

sehr verdünnten wässrigen Kalilauge durchgeschüttelt, die wässrige 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 $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2COOH$.

Acetyllessigsäure, 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. Tollens¹⁾ und A. Deichmüller²⁾ 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 Harn 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 Harn 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 Harn; die Reaktion mit Eisenchlorid muß ausbleiben, wenn die Färbung von Acetessigsäure, die durch das Kochen zersetzt ist, herührte.

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 wässrige 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. Mayer¹⁾ empfiehlt als Gerhardt'sches 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. Jastrowitz²⁾ 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's³⁾ Erfahrungen über die Reaktion auf Acetessigsäure nach Gerhardt zeigt die Probe die schweren Störungen an.

2. Methode von V. Arnold⁴⁾, modif. von L. Liplawsky⁵⁾.

Man benötigt zwei Lösungen:

1. Eine 1%ige, wässrige 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 getrübbten — 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 Harns soll man in der Kälte durch Tierkohle entfärben.

Beurteilung.

Diese Reaktion ist empfindlich, eindeutig und wird durch Salicylsäure und die anderen bei 1 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 Purpurviolett färbung 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. Riegler¹⁾ angegeben, die nach den von F. Utz²⁾ 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 wässrigen Flüssigkeit vollständig getrennt hat. Nach vorsichtigem Öffnen des Glashahnes läßt man die untere, wässrige 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 Harn 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 Überschuß auf, so treten die reizenden Dämpfe von Jodaceton auf.

Beurteilung.

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

4. E. Riegler's 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 Harn 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. Lindemann⁵⁾ empfiehlt eine Probe in ähnlicher Ausführung. 10 ccm Harn werden nach dem Ansäuern mit 5 Tropfen etwa 30%iger Essigsäure mit 10 Tropfen Lugol'scher 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 Harn rot erscheint.

Beurteilung.

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

Otto Mayer⁶⁾ 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. Schwarz⁷⁾ lassen 5 ccm Harn mit etwa 1 ccm Lugol'scher 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 biol. 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. Ondrejovich¹⁾ 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 Harn behindert das Eintreten der Reaktion.

8. Ein von V. Arregino u. E. D. Garcia²⁾ angegebenes Verfahren beruht auf der von Pechmann und Duisberg aufgefundenen Bildung von Methylumdefferon 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 eingengte 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. Hurtley³⁾, G. Favrel.⁴⁾

Wahl der Methode.

Man verwende die unter 1 und 2 angeführten Verfahren; bei 2 auch die von Utz empfohlene Riegler'sche 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 verdünnten Lösungen ist sie haltbarer.

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

Von den beiden isomeren Oxypropionsäuren, der Äthyl- 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 Harn 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 Harn 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. I. 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.