end{cases}$.

Ausscheidung auch durch den Harn.

Nachweis. (Isolierung S. 556.)

Mit konzentrierter Salpetersäure gibt die zur Trockene verdampfte Lösung eine violette, dann braunrote Färbung, beim Verdünnen nach Zusatz von Alkali orangerot werdend.

---

[1]) Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1901. **46.** 155.

Copaivabalsam.

Im Harne sind wahrscheinlich Terpene, Glykuronsäureverbindungen zugegen; auch Blut und Eiweiß können vorhanden sein.

Bemerkt sei, daß die Copaivabalsame verschiedener Herkunft beträchtlich von einander abweichen.

Nachweis.

1. Solcher Harn gibt mit Salzsäure zuerst meist eine Trübung (Ausscheidung von Harzsäuren), dann eine schön rote Färbung (Copaivarot), beim Erhitzen violett werdend; Oxydationsmittel (Chlorkalk, Jodtinktur) befördern die Reaktion. Die salzsaure Lösung zeigt drei Absorptionsstreifen im Orange, Grün und Blau (H. Quincke).

   Nach G. Berthoud[1]) ist diese Reaktion nur solchen Balsamen eigen, die ebenfalls diese Färbung geben; das Deutsche Arzneibuch läßt nun aber nur solche Balsame zu, die diese Färbung nicht geben; in diesem Falle tritt die Farbenreaktion im Harne nicht auf.
2. Beim Kochen entwickelt sich Harzgeruch.
3. Eine durch Säure beim Kochen hervorgerufene Trübung verschwindet mit Alkohol oder Petroläther (Unterschied von Eiweiß).
4. Der Harn dreht schwach links und reduziert Boettger-Alménsche Nylandersche Lösung, nicht aber mit Ausnahme bei Parabalsam Fehlingsche Lösung (Berthoud).

   Die Reaktionen 2—4 treten auch nach dem Einnehmen anderer Balsamica auf.

Curral. Diallylbarbitursäure. Schlafmittel.

Cystopurin. (Hexamethylentetramin) aus

1 Mol. Hexamethylentetramin und 2 Mol. essigsaurem Natron bestehend.

P. Bergell empfiehlt folgenden Nachweis:

Zur Isolierung aus dem Harne werden 500 ccm nach Zusatz von Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion im Vakuum bei 50—60° bis etwa zur Sirupdicke eingedampft. Den Rückstand verreibt man mit ungefähr 50 g geglühtem Natriumsulfat, trocknet das Gemisch über konz. Schwefelsäure im Vakuumexsiccator und kocht es mehrmals mit Chloroform aus; aus der Chloroformlösung wird das Chloroform entfernt, der Rückstand wird mit absolutem Alkohol aufgenommen und in die Lösung Salzsäuregas eingeleitet; es fällt das salzsaure Hexamethylentetramin aus, dessen wässerige Lösung mit Alkaloidreagenzien krystallinische Niederschläge gibt.

Nach Bergell könnte vielleicht eine quantitative Bestimmung im Harne nach folgendem Verfahren vorgenommen werden. Man fällt den mit Essig-

[1]) Dissertat. Bern 1905.

säure angesäuerten Harn (50 ccm) mit Quecksilberchloridlösung und wäscht den nach 24 Stunden entstandenen Niederschlag mit verdünnter, Essigsäure enthaltender Sublimatlösung aus. Man verbrennt den Niederschlag im Kjeldahlkolben, bringt die Flüssigkeit auf 500 ccm und verwendet 100 ccm zur Stickstoffbestimmung. Nach Verfütterung von 6 g Hexamethylentetramin an Hunde wurden im Harne allerdings nur 2 g wiedergefunden.

Siehe auch bei Urotropin.

Diaphthol. o-Oxychinolin-m-Sulfonsäure.

Nachweis.

Gibt mit Eisenchlorid Grünfärbung.

Dinitrobenzol. $C_6H_4(NO_2)_2$. Ortho-, Meta-, Paraverbindung.

Im Harne ist nach Strassmann bisweilen unverändertes Dinitrobenzol qualitativ nachweisbar. Nach Mohr enthalten die Harne stets Hämatoporphyrin.

Nach dem Einatmen der mit den giftigen aromatischen Nitroverbindungen geschwängerten Luft wurden von J. Stukoweski[1]) Vergiftungen beobachtet. Durch die starke Reduktionswirkung des Lungengewebes werden die Nitroverbindungen zu Hydroxylaminverbindungen reduziert, die eine höchst intensive Giftwirkung auf den Blutfarbstoff ausüben, indem sie ihn in Methämoglobin umwandeln und das Blut damit zur Atmung unbrauchbar machen.

Dionin. Salzsaures Äthylmorphin. $C_{19}H_{23}NO_3 \cdot HCl + H_2O$ (s. Morphin und Kodein).

Diuretin. Theobrominnatrium-Natriumsalicylat.

$$C_7H_7NaN_4O_2 + C_6H_4(OH)CO \cdot O \cdot Na.$$

Nachweis.

S. Salicylsäure.

Duotal. Guajacolcarbonat.

S. Guajacol.

Eumecon. Enthält Morphin.

Euphorin. Phenyläthylurethan. $CO\begin{matrix}\diagup O \cdot C_2H_5 \\ \diagdown NH \cdot (C_6H_5)\end{matrix}$.

Nachweis.

Der Harn zeigt direkt oder nach dem Destillieren mit kohlensaurem Kali die Reaktion des p-Aminophenols (s. Acetanilid).

Europhen. Isobutylkresoljodid.

$$\begin{matrix}C_6H_3(CH_3)\,(C_4H_9)O \\ C_6H_3(CH_3)\,(C_4H_9)O\end{matrix}\Big\rangle JH.$$

Nachweis.

S. Jod.

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1922. 48. 1377.

Exalgen. Orthomethylacetanilid. $C_6H_5 \cdot N \cdot CH_3 \cdot C_2H_3O$.

Nachweis. S. Acetanilid.

Farbstoffe.

Über die physiologische Wirkung einiger Farbstoffe und ihre Ausscheidung im Urin haben J. Gautrelet und H. Gravellat Versuche angestellt. Die Anilinfarbstoffe und natürlichen Farbstoffe können in physiologisch wirksame und in unwirksame eingeteilt werden. Zu den physiologisch wirksamen, die eine Hemmung des Stoffwechsels innerhalb der Gewebe, Abnahme des Gesamtstickstoffes, Herabsetzung der sezernierenden Tätigkeit der Nieren und eine Verminderung der Funktionen der Leber bewirken, gehören Methylenblau, Methylviolett, Eosin, zu den anderen Malachitgrün und pflanzliche Stoffe (Indigokarmin, Hämatoxylin, Krapprot).

Methylenblau, Eosin, Neutralrot, Fuchsin treten unverändert im Harne auf, Methylenblau, Hämatoxylin werden teilweise reduziert und kommen als Leukoverbindungen im Urin vor. Gepaarte Schwefelsäuren finden sich nach dem Einnehmen von Farbstoffen, die nicht in den Urin übergehen, regelmäßig vor.

Formaldehyd. $H \cdot C \cdot OH + nH_2O$.

Wird im Harne nach dem Einatmen von Formaldehyddämpfen als Ameisensäure (S. 127) vorhanden sein (Blum, Pohl). Siehe Formaldehydnachweis bei Neosalvarsan.

Gallobromol. Dibromgallussäure. $C_6Br_2(OH)_3COOH + H_2O$.

Nachweis.

Das abgespaltene Brom und die Gallussäure (s. Tannin).

Glycerin. $C_3H_5(OH)_3$.

Dieses findet sich nach H. Leo im Harne nur nach Einnehmen größerer Glycerinmengen.

Nach Antichievich sind nach Glyceringenuß Nephritis und Hämoglobinurie beobachtet worden.

Nachweis.

Das Glycerin muß dem Harne durch Alkohol entzogen werden (S. 517).

Gonosan.

Harn nach Gonosangenuß bleibt selbst in warmer Zeit lange haltbar (J. Varges).

Durch Extraktion des Harnes mit Alkohol oder Äther können Harzsäuren abgeschieden werden, die mit konz. Schwefelsäure die schöne Rotfärbung geben, wie sie das Kawaharz direkt liefert.

Guajacol. Brenzkatechinmonomethyläther.

$$C_6H_4\begin{cases}O\cdot CH_3 & (1)\\ OH & (2)\end{cases}.$$

Ist kurze Zeit, schon nach $^1/_4$ Stunde, nach dem Einnehmen im Harne nachzuweisen. Der Harn enthält gepaarte Schwefelsäure- und Glykuronsäureverbindungen, sowie Oxydationsprodukte des Guajacols.

Nach großen Guajacoldosen wird Linksdrehung des Harnes beobachtet; es wird dann auch Albuminurie, Hämoglobinurie bewirkt; weiter können sich Gallensäuren, Cylinder finden.

Nachweis.

Das Guajacol muß aus dem Harne erst isoliert werden. Man versetzt Harn — wenn man größere Mengen verwenden will oder muß, so engt man diese bei alkalischer Reaktion ein — mit etwas Schwefelsäure und destilliert im Dampfstrome (S. 126); das Destillat schüttelt man zur Entfernung der sauren Produkte mit verdünntem Ammoniak aus und destilliert fraktioniert. Die niedrig siedende Hauptfraktion wird in dem gleichen Volumen Äther gelöst und mit einer konzentrierten alkoholischen Ätzkalilösung im Überschusse versetzt. In Äther unlösliches Guajacolkalium wird mit Äther gewaschen, aus Alkohol umkrystallisiert, mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt und das freie Guajacol durch nochmalige Rektifikation gewonnen. Die alkoholische Lösung wird durch sehr wenig Eisenchlorid blau, auf weiteren Zusatz smaragdgrün gefärbt.

Eine quantitative Bestimmung haben Th. Knapp und F. Suter[1]) angegeben. Sie beruht auf einer Titrationsmethode, Bildung eines gelben, unlöslichen Azofarbstoffes aus Guajacol und salzsaurem p-Nitrodiazobenzol.

Hedonal. Methylpropylcarbinolurethan.

$$CO\begin{cases}NH_2\\ O\cdot CH(CH_3\cdot C_3H_7)\end{cases}.$$

Wird im Organismus in Kohlensäure, Wasser und Harnstoff umgewandelt.

Helmitol. Neuurotropin, das methylcitronensaure Salz des Urotropins, s. d.

Heroin. Diacetylmorphin. $C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O\cdot CO\cdot CH_3\\ O\cdot CO\cdot CH_3\end{cases}$ (s. Morphin).

Heroin läßt sich mit Chloroform, auch Benzol leicht aus alkalischer Lösung ausschütteln.

Das Reagens von Marquis gibt mit Heroin eine rot bis rotviolette, zuletzt blauviolette Färbung s. Morphin.

---

[1]) Archiv exp. Pathol. u. Pharmakol. 1906. **50.** 332.

Hetralin. Dioxybenzolhexamethylentetramin. Harnantiseptikum wie das Urotropin, s. d.

Hexal. Sulfosalicylsaures Hexamethylentetramin.

$$(CH_2)_6N_4 \cdot SO_3H \cdot C_6H_3(OH)COOH.$$

Hypnal. Monochloralantipyrin. S. Antipyrin und Chloral.

Hypnon. Acetophenon. Phenylmethylketon. $CO\begin{matrix}C_6H_5\\CH_3\end{matrix}$.

Wird im Organismus zu Kohlensäure und Benzoesäure umgewandelt; letztere wird als Hippursäure (S. 384) ausgeschieden.

Isoform. Parajodanisol s. d.

Jodglidin. Jodiertes Pflanzeneiweiß.

Jodipin, Sajodin. Jodfettsäureverbindungen.

Jodival. α-Monojodisovalerianylharnstoff.

Bei den Jodfettsäureverbindungen ist die Jodausscheidung eine verlangsamte und unvollkommene; bei den beiden anderen Jodprodukten erfolgt die Jodausscheidung, wie nach dem Einnehmen von Jodiden, im Harne rasch.

Jodoform. CHJ_3.

Geht bei äußerlicher Anwendung als Jodalkali, Jodsäure in den Harn über; bei Jodoformintoxikationen kann das Jod nach Harnack zum größten Teile in organischer Verbindung vorhanden sein. Nach Versuchen von S. Angiolani findet sich aber das Jodoform auch nach Darreichung relativ hoher und wiederholter Mengen zum größten Teile als Jodid, zum kleinsten als Alkalijodat, nicht als organische Jodverbindung.

Nach J. Singer erscheinen vom Jod des Jodoforms etwa 86% im Harne.

Nachweis. S. Jodkali.

Juvenin.

Ein Arsen, Strychnin und Yohimbin enthaltendes Aphrodisiacum (Goerl).[1])

Nachweis. Arsen, Strychnin.

Kairin. Salzsaures Äthyl-Oxytetrahydrochinolin.

$$C_9H_{10}(C_2H_5)NO \cdot HCl.$$

Erscheint nach v. Mering als Kairinschwefelsäure und Kairinglykuronsäure im Harne, der Methämoglobin enthalten kann. Harn nach Einnehmen von Kairin ist braun gefärbt.

Nachweis.

1. Durch Silbernitrat, Eisenchlorid färbt sich Harn nach Kairingenuß dunkelviolett (Renzone), mit Essigsäure und Chlorkalklösung schön fuchsinrot (Petri).

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1922. **69.** 1649.

2. Der Harn ist häufig gelbgrün, dreht nach großen Dosen links und reduziert Fehlingsche Lösung; der Harn scheint gepaarte Glykuronsäure zu enthalten.

Kakodylsäure. $(CH_3)_2AsO_2H$.

Das Natriumsalz dieser wird therapeutisch verwertet; ein Teil wird im Körper oxydiert und tritt als arsenige Säure oder als Arsensäure im Harne auf, während der größere Teil der Kakodylsäure als solche ausgeschieden oder zu anorganischen Arsenverbindungen umgewandelt wird (A. Heffter, W. H. Bloemendal).

Nachweis.

1. Der Harn, der den leicht zu erkennenden Kakodylgeruch zeigt, wird mit phosphoriger Säure erwärmt; es tritt ein stark knoblauchartiger Geruch des Kakodyloxydes auf (A. Heffter).

$$2(CH_3)_2AsO\cdot OH + 2H_3PO_4 = [(CH_3)_2As]_2O + 2H_3PO_4 + H_2O.$$

2. Die Bestimmung des Arsens nach dem allgemeinen Gange führt nicht zum Ziele; die Kakodylsäure wird nur angegriffen, wenn man den nach Zusatz von Alkali eingedampften Harn mit 1 Teil Kalihydrat und 4—5 Teilen Salpeter schmilzt. Die in Wasser gelöste Schmelze wird eingedampft und mit Schwefelsäure zur Entfernung der Salpetersäure erhitzt (S. 532). Dann prüft man im Marshschen Apparate.

Kodein. Methylester des Morphins. $C_{17}H_{17}NO\begin{<}O\cdot CH_3\\OH\end{>}$.

Wird im Gegensatze zum Morphin zum größten Teil im Harne ausgeschieden.

Nachweis. (Isolierung S. 556.)

1. Mit Fröhdes Reagens in der Kälte gibt das Kodein eine gelbe, dann grünliche, allmählich schön indigoblau werdende Färbung; ebenso wirkt Vanadinschwefelsäure (1 T. vanadins. Ammoniak in 200 T. konz. Schwefelsäure).
2. Reagens von Marquis (s. Morphin) blauviolett.
3. Kodein in konz. Schwefelsäure gelöst gibt mit 2 Tropfen Zuckerlösung erwärmt eine Purpurrotfärbung.
4. Erwärmt man Kodein mit konz. Schwefelsäure, die eine sehr geringe Menge Eisenchlorid zugesetzt enthält, so nimmt die Lösung eine tiefblaue Farbe an.
5. Eine auf 150° erhitzte Lösung von Kodein in konz. Schwefelsäure, nach dem Erkalten mit 1 Tropfen Salpetersäure versetzt, färbt sich blutrot.
6. Chloralschwefelsäure und Bromalschwefelsäure färben Kodein und Dionin in der Wärme blaugrün.

Schmelzpunkt 155°.

Koloquinten.

Diese wirken in größeren Gaben nierenreizend; man kann die für eine akute Nephritis und für Cystitis charakteristischen Merkmale im Harne vorfinden.

Kreolin. Kresolpräparate — Sulfosäuren der Kresole.

Die gepaarten Schwefelsäuren sind vermehrt, die Sulfate vermindert.

Nachweis.

1. Der Harn ist dunkel gefärbt (Auftreten freier Phenole).
2. Es empfiehlt sich, die präformierte und die gepaarte Schwefelsäure und die Phenole zu bestimmen.

Kryofin. Methylglykolyl-Phenacetin.

$$C_6H_4\begin{cases}O\cdot C_2H_5\\ NH(CO—CH_2\cdot OCH_3)\end{cases}.$$

Scheint sich im Organismus ähnlich umzusetzen, wie das Phenacetin. Gibt die dort aufgeführten Reaktionen.

Kryogenin. m-Benzaminsemicarbazid.

$$H_2N\cdot CO\cdot C_6H_4NH\cdot NH\cdot CO\cdot NH_2.$$

Wird im Harne schon nach 2 Stunden ausgeschieden.

Nachweis.

Nach René Courand versetzt man zum Nachweis des Kryogenins 10 ccm Harn mit 2—4 Tropfen Phosphormolybdänsäurelösung; man erhält eine blaue Färbung, die je nach dem Farbentone des Harnes ins Grünliche spielt; manchmal tritt auch ein reichlicher blauer Niederschlag auf. Im Zuckerharne und selbst im normalen Harne kann man aber nach P. Vigne und Paris eine ähnliche Reaktion bekommen; als empfindlicheres Reagens wird eine salzsaure Lösung von Molybdänsäure empfohlen; man erhält eine ausgesprochene blaue oder blaugrüne Färbung. Um das Kryogenin krystallinisch aus dem Harne abzuscheiden, wird der gesammelte Harn, etwa 3 Liter, mit neutralem Bleiacetat gefällt, das Filtrat mit reinem Quarzsande eingedampft und der Rückstand mit Chloroform ausgezogen. Die filtrierte Lösung wird zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit Ligroin behandelt; diese Lösung an der Luft, dann im Vakuum eingedunstet, hinterläßt prismatische Krystalle, die alle Farbenreaktionen des Kryogenins geben; besonders die Reaktion mit Formaldehyd und konz. Schwefelsäure — dunkle Violettfärbung mit grüner Fluorescenz — ist charakteristisch.

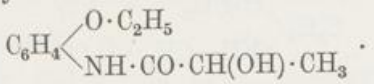
Nach Denigès: Man schüttelt 10 ccm Harn mit 2—3 g Bleioxyd oder Manganoxyd und 5—6 Tropfen Natronlauge; das Filtrat ist orangegelb gefärbt bei Kryogeninanwesenheit.

Kryogeninhaltige Harne werden mit dem gleichen Volumen der sauren Quecksilbersulfatlösung (5 g HgO, 20 ccm H_2SO_4, 100 ccm H_2O) versetzt gelb gefärbt.

E. Justin-Müller[1]) läßt den mit gleichen Teilen Wasser verdünnten Harn tropfenweise mit einer Mercuriacetatlösung (2:10) versetzen; bei kleinsten Spuren entsteht ein lachsroter Niederschlag.

Nachweise erwähnen Gallois und Mouchel[2]), dann Grimbert[3]).

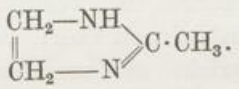
Lactophenin. Lactyl-Phenetidin.



Man findet nach dem Einnehmen dieses Präparates zuweilen durch Gallenfarbstoffe dunkelbraun gefärbten Harn.

Nachweis.

Gibt die Indophenol- und Phenetidinreaktion, s. Antifebrin und Phenacetin.

Lysidin. Methylglyoxalidin. 

Wird zum Teil als solches ausgeschieden.

Nachweis.

Der Harn wird auf ein kleines Volumen eingeengt, mit konz. Natronlauge versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt; man entwässert die Chloroformlösung mit Kaliumcarbonat und destilliert das Chloroform ab. Lysidin hinterbleibt als Krystallmasse; die wässerige Lösung gibt mit Benzoylchlorid und mit Natronlauge im Überschusse geschüttelt ein schwer lösliches, bei 244° schmelzendes Dibenzoyläthylendiamin (A. Ladenburg).

Lysol. Lösung von Teerölen in neutraler Seife.

Enthält Kresole.

Nachweis.

S. Kreolin, Phenol.

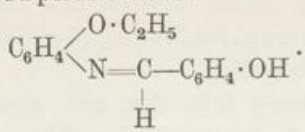
Lysolharne zeigen nach A. Baumgarten und G. Kaminer nach Zusatz von Essigsäure eine Blau- bis Violettfärbung.

Bei starken Lysolvergiftungen gab der sehr dunkle Harn auf Salzsäurezusatz eine kornblumenblaue Färbung, auf Zusatz von Alkali wurde der Urin rot bis rotviolett. Der blaue Farbstoff ließ sich mit Amylalkohol ausziehen, der rote nicht (Sperber).[4])

Die Teeröle (Steinkohlenteerkresole) sind nicht einheitlich zusammengesetzt, ebenso auch die Lysole. Es gibt im Handel Kresolseifenlösungen, die orthokresolfrei sind; hier ist eine Schwarzfärbung des Harnes nicht zu erwarten. Vorhandenes Orthokresol geht in Hydrotoluchinon über, das Schwarzfärbung bewirkt (Baumann).

[1]) Journ. Pharm. et Chem. 1917. [7]. **16.** 52.
[2]) Ebenda. 1916. [7]. **13.** 372.
[3]) Ebenda. 1917. [7]. **15.** 305.
[4]) Briefl. Mitteilung.

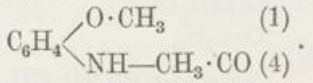
Malakin. Salicylparaphenetidin.



Nachweis.

S. Salicylsäure und Phenacetin.

Methacetin. Paraoxymethylacetanilid.



Nachweis.

Wird durch die Paraaminophenolreaktion (siehe Acetanilid) erkannt.

Methylalkohol. Holzgeist. $CH_3 \cdot OH$.

Die Ausscheidung des Methylalkohols im Harne erfolgt langsam; ein Teil ist als ameisensaures Salz vorhanden. Erst nach 3—4 Tagen nach der Darreichung erreicht sie nach Pohl, W. Autenrieth[1]) ihr Maximum. Nach Autenrieth entspricht die zur Ausscheidung kommende Ameisensäure etwa 5% des eingenommenen Methylalkohols. Die Bestimmung der Ameisensäure ist in toxikologischen Fällen bei Vergiftung mit Methylalkohol quantitativ vorzunehmen. Der Urin riecht nach dem Gifte. (R. Kobert.)

Nach Th. v. Fellenbergs[2]) Versuchen treten beim Einnehmen von Äthylalkohol in Form von Sekt oder Bier neben Pektin oder von Äthyl- und Methylalkohol in Form des Tresterbranntweines größere Mengen von Methylalkohol im Harne auf. Bei pektinhaltiger Nahrung (Äpfeln) wurden im Tag- und Nachtharne 5—6 mg, bei pektinfreier etwa 0,7 mg Methylalkohol ausgeschieden. Nach H. Jansch[3]) ist Methylalkohol als normaler Bestandteil im Harne und Fäces nachgewiesen; als Quelle sind die Pektinstoffe anzusehen.

Nachweis.

1. Nachweis von Methylalkohol durch Oxydation zu Aldehyd.

Man destilliert den Harn in der bei dem Nachweise von Äthylalkohol angegebenen Weise; in etwa 3 ccm des Harndestillates bringt oder taucht man mehrmals eine oberflächlich oxydierte glühende Kupferspirale. Dann gibt man einen Tropfen 5%iger Resorcinlösung hinzu und unterschichtet vorsichtig mit konz. Schwefelsäure. Eine rosenrote Zone an der Berührungsschicht zeigt Methylalkohol an.

Ameisensäure gibt diese Reaktion auch.

Das Destillat — 1 bis 3 ccm — kann man auch mit 4 ccm 20%iger Schwefelsäure vermischen und in das gut abgekühlte Gemisch unter Umschütteln allmählich etwa 1 g zerriebenes Kaliumperman-

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1919. **66.** 862; Archiv Pharm. 1920. **258.** Heft 1.
[2]) Mitt. Lebensm. Hyg. Schweiz. Gesundh. 1915. **6.** 24.
[3]) Viertelj. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätsw. 1921. **62.** 1.

ganat eintragen. Nach dem Verschwinden der Violettfärbung filtriert man durch ein kleines Filter, erwärmt das meist rötlich gefärbte Filtrat gelinde einige Sekunden und versetzt dann 1 ccm der farblosen Flüssigkeit vorsichtig mit 5 ccm einer konz. Schwefelsäure. Dem abgekühlten Gemische fügt man darauf eine frisch bereitete Lösung von 0,05 g Morphinhydrochlorid in 2,5 ccm reiner konz. Schwefelsäure hinzu. Wenn Methylalkohol vorhanden war, tritt bald oder nach einiger Zeit eine violette bis dunkelviolette Färbung ein.

2. Nachweis und Bestimmung der Ameisensäure S. 127.

Methylenblau, Pyoktanin.

Methylenblauhaltige Harne sind grün, blaugrün bis blau gefärbt. Zum Unterschiede von Indigo ist Methylenblau in Tetrachlorkohlenstoff nicht löslich. Salzsäure entfärbt Methylenblau enthaltenden Harn und den blauen Chloroformauszug (O. Raubenheimer).

Morphin. $C_{17}H_{17}NO(OH)_2 + H_2O$.

Der Harn enthält bei akuter Vergiftung stets nachweisbare Mengen von unverändertem Morphin, bei Morphinisten in den meisten Fällen Morphin teils frei, teils gepaart, teils umgewandelt, doch ist auch nach großen Dosen die Ausscheidung durch den Harn nur eine geringe. Solcher Harn kann Rechtsdrehung zeigen.

Morphin wird am zweckdienlichsten in folgender Weise isoliert, die die Umwandlung des Morphins im Organismus berücksichtigt.

Der Harn wird nach Kobert deutlich mit Salzsäure angesäuert, 5 Minuten bei 100° erwärmt (zur Spaltung des gepaarten M.), mit Ammoniak fast neutralisiert, auf dem Wasserbade eingedunstet und mehrmals mit Alkohol ausgezogen. Die vereinigten alkoholischen Filtrate werden bei etwa 50° eingedunstet, der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen, die Lösung mit etwas Salzsäure angesäuert und 2mal mit Äther zur Entfernung fettiger Substanzen, nötigenfalls unter schwachem Erwärmen ausgeschüttelt. Die wässerige alkaloidhaltige Lösung wird mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und mehrmals mit Essigäther kalt, sowie mit Isobutylalkohol warm ausgeschüttelt. (Starkes Schütteln bedingt leicht Emulsionen!) — Bei Vergiftungen mit Opium gehen auch Kodein, Narkotin, Thebain, Papaverin und Narcein mit in Lösung, wenn man diese Basen nicht vorher durch Ausschütteln der alkalischen Lösung mit Äther entfernt hat (S. 556). — Diese Essigäther- und Isobutylalkoholauszüge schüttelt man mit salzsäurehaltigem Wasser, das alles Morphin aufnimmt. Die wässerige Lösung wird ammoniakalisch gemacht und mit erwärmtem Chloroform ausgeschüttelt; im Abdampfrückstande befindet sich Morphin; dieses kann man aus der Chloroformlösung durch Zusatz von stark abgekühltem Petroläther, der das Lösungsvermögen für Morphin aufhebt, zur Abscheidung an den Glaswandungen bringen.

Nachweis.

1. Fröhdes Reagens gibt mit Morphin eine prachtvolle rote Färbung.
2. Wird die Lösung von wenig Morphin in 1—1,5 ccm rauchender Salzsäure nach dem Zusatze einiger Tropfen konzentrierter Schwefelsäure bei 100—120° verdampft, so färbt sie sich purpurrot (Bildung von Apomorphin). Fügt man dem Rückstande wiederum etwas Salzsäure hinzu, neutralisiert mit Natriumbicarbonat und setzt schließlich mit einem dünnen Glasstabe kleine Mengen einer alkoholischen Jodlösung zu, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv smaragdgrün; die grüne Substanz ist in Äther mit Purpurfarbe löslich (Pellagri).
3. 2 Tropfen 40%iges Formalin und 3 ccm Schwefelsäure geben mit Morphin eine violette Färbung (Marquis).
4. Eine Mischung von Morphin und Rohrzucker färbt sich mit konzentrierter Schwefelsäure intensiv rot.
5. Aus einer Lösung von Jodsäure macht Morphin nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure Jod frei, das von Chloroform mit violetter Farbe gelöst wird.

E. Marquis[1]); Über den Verbleib des Morphiums im tierischen Organismus. — W. v. Kaufmann-Asser[2]), Versuche über die Ausscheidung von Morphin im Harne. — C. Wachtel[3]), Nachweis und Bestimmung des Morphins usw.

Naphthalin. $C_{10}H_8$.

Geht als α- und β-Naphtholglykuronsäure, α-Naphthol, vielleicht als Dioxynaphthalin, zu einem kleineren Teile als Ätherschwefelsäure (Edlefsen) in den Harn über.

Nachweis.

1. Der Harn wird allmählich dunkler, braunrot bis schwarz und enthält häufig Eiweiß und Cylinder.
2. Man fügt zu einigen Tropfen (3—5) des Harnes 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure; der auf der Säure schwimmende Harn färbt sich besonders an der Berührungsstelle schön dunkelgrün (F. Penzoldt). (Reaktion auf α-Naphtholglykuronsäure.)
3. Naphthalinharn gibt mit einigen Tropfen Ammoniak oder Natronlauge eine blaue Fluorescenz (G. Edlefsen). (Reaktion auf β-Naphthol.)
4. 5—6 ccm Harn nehmen, mit 3—4 Tropfen Chlorkalklösung und einigen Tropfen Salzsäure vermischt, citronengelbe Färbung an. Schüttelt man mit Äther, so nimmt dieser die Farbe auf; dieser Äther, auf 1%ige wässerige Resorcinlösung geschichtet und mit einigen Tropfen Ammoniak geschüttelt, färbt das Resorcin schön blau-

[1]) Dissertation Dorpat 1896; Dorpater Arbeiten 1896. **15.** 118.
[2]) Biochem. Zeitschr. 1913. **54.** 161.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1921. **120.** 265.

grün, mit Salpetersäure kirschrot, Bildung von β-Naphthochinon (Edlefsen).

Die Naphtholglykuronsäure kann man aus dem Harne nach M. Lesnik isolieren. Die mit Bleiessig erhaltene Fällung wird an der Luft getrocknet, mit Salzsäure im Überschusse zu einem dünnen Brei angerührt und mit Äther extrahiert. Nach dem Entfernen des Äthers versetzt man den Rückstand mit wenig Wasser und läßt 24 Stunden stehen. Die Säure krystallisiert aus; die umkrystallisierte Säure, lange Nadeln, schmilzt bei 202—203°.

Naphthionsäure. Naphthylaminsulfosäure. $C_{10}H_6 \cdot NH_2 \cdot SO_3H$.

Erscheint kurz nach dem Einnehmen im Harne.

Nachweis.

1. Harn, der nur Spuren Naphthionsäure enthält, zeigt beim Verdünnen mit viel Wasser eine schön bläuliche Fluorescenz.
2. 5 ccm des Harnes werden mit 5—6 Tropfen konzentrierter Salzsäure und 5 Tropfen 2,5%iger Natriumnitritlösung kräftig durchgeschüttelt; wird dann 1 ccm konzentrierten Ammoniaks zugefügt, so entsteht Rotfärbung (Bildung von Azofarbstoff, E. Riegler).

Naphthol. β-Naphthol. $C_{10}H_8O$.

Wird bei äußerlicher Anwendung als Ätherschwefelsäure und als Glykuronsäureverbindung (M. Lesnik) durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

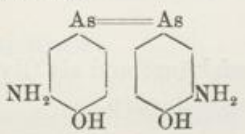
1. Man destilliert etwa 500 ccm Harn nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Wasserdampf, schüttelt das Destillat mit Äther und verdunstet die Ätherlösung. Den Rückstand löst man in Alkohol, versetzt mit wenig Tierkohle und erwärmt gelinde; man filtriert und dampft das Filtrat ein. Der Rückstand gibt beim Erwärmen mit konzentrierter Kalilauge und etwas Chloroform oder noch besser mit einigen Chloralhydratkrystallen eine prächtige grünblaue Färbung (J. S. Lustgarten).
2. Man fügt eine schwach alkalische β-Naphthollösung zu etwa 5 ccm einer 1%igen Lösung von salzsaurem Anilin, die mit einigen Tropfen konz. Salzsäure und einigen Tropfen einer 5%igen Natriumnitritlösung versetzt ist, und macht mit Natronlauge alkalisch. Es entsteht eine scharlachrote Färbung. Bildung von Azofarbstoff.
3. Am besten verfährt man in der von G. Edlefsen angegebenen Weise.

   Man versetzt 12 ccm des Harnes mit 12 Tropfen konzentrierter Salzsäure und kocht nach Erreichung des Siedepunktes 2 bis $2^1/_2$ Minuten. Nach dem Abkühlen gibt man zu der Flüssigkeit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion und fällt die Lösung mit gesättigter wässeriger Zinkacetatlösung, von der

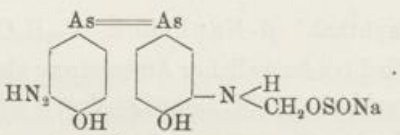
meist 1 ccm genügt. Das Filtrat befreit man vom Zink durch Fällen mit Natriumcarbonat; das zinkfreie Filtrat macht man mit 3—4 Tropfen Eisessig schwach sauer und schüttelt dieses mit höchstens 4 ccm Äther aus, der das freigewordene β-Naphthol aufnimmt. 1—$1^1/_2$ ccm der Ätherlösung mischt man mit 4—5 ccm verdünnten Alkohols (Alkohol und Wasser gleiche Teile) und fügt zu dieser Mischung zunächst einen und nach etwa einer Minute einen zweiten Tropfen halbgesättigter Chlorkalklösung; nach 5 Minuten langem Stehen zur Bildung von β-Naphthochinon aus vorhandenem β-Naphthol vermischt man die alkoholätherische Lösung mit 5 bis 6 Tropfen 1%iger wässeriger Resorcinlösung und fügt einige Tropfen Ammoniak hinzu. Beim Umschütteln oder im Laufe einer halben Minute tritt bei Gegenwart von β-Naphthochinon je nach der Menge desselben eine zuerst blaß-, dann rein blau- und grünwerdende Färbung ein, die beim Ansäuern mit Salpetersäure kirschrot wird.

Neosalvarsan.

Chemisch unterscheidet sich das Neosalvarsan vom Altsalvarsan durch den Rest des formaldehydsulfoxylsauren Natriums, der an die NH_2-Gruppe gebunden ist.



Salvarsan



Neosalvarsan

Die Einführung des Formaldehydsulfoxylrestes verleiht dem Neosalvarsan die Eigenschaft, in Wasser mit neutraler Reaktion leicht lösliche Salze zu bilden, während das Altsalvarsan bekanntlich nur in alkalischer Lösung gebraucht werden kann.

Während der ersten Stunden nach intravenöser Injektion läßt sich im Harne mit Hilfe der von Schryver[1]) empfohlenen, von J. Abelin[2]) für die Prüfung des Harnes in Anwendung gezogenen Phenylhydrazin-Ferricyankalium-Salzsäurereaktion Formaldehyd nachweisen.

J. Abelin gibt folgende Ausführung der Reaktion an:

10—15 ccm des spätestens 3—4 Stunden, am besten $^1/_2$—1 Stunde nach der intravenösen Neosalvarsaninjektion gelassenen Urins werden mit 2 ccm einer 1%igen frisch bereiteten und filtrierten Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin erwärmt, die Mischung wird abgekühlt und mit 1 ccm einer 5%igen frischen Lösung von Ferricyankalium versetzt. Gibt man zu dem gewöhnlich etwas trüb gewordenen Gemische etwa 5 ccm konz. Salzsäure, so tritt bei Anwesenheit von Formaldehyd eine sehr schöne fuchsinähnliche Färbung auf.

[1]) Pharm. Ztg. 1910. **55.** 397.
[2]) Archiv exp. Pathолog. Pharmakolog. 1914. **75.** 317.

Nach einiger Übung kann man den sauer reagierenden Neosalvarsanurin mit einigen Körnchen salzsaurem Phenylhydrazin erwärmen, abkühlen, mit wenig gepulvertem Ferricyankalium versetzen und konzentrierte Salzsäure zugeben.

Formaldehydfreie Urine geben die Reaktion nicht. Alkalische Urine sind vor der Ausführung der Reaktion ganz schwach anzusäuern. Die Urine sind möglichst bald nach der Entleerung zu prüfen.

Der rote Farbstoff geht leicht in Äther über, wenn man die mit gleichen Teilen Wasser gemischte Flüssigkeit damit schüttelt. Der Äther färbt sich gelb, auf Zusatz von konz. Salzsäure rot.

Das sterile Verhalten der Neosalvarsanurine spricht dafür, daß der Formaldehyd dabei frei oder locker gebunden auftritt.

Während der ersten Stunden nach intravenösen Neosalvarsan- oder Salvarsaninjektionen gibt der Harn beim Diazotieren eine positive Reaktion.

Nach intramuskulären Salvarsaninjektionen konnte während der ersten 24 Stunden keine Diazoreaktion im Harne gefunden werden.

Neuronal. Bromdiäthylacetanilid. $CBr(C_2H_5)_2CONH_2$.

Brom. Acetanilid.

Nitrobenzol. $C_6H_5NO_2$.

Der Harn kann nach Nitrobenzol riechen und neben Methämoglobin oder Hämatin, Eiweiß, Gallenfarbstoffen eine linksdrehende und nach dem Kochen des Harnes mit Salzsäure reduzierende, nicht gärungsfähige Substanz, Glykuronsäure und p-Aminophenol enthalten.

Nachweis.

Man destilliert den Harn bei saurer Reaktion mit Wasserdampf und löst übergegangene ölige Tropfen in Alkohol. Die alkoholische Lösung mit Zinkstaub und verdünnter Schwefelsäure behandelt gibt Anilin. Man macht die nach einer halben Stunde filtrierte Flüssigkeit alkalisch und entzieht das Anilin mit Äther. Der Rückstand der Ätherlösung färbt sich mit einer Chlorkalklösung violett (s. Anilin).

Das p-Aminophenol kann im Harne selbst oder im Ätherextrakte durch die bekannte Indophenolreaktion nachgewiesen werden. Man kann den Ätherrückstand auch diazotieren durch Zusatz von etwas Salzsäure und 2 Tropfen Natriumnitritlösung; nach Zusatz von alkoholischer α-Naphthollösung und Ammoniak erkennt man das Aminophenol an der roten Färbung (E. Meyer).

Oxalsäure. $C_2H_2O_4$.

Nach Vergiftungen mit Oxalsäure scheidet sich diese zum Teil als solche auch im Harne aus, der dann Eiweiß, mitunter Blut, Fetttröpfchen, Zucker, Calciumoxalat, Cylinder enthält. Ein weiterer Teil der Oxalsäure wird verbrannt, ein anderer in oxalsauren Kalk verwandelt.

Nachweis. (Siehe Oxalsäure, S. 203.)

Parajodanisol. $C_6H_4\begin{cases}OCH_3\\J\end{cases}$.

Isoform kommt als Antiseptikum mit phosphorsaurem Kalk oder mit Glycerin gemischt in den Handel.

Im Harne gelangt es als Jodphenylschwefelsäure zur Ausscheidung (Röhmann).

Peronin. Benzylmorphin. $C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O\cdot C_6H_5\cdot CH_2\\OH\end{cases}$.

Phenacetin. Oxyäthylacetanilid. p-Acetphenetidin.

$$C_6H_4\begin{cases}O—C_2H_5\\NH(CH_3CO)\end{cases}.$$

Wird im Harne zum kleineren Teil als Phenetidin, zum Teil als Acetyl-p-aminophenol und in Form einer gepaarten Schwefelsäure, zum Teil als Glykuronsäureverbindung abgeschieden.

Nachweis.

1. Gibt die Indophenolprobe (s. Acetanilid).
2. Man versetzt den Harn mit zwei Tropfen Salzsäure und zwei Tropfen einer 1%igen Natriumnitritlösung; bringt man alkalische wässerige β-Naphthollösung und etwas Natronlauge zu, so tritt Rotfärbung auf, die mit Salzsäure violett wird (F. Müller).

   Nachweis des Phenetidins, Überführung dieses in die Diazoverbindung.

Wenn die Reaktion nicht gelingt, dann koche man vorher den Harn 2—3 Minuten lang mit $^1/_4$ Vol. konzentrierter Salzsäure zur Spaltung der gebildeten Ätherschwefelsäure und verfahre wie angegeben.

3. Harn nach Einnehmen größerer Mengen von Phenacetin ist intensiv gelb und wird mit Eisenchlorid, auch mit Chromsäure (3%ige Lösung), mit Chlorkalk dunkel, braunrot bis schwarzgrün gefärbt.
4. Harn nach Einnehmen von Phenacetin zeigt Linksdrehung und reduziert Fehlingsche Lösung, gärt aber nicht.

Phenetidin. $C_6H_4\begin{cases}O\cdot C_2H_5\\NH_2\end{cases}$.

Gibt die Reaktion 2. von Phenacetin.

Phenokollsalze. Phenocollum hydrochloricum; das salzsaure Salz des Amidoacet-p-Phenetidins.

$$C_6H_4\begin{cases}O\cdot C_2H_5\\NH—CO—CH_2—NH_2\end{cases}HCl.$$

Scheidet sich schnell im Harne aus, nach A. Archetti aber nicht unverändert, wie Mosso angab, sondern als p-Aminophenol und als Glykokoll; das erstere ist im Rückstande der Ätherausschüttelung nachweisbar; der

Ätherextrakt gibt mit Eisenchlorid Blaufärbung und die anderen für p-Aminophenol charakteristischen Farbenreaktionen. Der Harn zeigt braunrote, ja tiefschwarzbraune Färbung.

Phenol. Benzophenol. Carbolsäure. $C_6H_5 \cdot OH$.

Phenol ist nach Anwendung im Harne zum Teil als Phenolsulfosäure, zum Teil als Hydrochinon und Hydrochinonschwefelsäure vorhanden; die Farbe des Harnes ist grünlich-braun, bald an der Luft nachdunkelnd; man findet in solchem Harne dann fast immer Eiweiß, hyaline Cylinder, Epithel, Blut. Die Sulfatschwefelsäure wird gebunden und nimmt ab, ja sie kann ganz verschwinden, so daß solcher Harn nach Zusatz von Essigsäure und Bariumchlorid keine oder eine nur geringe Trübung zeigt. Die Ursache der Färbung der Carbolharne ist jedenfalls durch mehrere Oxydationsprodukte des Hydrochinons bedingt (E. Baumann und C. Preusse).

Nachweis. S. 359.

Phenolphthalein. Purgen. $C_{20}H_{14}O_4$.

Nach Grübler muß ein Teil des Phenolphthaleins den Organismus unzersetzt verlassen, da er bei einem Kranken, der das Ph. als Abführmittel erhalten hatte, in dem Harne nach Zusatz von Natronlauge eine rötliche Färbung erhielt. Siehe auch bei Santonin.

Mit Barytwasser gibt solcher Harn einen farblosen Niederschlag und ein violettrotes Filtrat, mit Sodalösung sofort violettrote Färbung, beim Erwärmen mit Natronlauge und Zinkstaub Entfärbung (Bildung von Phenolphthalein).

Ich habe solche Harne mehrmals beobachtet.

Phenoval. Bromisovaleryl-p-phenetidin. Sedativum.

Nachweis von Brom und Phenetidin.

p-Phenylendiamin. $C_6H_4NH_2 \cdot NH_2$.

Wirkt auf Blut zersetzend ein. Es findet sich Methämoglobin im Harne.

Pikrinsäure. Trinitrophenol. $C_6H_2(NO_2)_3OH$.

Ausscheidung als solche und in geringer Menge als Aminokörper (Amidodinitrophenol, Pikraminsäure [?]) vor allem durch den Harn.

1. Nachweis von Pikrinsäure.

Der Harn ist orangegelb bis rot gefärbt und kann reichlich Indican, auch Eiweiß, Blut enthalten.

Am besten ist die auch von F. Utz[1]) empfohlene Reindarstellung aus dem Harne. Man versetzt 100 ccm Harne mit 10 ccm Bleiacetatlösung, filtriert, entfernt im Filtrate den Überschuß an Blei mit Schwefelsäure und schüttelt das wieder erhaltene Filtrat mit Äther aus. Den Rückstand von der Ätherlösung nimmt man mit Wasser auf

[1]) Südd. Apoth.-Ztg. 1919. 59. 171.

und bringt in einen Teil der Lösung je einen Faden weißer Wolle oder Seide und Baumwolle. Nach 24stündigem Stehen wäscht man die Fäden mit Wasser aus; ist der Wolle- oder Seidenfaden gefärbt, der Baumwollefaden nicht, so ist Pikrinsäure vorhanden.

In einem anderen Teile der Lösung nimmt man die Prüfung mit einigen Tropfen Natronlauge und Cyankaliumlösung (1 + 2) vor und erwärmt; es entsteht beim Vorhandensein von Pikrinsäure eine schöne Rotfärbung (Kaliumisopurpurat); mit Kalilauge und Traubenzucker entsteht ebenfalls die Färbung (Pikraminsäure).

Mit ammoniakalischem Kupfersulfat bilden sich gelbgrüne Krystalle (Sargdeckel), die das Licht stark polarisieren.

2. Nachweis des Aminokörpers.

Nach K. Wolko säuert man einen Teil des in Wasser gelösten Rückstandes der Ätherausschüttelung mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure an und bringt 2 Tropfen einer 1%igen Natriumnitritlösung und einige Tropfen einer Lösung von β-Naphthol in Sodalösung hinzu; nach dem Zusatze von Natronlauge tritt eine Violettfärbung ein; mit diesem Gemische geschüttelter Äther färbt sich amethystblau.

Mit dem Nachweis beschäftigt sich eine reiche Literatur der letzten Jahre, besonders die französischen Autoren bringen eine Reihe von Verfahren, da dort in der Fremdenlegion die Pikrinsäure vielfach zum Hervorrufen einer falschen Gelbsucht verwendet wird. Über diese Arbeiten habe ich berichtet[1]).

Piperazin. Diäthylendiamin. $C_2H_4\begin{matrix}NH\\NH\end{matrix}C_2H_4$.

Wird als solches ausgeschieden, der Hauptanteil schon nach wenigen Stunden.

Nachweis.

1. Durch Pikrinsäure und durch Wismutjodidjodkalium wird Piperazin gefällt.
2. Man scheidet die Erdphosphate durch einige Tropfen Kalilauge aus dem Harne ab, säuert das Filtrat mit wenigen Tropfen Salzsäure an, versetzt darauf mit Wismutjodidjodkaliumlösung, erwärmt auf etwa 40°, kühlt ab und filtriert. Beim Reiben mit einem Glasstabe krystallisiert aus dem Filtrate allmählich die Wismutverbindung als feines, rotes Pulver (dunkelrote Kryställchen) aus.
3. Kennzeichnend ist auch die Benzoyl-Piperazinverbindung, die in rhombischen Blättchen krystallisiert. Man erhält die Verbindung durch Schütteln des Harnes mit starker Natronlauge und Benzoylchlorid.

---

[1]) E. Spaeth, Südd. Apoth.-Ztg. 1922. **62.** 325. 328.

Pyramidon. Dimethylaminoantipyrin. $C_{11}H_{11}N_2O \cdot N(CH_3)_2$.

Harn nach Pyramidongebrauch zeigt gewöhnlich eine hellpurpurrote, an Hämatoporphyrinharn erinnernde Farbe und scheidet ein aus roten Nädelchen bestehendes Sediment ab; der rote Farbstoff ist aus dem Harne nach dem Ansäuern durch Essigäther mit tiefrubinroter Farbe isolierbar (nach M. Jaffé Rubazonsäure). Neben weiteren Stoffwechselprodukten findet sich eine gepaarte Glykuronsäure und ein Körper, unzweifelhaft Antipyrylharnstoff. Unverändertes Pyramidon war nicht nachzuweisen (M. Jaffé).

Nachweis.

1. Mit gleichen Teilen 2%iger Eisenchloridlösung versetzter Harn wird dunkelbraun bis amethystfarben (Antipyrylharnstoff).
2. Beim Überschichten von Harn mit sehr verdünnter alkoholischer Jodlösung (10%ige alkohol. Jodlösung wird auf das 10fache mit Wasser verdünnt) entsteht an der Berührungsstelle ein violetter, allmählich rotbraun werdender Ring (Jolles).
3. Der rote Farbstoff kann aus dem Harne nach dem Ansäuern mit Essigäther ausgezogen werden; er hinterbleibt beim Verdunsten der Lösung in roten Nädelchen, die sich in Ammoniak purpurrot lösen.

Pyrantin. Succinyl-Phenetidin. $C_2H_4\begin{matrix}CO\\CO\end{matrix}N \cdot C_6H_4 \cdot O \cdot C_2H_5$.

S. Phenetidin.

Pyrodin. Hydracetin, Acetylphenylhydrazin.

$$CH_3 \cdot CO \cdot NH \cdot NH \cdot C_6H_5.$$

Wirkt sehr giftig; erzeugt Albuminurie, Hämoglobinurie.

Pyrogallol, Pyrogallussäure, Trihydroxylbenzol. $C_6H_3(OH)_3$.

Wirkt als reduzierendes Gift und bildet Methämoglobin.

Der teils saure, teils stark alkalische Harn enthält außer Blutfarbstoff, Methämoglobin, oft Gallenfarbstoff und bisweilen Traubenzucker. Pyrogallol findet sich teils frei, teils gepaart, auch in Form von Oxydationsumwandlungsprodukten.

Mit konz. Salpetersäure wurde öfters Rotfärbung beobachtet (Kobert).

Radiumpräparate.

Nach Ramsauer und Caan werden injizierte Radiumpräparate in meßbaren Mengen im Urin ausgeschieden.

Resorcin. $C_6H_4(OH)_2$.

Wird im Harne teils als solches, teils als Ätherschwefelsäure ausgeschieden.

Im Harne eines Kranken, der Resorcin erhalten hatte, schied der an der Luft nachgedunkelte Harn bei beginnender alkalischer Gärung einen dunkelblauen, lackmoidartigen Farbstoff ab, der nur in Eisessig mit roter Farbe löslich war, beim Neutralisieren in blauen Flocken ausfiel und im Überschusse von Alkali mit schöner blauer Farbe löslich war (B. J. Stockvis).

Nachweis.

1. Im Harne direkt. Resorcinprobe von Edlefsen siehe Naphthalinprobe 4.
2. Nach dem Isolieren. Man dampft Harn auf seinen vierten Teil ein, kocht den Rückstand mit Schwefelsäure und schüttelt mit Äther aus; den Verdampfungsrückstand der Ätherlösung nimmt man mit Wasser auf, kocht mit kohlensaurem Baryt, filtriert und verdunstet nach dem Behandeln mit Tierkohle. Der mit Wasser gelöste Rückstand wird durch Eisenchlorid tief violett gefärbt, reduziert ammoniakalische Silberlösung und Fehlingsche Lösung und gibt mit Bromwasser eine Fällung von Tribromresorcin.
3. Trockenes Resorcin, mit Phthalsäureanhydrid auf 200° erhitzt, bildet Fluorescein; die wässerige Lösung des Rückstandes zeigt, mit Ammoniak versetzt, prachtvolle Fluorescenz; sie ist im auffallenden Lichte grün, im durchfallenden goldgelb.

Rhamnus s. Cascara.

Rheum. Senna. Anthrachinonharne.

Die intensive gelbe oder grünlichgelbe Färbung von Harn nach dem Einnehmen von Rheum, Cortex Frangulae, Cascara sagrada, Aloe oder Senna rührt von den in diesen Drogen enthaltenen Emodinen (Trioxymethylanthrachinon $C_{14}H_4O_2(CH_3)(OH)_3$), von Chrysophansäure (Dioxymethylanthrachinon $C_{14}H_5O_2CH_3(OH)_2$) her, die im Harne teils als solche frei, teils als mit Glykuronsäure gepaarte Körper, Anthraglucoside ausgeschieden werden.

Nachweis.

1. Der gelb bis grünlichgelb gefärbte Harn wird auf Zusatz von Alkalien gelbrot bis purpurrot, rote Salze der Anthrachinonverbindungen, und gibt die Hellersche Blutprobe (S. 462); die Färbung verschwindet aber auf Säurezusatz. (Unterschied vom Blutfarbstoff.)
2. Schüttelt man nach Penzoldt Harn bei saurer Reaktion mit dem halben Volumen Äther, so wird die Chrysophansäure vom Äther gelöst; der Äther färbt zugesetzte Kali- oder Natronlauge rot. (Unterschied vom Santoninharn, dessen Farbstoff durch Äther nicht extrahiert wird.) Der rote Harn von Rheum und Senna wird durch reduzierende Mittel (Zinkstaub, Natriumamalgam) entfärbt — Santoninharn nicht. Chrysophansäure wird durch Barytwasser oder Kalkmilch gefällt und scheidet sich mit dem Niederschlage aus — Santoninharn behält seine Farbe.
   Rheumharn reduziert Kupfer- und Wismutlösung.
3. Nach A. Tschirch kocht man zur Spaltung der gepaarten Körper den Harn mit 1—2 Tropfen Kalilauge, extrahiert nach dem Ansäuern

mit Salzsäure mit Äther und schüttelt den Äther mit Ammoniak, das sich nach dem Abtrennen vom Äther schön kirschrot färbt.

4. Wird Harn mit Salzsäure versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt, so entsteht auf Zusatz von Kaliumhydroxyd zur Chloroformlösung an der Berührungsstelle ein violetter Ring (E. Proksch).

Saccharin, Orthosulfaminbenzoesäureanhyhrid, Benzoesäuresulfimid. $C_6H_4\begin{cases}CO\\SO_2\end{cases}NH$.

Geht nach den angestellten Versuchen auch in den Harn über; der Harn hatte einen süßen Geschmack; die Hauptmenge wird in eine nicht süße Substanz umgewandelt.

Nachweis.

1. Man wird den mit etwas Phosphorsäure angesäuerten Harn mit Äther ausschütteln und den Ätherrückstand auf seinen Geschmack prüfen; dieser ist bei Gegenwart von Saccharin widerlich süß; man dampft den Ätherrückstand im Silbertiegel mit etwas konzentrierter Natronlauge ein und erhitzt eine halbe Stunde im Ölbade auf 250°; die Lösung der Schmelze in Wasser wird nach dem Ansäuern mit einer Mischung von 2 Teilen Chloroform und 3 Teilen Petroläther ausgeschüttelt und in diesem Lösungsmittel die gebildete Salicylsäure (s. d.) nachgewiesen (E. Spaeth).
2. Bei geringen Mengen dampft man 500 ccm Harn auf dem Wasserbade mit etwas gereinigtem, grobem Sand ein, zieht den Rückstand mit Äther-Petroläther (gleiche Teile) aus, filtriert durch etwas Asbest und destilliert den Äther ab. Den Rückstand nimmt man mit einigen Tropfen einer verdünnten Natriumcarbonatlösung auf, vermischt diese mit Soda und trägt diese Mischung in schmelzenden Natronsalpeter ein. Die Schmelze nimmt man mit Wasser auf, versetzt mit Salzsäure und gibt zu der kochend heißen Lösung Chlorbariumlösung; bei Anwesenheit von Saccharin entsteht eine Fällung von Bariumsulfat (A. Hilger, E. Spaeth).

Safran.

Safran färbt den Harn gelb bis gelbrötlich (Safranfarbstoff, Crocin).

Nachweis.

1. Ammoniak oder Schwefelsäure verändert die Farbe nicht; Äther nimmt den Farbstoff nicht auf.
2. Mit einigen Tropfen verdünnter Methylenblaulösung vorsichtig versetzt, wird safranhaltiger Harn prachtvoll olivengrün gefärbt (Daiber).

Salacetol. $C_6H_4\begin{cases}OH\\COO\cdot CH_2\cdot CO\cdot CH_3\end{cases}$.

Findet sich im Harne als Salicylsäure und Aceton.

Salicylate, Salicylsäure. $C_6H_4\begin{matrix}OH\\COOH\end{matrix}$.

Die Salicylate und Stoffe, die Salicylsäure im Darm abspalten (Salol, Kresalol, Salipyrin, Aspirin, Novaspirin) gehen als Salicylursäure, als Ätherschwefelsäure, als Glykuronsäureverbindung und teilweise unverändert in den Harn über und sind bereits schon nach ganz kurzer Zeit (15—30 Minuten) nach dem Einnehmen nachweisbar. Bemerkt sei, daß die Anwesenheit von Salicylsäure im Harne die Gärung beim Zuckernachweis beeinflussen kann.

Der Harn kann nach Salicylsäuregebrauch nicht unbeträchtliche Reduktion zeigen (C. Neuberg). Er dreht schwach links.

Nachweis.

1. Salicylsäurehaltiger Harn kann mit wenig Eisenchloridlösung versetzt die bekannte Violettfärbung geben, sicherer ist es aber, die Salicylsäure zu isolieren. Um nun nicht die die Eisenchloridreaktion störenden Harnbestandteile (Säuren usw.) bei dem sonst üblichen Ausschüttelungsverfahren in das Lösungsmittel zu bekommen, nimmt man die Ausschüttelung des mit Schwefelsäure angesäuerten Harnes mit einer Mischung von 2 Teilen Chloroform und 3 Teilen leichtsiedenden Petroläthers vor. Diese Mischung nimmt kein Wasser auf. Die abgelassene und filtrierte Petroläther-Chloroformlösung versetzt man in einem Cylinder mit einigen Kubikzentimetern Wasser und mit 1 Tropfen Eisenchlorid-, noch besser Eisenalaunlösung (säurefreier) und schüttelt. Bei Anwesenheit selbst der geringsten Mengen Salicylsäure färbt sich die wässerige Flüssigkeitsschicht schön violett.

   Durch Vergleich mit einer Lösung von bekanntem Salicylsäuregehalte kann die Salicylsäuremenge annähernd bestimmt werden (E. Spaeth).

   Schmelzpunkt der Salicylsäure 155—156°.

Salicylursäure. $C_9H_9O_4N$.

Wird auch durch Eisenchlorid violett gefärbt.

Salicylsäure und Salicylursäure lassen sich durch Krystallisation mit Äther oder Benzol trennen; Salicylsäure krystallisiert zuerst aus.

Saliphen, Saliphenin. Salicylphenetidin.

$$C_6H_4\begin{matrix}O\cdot C_2H_5\\NH(C_7H_5O_2)\end{matrix}.$$

Salicylsäure, Phenacetin.

Salipyrin, Antipyrinsalicylat $C_{11}H_{12}N_2O\cdot C_7H_6O_3$.

Nachweis. Siehe Salicylsäure und Antipyrin.

Salol. Salicylsäure-Phenyläther. $C_6H_4\begin{matrix}OH\\CO\cdot O\cdot C_6H_5\end{matrix}$.

Geht im Harne in Salicylsäure und Phenol über.

Nachweis.

Salicylsäure und Phenol lassen sich durch etwas alkoholhaltigen Äther dem Harne entziehen; Phenol bleibt beim Schütteln der ätherischen Flüssigkeit mit einer Natriumcarbonat enthaltenden Lösung (bei vorherrschender alkalischer Reaktion) im Äther, Salicyl- und Salicylursäure sind in der alkalischen Flüssigkeit enthalten.

Salophen. Acetylparaaminophenolsalicylsäureester.

$$C_6H_4\begin{matrix}OH\\CO\cdot O\cdot C_6H_4NH\cdot CO\cdot CH_3\end{matrix}.$$

Zerlegt sich im Organismus in seine Bestandteile.

Nachweis.

Der Harn gibt die Salicylsäure- und Indophenolreaktion (Acetanilid).

Salosantal.

Man weist im Harne die Komponenten, das Phenol, die Salicylsäure und das Sandelöl nach (s. d.).

Salvarsan. Dioxydiaminoarsenobenzol. $C_{12}H_{12}O_2N_2As_2$.

Als Dichlorhydrat:

$$\begin{matrix}OH\\HCl\cdot NH_2\end{matrix}\!\!>C_6H_3—As=As—C_6H_3\!\!<\begin{matrix}OH\\NH_2HCl\end{matrix}.$$

Nach O. Gaebel kommt dem Salvarsan die Formel $C_{12}H_{12}N_2O_2As_2 \cdot 2HCl \cdot 2H_2O$ zu; es enthält 31,2% Arsen.

Die Ausscheidung im Harne beginnt sehr bald. (S. 537.)

Nachweis im Harne.

1. S. Seite 538, 540.
2. Nach J. Abelin werden 7—8 ccm Harn nach dem Ansäuern mit 5—6 Tropfen Salzsäure und nach dem Abkühlen mit 3—4 Tropfen $^1/_2$%iger Natriumnitritlösung versetzt. Einige Tropfen dieser Mischung bringt man in etwa 5—6 ccm einer alkalischen farblosen 10/%igen Resorcinlösung, die sich sofort deutlich rot färbt. Man kann auch die Harnlösung vorsichtig auf die Resorcinlösung schichten; es tritt dann eine gefärbte Zone auf.

P. Beisele gelang dieser Nachweis nicht.

Sandelöl. Santalol, Gonosol, Santyl (Salicylsäureester), Thyresol (Methyläther). $C_{15}H_{26}O$.

Der nach Sandelölgebrauch ausgeschiedene Harn reduziert stark (gepaarte Glykuronsäure) und enthält Harzsäuren.

Nachweis.

Nach Zusatz von Mineralsäuren entsteht keine Farbenreaktion (Unterschied von Copaivabalsam, doch siehe dort); durch konz. Salzsäure werden Harzsäuren wolkig abgeschieden. Man kann den Harn nach Salzsäurezusatz destillieren, das Destillat soll ambraartigen Geruch zeigen, wenn Sandelölharn vorliegt.

Der Harn dreht nach dem Einnehmen von Sandelöl, Santalol usw. schwach links und reduziert alkalische Wismutlösung.

Die Reaktionen entstehen auch nach dem Gebrauch anderer balsamischer Mittel (Cubeben).

Santoninfarbstoff.

Santonin, der wirksame Bestandteil des Wurmsamens, $C_{15}H_{18}O_3$, geht als solches nicht in den Harn über oder unverändertes Santonin wurde bis jetzt im menschlichen Harne nicht nachgewiesen; die gelbe bis grünlichgelbe Farbe des Harnes, besonders des Schaumes, rührt von einem Farbstoffe, Santoninrot (Xanthopsin), her, der nach kurzer Zeit nach dem Einnehmen von Santonin ($^1/_2$—1 Stunde) im Harne nachweisbar ist.

Santoninrot dürfte vielleicht öfters zu finden sein; in Frankreich werden Pillen mit Santonin oder Santoninnatrium bei Diabetes verwendet.

Nachweis.

Mit Alkalien wird der Harn rot. (Siehe Rheum, Senna S. 590). Der rote Farbstoff geht im Gegensatze zum Oxyanthrachinonfarbstoff im Rheum- und Sennaharne beim Schütteln mit Amylalkohol in diesen.

Wenn Wurmtabletten außer Santonin noch Purgen (Phenolphthalein) als Abführmittel enthalten, dann geben solche Harne mit Alkali, auch bei der Prüfung dieser Harne mit alkalischer Wismutlösung, eine rötliche Färbung.

Solutol, Solveol.

Kresole durch kresotinsaures Natrium gelöst.

Nachweis.

Phenol, Kreolin.

Sozojodolpräparate. Dijodparaphenolsulfosäure.

$C_6H_2J_2\begin{cases}OH & (1)\\ SO_3H & (4)\end{cases}$ und deren Salze.

Nachweis.

Jod, Phenol.

Strychnin. $C_{21}H_{22}N_2O_2$.

Nach Untersuchungen geht Strychnin als solches und nicht als Strychninsäure in den Harn über; es ist bald nach dem Einverleiben nachweisbar; der Harn kann noch Eiweiß, Milchsäure, Traubenzucker enthalten.

Nachweis.

1. Eine Lösung von Strychnin in konzentrierter Schwefelsäure wird durch ein Splitterchen Kaliumdichromat prachtvoll violett gefärbt. Man schiebt den Splitter durch die Säure; es entstehen die blauvioletten Streifen. (Man nimmt die Reaktion in einem Porzellanschälchen vor.)
2. Gibt man zu einer Lösung von salpetersaurem Strychnin Kaliumdichromatlösung, so bilden sich gelbe Krystalle von chromsaurem Strychnin. Jede Spur von diesem gibt, mit konzentrierter Schwefelsäure befeuchtet, die charakteristische violette Färbung.

Sulfonal. Diäthylsulfondimethylmethan. $\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>\!C\!<\!\!\begin{matrix} SO_2 \cdot C_2H_5 \\ SO_2 \cdot C_2H_5 \end{matrix}$.

Geht als solches nicht oder nur in sehr geringer Menge in den Harn über; die Menge des unverändert in den Harn übergehenden Sulfonals soll allmählich bei längerem Gebrauche steigen; durch den Organismus wird es leicht in organische Schwefelverbindungen, größtenteils in gepaarte Sulfosäuren (Äthylsulfonsäure Smith) umgewandelt.

Nachweis.

1. Der Harn ist zuweilen dunkelrot, weinrot und riecht oft nach Obst; man findet dann Hämatoporphyrin, auch Eiweiß, Cylinder, hie und da auch Gallenfarbstoffe im Harne.
2. Der Harn zeigt das Seite 475 angegebene spektralanalytische Verhalten.

   Beim längeren Kochen des Harnes soll der Harn Fehlingsche Lösung reduzieren.

W. Morro[1]) gibt ein Verfahren zum Isolieren des unveränderten Sulfonals aus dem Harne an.

Tannigen. Tannalbin. Diacetylgerbsäure. $C_{14}H_8(CH_3 \cdot CO)_2O_9$.

Nachweis.

Findet sich als Gallussäure im Harne; s. Tannin.

Tannin. Digallussäure. $C_{14}H_{10}O_9$.

Geht nach innerlichem Gebrauche im Harne in Gallussäure und in andere noch unbekannte Produkte über.

Nachweis.

1. Versetzt man solchen Harn mit Eisenchlorid, so tritt graugrünliche bis schwärzliche Färbung ein.
2. Der alkalische Harn wird durch Sauerstoffabsorption braunschwarz bis schwarz.

Terpentinöl.

Der Harn zeigt angenehmen Veilchengeruch.

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1894. **20.** 672.

Terpinhydrat. $C_{10}H_{16} + 3H_2O$.

Nachweis.

Man verdampft 250—500 ccm Harn, nimmt den Rückstand mit 5 ccm Alkohol auf, filtriert in ein Reagenzglas und verschließt dieses mit einem Korke, der ein rechtwinklig gebogenes Glasröhrchen enthält; in dem äußeren wagrechten Schenkel befinden sich einige Antimonchlorürkrystalle. Erhitzt man den Inhalt des Reagenzglases vorsichtig, so färben sich die Krystalle rot, wenn Terpinhydrat zugegen ist.

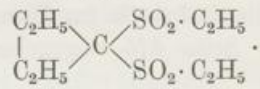
Tetralin. Tetrahydronaphthalin. $C_{10}H_{12}$.

Es wird nach J. Pohl und M. Rawicz[1]) hauptsächlich durch den Harn ausgeschieden und ist an Glykuronsäuren gebunden; deswegen drehen solche Harne links und reduzieren nach dem Kochen mit Säuren.

Beim Genusse von 5—6 g Tetralin finden sich im dunkelgrünen Harne ein amorphes Pigment und eine Leukoverbindung, sowie Naphthalin und Dihydronaphthalin.

In Zimmern, deren Böden mit tetralinhaltiger Bodenwichse gebohnt waren, wurde das sich verflüchtigende Tetralin vom Organismus aufgenommen, der Harn zeigte eine olivengrüne Färbung, reduzierte alkalische Kupferlösung und gab die Diazoreaktion (W. Röckemann).[2])

Tetronal. Diäthylsulfondiäthyläther.



Wirkung im Organismus wie Sulfonal.

Thallin. Para-Methoxytetrahydrochinolin. Tetrahydroparachinanisol. $C_9H_9(O \cdot CH_3)NH$.

Geht zum Teil unverändert, zum Teil als Chinanisol in den Harn über. Der Harn ist meist braungrün, in dünner Schicht grünlich gefärbt.

Nachweis.

1. Eisenchlorid gibt mit solchem Harne eine purpurrote Farbe.
2. Man schüttelt nach Penzoldt den Harn mit Chloroform aus und gibt zum Chloroformauszuge eine Spur Eisenchlorid; es tritt Grünfärbung ein.
3. Die Farbe des Harnes ist nach Thallingebrauch gewöhnlich grünlichgelb bis schön grün bis grünlich schwarz.

Theobromin. $C_7H_8N_4O_2$.

Wird zu einem kleinen Teil unverändert im Harne ausgeschieden; es wird, wie das Coffein, entmethyliert.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1919. **104.** Heft 2 u. 3; Berl. klin. Wochenschr. 1919. **56.** 448.
[2]) Archiv exp. Pathолog. Pharmakolog. 1922. **92.** 52.

Nachweis und Gewinnung aus dem Harne wie bei Coffein S. 556 angegeben.

Thermiol. Phenylpropiolsaures Natron.

Wird vom Körper beim Einatmen aufgenommen und ist im Harne nachweisbar.

Nachweis.

Nach Bulling macht man 10 ccm oder mehr des zu untersuchenden Harnes mit einigen Tropfen Natronlauge alkalisch und schüttelt dann mit 10—20 ccm Äther durch. Die vom Äther getrennte, mit festem Ammoniumsulfat gesättigte wässerige Schicht wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Bei Anwesenheit von Thermiol trübt sich alsdann die Lösung. Die durch Abfiltrieren und Ausäthern gewonnene Säure kann weiter festgestellt werden. Wird etwas Phenylpropiolsäure mit wenigen Tropfen starker Salpetersäure bis zur Lösung erwärmt, die Flüssigkeit dann mit 1 bis 2 ccm Wasser verdünnt und mit Natronlauge alkalisch gemacht, so färbt sie sich sofort gelbrot und zeigt einen schwachen Geruch nach Benzaldehyd.

Thermodin. Acetyl-p-Äthoxyphenylurethan.

$$C_6H_4\begin{cases}O\cdot C_2H_5\\ NCO\cdot CH_3\cdot CO—O\cdot C_2H_5\end{cases}.$$

Nachweis.

1. Der Harn gibt die charakteristische Indophenolreaktion (Acetanilid).
2. Unzersetztes Thermodin läßt sich durch Chloroform ausschütteln; die Lösung des Thermodins in Schwefelsäure wird durch Salpetersäure rotbraun, dann orange gefärbt; Chromsäure färbt schmutziggrün; die Färbung verschwindet bald.

Thymol. Methylpropylphenol. $C_6H_3\cdot CH_3\cdot C_3H_7\cdot OH$ (1, 4, 3).

Geht im Organismus in Thymolschwefelsäure, Thymolhydrochinonschwefelsäure, Thymolglykuronsäure und in das Chromogen eines grünen Farbstoffes über.

Nachweis.

Versetzt man nach F. Blum sog. Thymolharn mit einem Drittel seines Volumens konzentrierter Schwefelsäure und mit unterchlorigsaurem Natron, so scheidet sich nach längerem Stehen quantitativ Dichlorthymolglykuronsäure krystallinisch aus, die man nach dem Waschen in Sodalösung löst. Die Lösung schüttelt man mehrmals mit Äther, säuert dann die wässerige Lösung mit Schwefelsäure an und erhält die Säure rein in feinen weißen Nadeln (Schmelzpunkt 125—126°).

Das spezifische Drehungsvermögen in alkoholischer Lösung wurde zu $[\alpha]_D = -66^0\ 11'$ gefunden.

Um das an Schwefelsäure und Glucuronsäure gebundene Thymol nachzuweisen, destilliert man Harn nach Zusatz von Säure. Das Destillat schüttelt man mit Äther aus, der nach dem Verdunsten das Thymol hinterläßt. Schmelzpunkt 50—51°. Thymol gibt nach dem Lösen in etwa 50%iger Kalilauge und erwärmt mit einigen Tropfen Chloroform eine schöne violette Färbung.

Das Thymolhydrochinon bleibt bei der Destillation zurück; es kann durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther entzogen werden. Die Ätherlösungen reinigt man durch Schütteln mit Sodalösung. Beim Verdunsten des Äthers hinterbleibt das Thymolhydrochinon in nadelförmigen Krystallen, die rein bei 130° schmelzen und ammoniakalische Silberlösung reduzieren (Blum).

Toluidin. Amid des Toluols. $C_6H_4\begin{cases}CH_3\\NH_2\end{cases}$.

3 isomere Toluidine, Ortho-, Meta- und Paratoluidin, finden sich im rohen Anilinöl; dieses wirkt giftiger wie das Anilin.

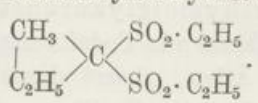
Die Ausscheidung erfolgt als Paraamidophenol oder Kresolätherschwefelsäure (Treitenfeld).

Trinitrotoluole.

Zum Nachweis und zur Bestimmung kleiner Mengen gewisser organischer Nitroverbindungen mit besonderer Rücksicht auf die Untersuchung des Harnes von Trinitrotoluolarbeitern gibt E. Elvove[1]) nachstehende Vorschrift:

Man versetzt 20 ccm Harn in einem Schüttelcylinder mit 10 ccm $^1/_2$ n-Schwefelsäure und schüttelt 3 Minuten lang kräftig mit 10 ccm Äther aus. Die ätherische Lösung wäscht man zweimal mit je 2 ccm Wasser, gibt dann 5 ccm n-Lauge hinzu und schüttelt 3 Minuten. Die alkalische Lösung läßt man in einen 100 ccm fassenden Meßkolben abfließen, wäscht die ätherische Lösung zweimal mit je 1 ccm Natronlauge, verdünnt die vereinigten alkalischen Lösungen mit 50 ccm Wasser, säuert mit 2 ccm $^1/_5$ n-Essigsäure an und füllt auf 100 ccm auf. Man bringt 50 ccm davon in ein sog. Nesslersches Glas (Colorimeter) und versetzt die Lösung mit 1 ccm Griessschem Nitritreagens (0,5 g α-Naphthylamin und 0,8 g Sulfanilsäure, zu 100 ccm mit $^1/_5$ n-Essigsäure gelöst). Die eintretende Färbung vergleicht man mit einer gleich behandelten Lösung von bekanntem Gehalte an 2,6-Dinitro-4-hydroxylamintoluol.

Trional. Diäthylsulfonmethyläthylmethan.



[1]) Journ. Ind. and Engin. Chem. 1919. **11.** 860; Chem. Centralbl. 1920. **91.** II. 682.

Nachweis.

1. Der Harn zeigt nach Einnehmen von Trional blutrote Farbe und wird auf Zusatz von Säure violett.
2. Die mit Bleiacetat- oder alkalischer Bariumchloridlösung erhaltene schokoladebraune Fällung gibt, mit etwas Salzsäure enthaltendem Alkohol (8 Tropfen Säure: 10 ccm Alkohol) auf dem Wasserbade erwärmt, ein Filtrat, das das Spektrum des Hämatoporphyrins zeigt (S. 476).

Trivalin. Enthält Morphin und Cocain.

Urethan. Carbaminsäureäthylester. $NH_2 \cdot CO \cdot O \cdot C_2H_5$.

Tritt als solches neben einer reduzierenden Substanz im Harne auf; nach Kobert wird es in Harnstoff umgewandelt.

Nachweis.

1. Harn nach Einnehmen von Urethan reduziert in alkalischer Lösung Kupferoxyd, wobei der Geruch nach Aldehyd auftritt und die Glasfläche des Reagenzröhrchens sich metallisch beschlägt.
2. Versetzt man urethanhaltigen Harn vorsichtig mit Kupferoxyd und Kalilauge, so entsteht meist ein bläulichweißer Niederschlag, der sich beim Kochen löst und der sich beim Erkalten nebst Kupferoxydul ausscheidet (Löbisch).
3. Man schüttelt den Harn (500 ccm) mit Äther dreimal aus, wäscht die ätherische Ausschüttelung nochmals mit Wasser, nimmt den Verdunstungsrückstand der Ätherlösung mit Wasser auf und bringt zur Urethanlösung Kalilauge und allmählich Sublimatlösung (1 : 20); es entsteht zunächst ein gelber Niederschlag von Quecksilberoxyd, der aber beim Umschütteln alsbald in einen weißen von Quecksilbercarbamat übergeht (Jacquemin).

Urotropin. Hexamethylentetramin. $(CH_2)_6N_4$.

Urotropinhaltiger Harn (das Urotropin ist schon $^1/_4$ Stunde nach dem Einnehmen im Harne nachweisbar) gibt mit Bromwasser einen orangegelben Niederschlag (Di- und Tetrabromurotropin) (A. Nicolaier).

Beim Zirkulieren im Organismus und in den Harnwegen wird Formaldehyd frei, der die Harnsäure in ein leicht lösliches Produkt umwandelt — lösliche Salze der Formaldehydharnsäure (Kobert).

Darstellung aus Harn. Siehe bei Cystopurin S. 572.

Zur quantitativen Bestimmung des Urotropins schüttelt man nach F. Schröter[1]) 1000 ccm des Harnes — am besten unmittelbar nach dem Entleeren, da saure Phosphate zersetzend einwirken — mit 10 ccm 25%iger Essigsäure und setzt sofort 80—120 ccm bei 30° gesättigter Quecksilberchloridlösung zu. Den nach 6—12 Stunden abfiltrierten, mit sublimat-

[1]) Archiv exper. Pathol. u. Pharmakol. 1911. **64.** 101.

haltigem Wasser ausgewaschenen Niederschlag digeriert man auf dem Wasserbade mit 10—15 ccm konz. Natriumchloridlösung, filtriert und fällt im Filtrate mit 20%iger Kalilauge das Quecksilber aus. Im Filtrate bestimmt man den Stickstoff nach Kjeldahl. Die verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$ n-Säure multipliziert man zur Ermittelung des Gehaltes an Urotropin im Harne mit 0,0035. Das Verfahren beruht auf der Unlöslichkeit des Hexamethylentetraminquecksilberchlorids.

Über den Nachweis von Urotropin und Formaldehyd im Harne berichtet F. Utz[1]) und erwähnt hier die gesamte Literatur. Siehe noch: K. Voit[2]), zur Frage des Nachweises des Formaldehyds nach Zuführung von Urotropin und Stepp[3]).

Veratrin. $C_{32}H_{47}NO_9$.

Wird zum Teil als solches durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

1. Das isolierte Veratrin (S. 556) färbt sich mit Schwefelsäure beim Erwärmen kirschrot.
2. Vermischt man eine geringe Menge des Alkaloids mit Rohrzucker (1 : 6) und verreibt das Gemisch innig in einem Porzellanschälchen mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so färbt sich die Probe anfangs gelblich, nach einiger Zeit vom Rande aus grasgrün und dann prachtvoll blau.
3. Mit 1—2 ccm konzentrierter Salzsäure erwärmt, entsteht eine prachtvolle kirschrote Flüssigkeit, die fluoresciert.

Veronal. Diäthylmalonylharnstoff. $(C_2H_5)_2C < (CO \cdot NH_2) > CO$.

Geht größtenteils unverändert schon nach kurzer Zeit — 40 Minuten — in den Harn über. Nach 3—4 Tagen ist die Ausscheidung beendigt. Nach Eingabe von 0,3—0,8 g geht es bis zu 92% unverändert in den Harn über, nach größeren Dosen wesentlich weniger (60—70%), da ein Teil im Organismus dann zerstört wird.

Nachweis.

Nach B. Molle und H. Kleist versetzt man etwa 200 ccm Harn mit Bleiacetatlösung, entbleit das Filtrat mit Schwefelwasserstoff, verjagt diesen durch Hindurchleiten von Luft und dampft das Filtrat auf etwa 60—80 ccm ein. Man entfärbt mit Tierkohle (Vorsicht!), bringt das Filtrat auf 100 ccm und setzt Natriumchlorid hinzu. Diese 100 ccm werden in der Scheidebürette[4]) (Fig. 72) mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung wird durch den seitlichen Glashahn in ein gewogenes Becherglas abgelassen und das Verfahren wiederholt. Nach dem Verdunsten des Äthers auf dem Wasserbade und Trocknen des Rückstandes im Vakuum wird das Veronal gewogen.

---

[1]) Südd. Apoth.-Ztg. 1919. 59. 55 u. 64.
[2]) Archiv exp. Pathолog. Pharmakolog. 1922. 95. 124.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1922. 127. 13.
[4]) Zu beziehen von P. Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstraße 47.

Der Rückstand muß sich in Wasser klar lösen. Von 0,5 g Veronalnatrium (= 0,45 g Veronal) wurden nach dem Verabfolgen als Einlauf oder nach dem Einnehmen oder Einspritzen in 1 Tage 0,17 g Veronal, in 4 Tagen 0,335 g im Harne vorgefunden (J. Hoppe und Ph. Fischer).

Fig. 72.

Das Veronal findet sich, wenn man nach dem von Stas-Otto angegebenen Verfahren arbeitet, in dem aus saurer (weinsäurehaltiger) Lösung gewonnenen Ätherauszuge.

G. und H. Frerichs verfuhren in einem tödlich verlaufenen Vergiftungsfalle mit Veronal zum Nachweise dieses im Harne in folgender Weise. Ein Teil des Harnes wurde direkt ohne vorheriges Eindampfen so oft mit je etwa 30—50 ccm Äther ausgeschüttelt, bis eine Probe des Äthers schließlich keinen Rückstand mehr hinterließ. Der beim Verdunsten des Äthers hinterbliebene Rückstand wurde in heißem Wasser gelöst und die Lösung mit Tierkohle entfärbt, die vorher mehrere Male mit Wasser ausgekocht war. Die farblose Lösung wurde dann auf einem gewogenen Uhrglase eingedampft und der Rückstand bis zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet.

L. van Itallie und A. J. Steenhouver[1]) reinigen das Rohveronal dadurch, daß sie es in 10 ccm siedendem Wasser lösen, mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure und heiß mit $^{n}/_{10}$ Kaliumpermanganat versetzen, bis die Flüssigkeit über dem Niederschlage farblos ist. Den Manganniederschlag löst man durch Wasserstoffsuperoxyd und schüttelt dann die Flüssigkeit mit Essigäther zweimal aus. Das Veronal kann man auf diese Weise sehr rein erhalten. In Essigäther ist das Veronal am leichtesten löslich (1 : 8,9).

Charakteristische Eigenschaften des Veronals sind: Die wässerige Lösung der Krystalle reagiert sauer; die Krystalle, die bei 187—188° (191°) schmelzen, sind leicht löslich in Ammoniak und in Natronlauge; durch Salzsäure wird das Veronal in der gleichen Krystallform wieder ausgeschieden. Die wässerige Lösung gibt, mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid und darauf mit einem Tropfen Natriumcarbonatlösung versetzt, einen weißen Niederschlag. Mit Natriummetall geglüht, ergibt die in Wasser gelöste Schmelze die Anwesenheit von Blausäure, die durch die Berlinerblaureaktion nachgewiesen werden kann; Anwesenheit von Stickstoff in dem Veronal. Veronal, im Reagenzrohr erhitzt, sublimiert.

[1]) Pharm. Weekbl. 1921. **58.** 1062; Pharm. Zentralh. 1921. **62.** 698.

Gibt man zu 1—2 ccm einer möglichst gesättigten Veronallösung 2 Tropfen Salpetersäure und dann tropfenweise Millonsches Reagens (S. 419), so entsteht ein weißer, gallertartiger, im Überschusse des Fällungsmittels löslicher Niederschlag.

G. Venturoli[1]), Nachweis von Veronal im Harne; W. Macadie[2]), W. Zimmermann[3]) dasselbe; René Fabre[4]), eine Reaktion des Veronals und der hypnotischen Derivate des Malonylharnstoffes. Veronal, Luminal, Dial kondensieren sich in essigsaurer Lösung leicht mit Xanthydrol zu Dixanthylverbindungen. Schmelzpunkt der Verbindung des Veronals 245—246°, des Luminals 218—219°, des Dials 242—243°.

Voluntal. Carbaminsäuretrichloräthylester. $NH_2 \cdot CO \cdot O \cdot CH_2 \cdot CCl_3$

Erst nach sehr großen Dosen erscheint Voluntal, anscheinend unverändert im Harne. Urochloralsäure oder Trichloräthylalkohol finden sich darin nicht, das Mittel scheint also vollständig vom Organismus aufgearbeitet zu werden. (R. Willstaetter, W. Straub u. A. Hauptmann[5]).)

Yatren. o-Oxyjodsulfonbenzolpyridin.

Wirkt bakterientötend. Nach den Untersuchungsergebnissen wird intravenös injiziertes Yatren bei Gesunden und Kranken innerhalb 6 Stunden durch den Harn ausgeschieden, peroral gegebenes hauptsächlich durch den Harn.

Nachweis im Harne.

Harn wird mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure oxydiert, das freigemachte Jod nach Reduktion des Braunsteins mit Oxalsäure mit Chloroform ausgeschüttelt und mit Thiosulfat titriert. (K. Herzberg[6]).

Die meisten neueren und neuen Arzneimittel sind mit Hilfe der Kenntnis ihrer Zusammensetzung im Harne leicht nachweisbar, da sie meist aus irgendeinem der im vorhergehenden erwähnten Stoffe bestehen oder im Organismus in einen dieser zersetzt werden.

---

[1]) Giorn. Farm. Chim. 1913. **62.** 345; Chem. Centralbl. 1913. **84.** II. 1342.
[2]) Pharm. Journ. 1913. [4] **36.** 134; Chem. Centralbl. 1913. **84.** I. 1066.
[3]) Apoth. Ztg. 1921. **35.** 382.
[4]) Journ. Pharm. et Chim. 1922. [7]. **26.** 241; Chem. Centralbl. 1923. **94.** II. 441.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1922. **69.** 1651.
[6]) Berl. klin. Wochenschr. 1922. **1.** 1830.