Nicht zu verwenden bei Anwesenheit von essigsauren Salzen, von Eisen- und Tonerdesalzen.

Wird mit Säuren gelbrot, mit Alkalien violett-karminrot.

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

A. Die anorganischen Bestandteile des Harnes.

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 Natron als Kali zur Ausscheidung kommt. Ein Erwachsener scheidet in 24 Stunden im Durchschnitt 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. Je mehr Fleisch genossen wird, um so höher ist die Ausscheidung von Kali, der entgegengesetzte Fall tritt ein bei Brotnahrung. Zitronensaures und kohlensaures Kali steigert erheblich die Ausscheidung von Natron, kohlensaures und zitronensaures Natron aber nur in geringerer Menge die des Kalis. Muskeltätigkeit vermehrt die Ausscheidung von Kali. 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 Kali zugegen; ein nur kleiner Teil kommt als Chlorkalium zur Ausscheidung.

In pathologischen Fällen wird von Fiebernden mehr Kali wie Natron, von Rekonvaleszenten mehr Natron wie Kali ausgeschieden. Durch Medikamente kann durch Kaliumsalze die Kaliausscheidung, durch Natronsalze die Abscheidung von Natron gesteigert werden, im Falle diese abführend wirken. Im Hunger sinkt die Alkaliausscheidung und wird mehr Kali

wie Natron im Harne entleert, da die Kochsalzzufuhr fehlt, während andererseits die an Kaliumphosphat reichen Gewebe im Organismus immerwährend einem weiteren Zerfall anheimfallen.

Qualitativer Nachweis.

Natrium.

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

Kalium.

1. Man verdunstet 100—200 ccm Harn auf ca. 10—15 ccm und versetzt das Filtrat mit einer konzentrierten Weinsäurelösung im Überschuß; beim Stehen in der Kälte scheiden sich Kristalle von saurem weinsaurem Kali ab.
2. Kaliumsalze färben die Flamme violett, welche Farbe durch Natronsalze verdeckt und erst sichtbar wird, wenn man die gefärbte Flamme durch ein blaues Kobaltglas betrachtet, das die gelben Strahlen des Natriums nicht durchläßt.

Quantitative Bestimmung.

Von den vielen empfohlenen Methoden geben nur die im nachstehenden mitgeteilten genaue Resultate; nach diesen werden die Alkalien nach Abscheidung aller anderen Substanzen in Chloride verwandelt, diese gewogen und das Kali als Kaliumplatinchlorid bestimmt; nach Abzug des aus diesem berechneten Chlorkaliums von der Summe der Gesamtchloride erhält man die Menge des Chlornatriums; ferner kann man nach der indirekten Methode den Chlorgehalt der Gesamtchloride ermitteln und aus diesem und dem Gewichte der Chloride die Menge des Kali und Natron berechnen.

Ausführung.

1. Man dampft je nach Konzentration 20—100 ccm Harn in einer Platinschale unter Zusatz von 3—4 g Ammonsulfat zur Trockne ein und verascht den Rückstand. Wird die Asche nicht ganz weiß, so raucht man dieselbe 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 Chlorbaryum solange 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 Ammon der vorhandene Baryt ausgefällt, wieder filtriert und ausgewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet und zur Ent-

fernung der Ammonsalze 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 schwach geglüht und gewogen. — (Ich verfahre in der Weise, daß die mit Chlorbaryum und Barytwasser versetzte Lösung eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt und dann zur Entfernung des überschüssigen Barytes längere Zeit ein mäßiger Strom Kohlensäure eingeleitet wird; um das hierbei sich bildende doppeltkohlensaure Salz des Baryums in einfaches überzuführen, erhitzt man zum Kochen und filtriert. Das etwas konzentrierte Filtrat wird zur Entfernung noch gelöster Spuren von Baryumkarbonat mit Ammonkarbonat 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 soviel Platinchloridlösung hinzu, bis einer 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 aus, trocknet bei 100—110° 3 Stunden lang und wägt nach dem Erkalten im Exsikkator. Man kann aber auch den fast trockenen Verdampfungsrückstand von der Behandlung mit Platinchlorid mit 80% Alkohol übergossen einige Zeit stehen lassen, das unlösliche Kaliumplatinchlorid abfiltrieren und den Filterrückstand bezw. den Tiegelinhalt erst mit Alkohol, dann mit Äther auswaschen. Aus dem gefundenen Kaliumplatinchlorid berechnet man die entsprechende Menge Chlorkalium. Gefundenes $K_2PtCl_6 . 0{,}3071 = KCl$. Das gefundene Chlorkalium zieht man von der Gesamtmenge der Chloralkalien ab, der Rest ist Chlornatrium.

$$KCl \times 0{,}6320 = K_2O.$$
$$NaCl \times 0{,}5307 = Na_2O.$$

Der Zusatz von Ammonsulfat 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.

2. Nach der indirekten Methode zur Bestimmung von Kali und Natron 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. Hiervon 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 ccm $^1/_{10}$ Silberlösung = 0,003545 Cl.

Oder man bestimmt das Chlor in der Lösung der Chloride gewichtsanalytisch (S. 57).

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.

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 krist. Kobaltnitrat wird in 60 ccm Wasser gelöst, mit 100 ccm einer konzentrierten Natriumnitritlösung (entsprechend 50 g NO_2Na) gemischt und 10 ccm Eisessig zugegeben. Nach eingetretener Reaktion (Stickoxydgasentwickelung) läßt man über Nacht stehen und filtriert. Die Lösung läßt sich 3 Wochen mindestens verwahren (Erdmann).

2. 18% Überchlorsäure (E. Merck).

Ausführung.

Man versetzt 50 ccm des filtrierten Harnes (bei kaliarmen 100 ccm oder mehr) mit 6—10 ccm des Kobaltreagenses, schüttelt gut durch, läßt über Nacht absitzen und bringt den Niederschlag „Kobaltgelb“ auf ein nicht zu kleines aschefreies Filter, spült ihn mit 40—60 ccm kalten Wassers, das mit einigen Kubikzentimetern Kobaltreagens versetzt ist, aus und trocknet ihn 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

[1]) Zeitschr physiol. Chem. 1902. 37. 29.

zum Niederschlag; nun läßt man **tropfenweise** etwa 10 ccm einer 25 % Salzsäure zufließen und erhitzt das mit Uhrglas bedeckte Schälchen **gelinde** auf dem Wasserbade, um ein zu starkes Schäumen und Verspritzen zu verhindern. Die erhaltene blaue Lösung dampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, übergießt den Rückstand mit etwas Wasser, dann mit 10 ccm einer 18 % 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 % 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 Gewicht 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.

Wahl der Methode.

Sind sämtlich brauchbar und zu empfehlen.

2. Ammonium. Ammoniak. NH_3.

Im normalen Menschenharn ist immer Ammoniak enthalten (0,6—0,8 g, ja sogar bis 1,2 g in der 24stündigen Harnmenge), das durch Nahrungsmittel und Getränke, sowie Einatmen ammoniakhaltiger Luft dem Körper zugeführt wird. Fleischkost 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 Ammonsalze enthaltende Arzneien werden im Urin ausgeschieden.

Der größte Teil des Ammoniaks stammt aus dem Eiweißzerfall innerhalb des Organismus. Zufuhr von Säuren erhöht die Ausscheidung, Alkalien setzen diese herab.

Die Ammoniakausscheidung steht mit der Harnstoffbildung im engen Verhältnisse; wir finden deshalb bei pathologischen Verhältnissen, bei allen Leberkrankheiten eine im Vergleiche zur Stickstoffausscheidung vermehrte Ammoniakausscheidung. Auch bei akuten fieberhaften Krankheiten, bei Pneumonie, bei Infektionskrankheiten (Typhus), bei Diabetes findet Vermehrung des Ammoniaks statt, so daß eine Ammoniakbildung durch Behinderung der Harnstoffsynthese (bei Leberkrankheiten), nach Säureintoxikationen (bei Vergiftungen, Diabetes) und durch Bakterienzersetzung im Organismus zustande kommt. (F. Blumenthal.)

Qualitativer Nachweis.

1. Versetzt man eine Ammonsalze enthaltende Lösung mit Kalkmilch, so wird Ammonium aus seinen Verbindungen ausgeschieden und kann an folgenden Reaktionen und Eigenschaften erkannt werden. Man versetzt in einem Becherglas Harn mit Kalkmilch oder Kalilauge und bedeckt das Becherglas mit einem Uhrglas, an dessen unterer Seite sich ein feuchtes Kurkumapapier 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 Ammonsalzen gelbbraune Fällung.

Quantitative Bestimmung.

1. Nach Schloesing-Neubauer[1]) werden 10—25 ccm frischen filtrierten Harnes in einer flachen Kristallisierschale (von einem solchen Durchmesser, daß die Harnkalkwasserschicht möglichst dünn ist und 2 mm nicht übersteigt) mit 10 ccm Kalkmilch versetzt, auf die Schale ein Glasdreieck gelegt und auf dieses eine zweite mit 10—20 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure gefüllte Schale gebracht. Das Ganze stellt man auf eine mattgeschliffene Glasplatte, bedeckt mit einer gut schließenden, angefetteten Glasglocke

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

und titriert nach 3—4 tägigem Stehen bei ca. 18—20° C. die Schwefelsäure, die alles Ammoniak absorbiert hat, mit $^1/_{10}$ Normalkali unter Umrühren mit einem Glasstabe und unter Verwendung von Lackmus-, Cochenilletinktur oder Luteollösung (S. 39) zurück.

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

1 ccm $^1/_{10}$ Schwefelsäure = 0,001707 NH_3.

Beurteilung.

Bei sehr niederen Temperaturen (ca. 10°) gelingt es nicht, alles Ammoniak zu erhalten. Die Methode ist einfach in ihrer Ausführung, gibt auch genügend brauchbare, nicht jedesmal aber ganz zuverlässige Resultate; auch nimmt sie längere Zeit in Anspruch.

2. Nach Folin.[1])

Prinzip.

Der das Ammoniak enthaltenden Flüssigkeit wird ein schwaches Alkali, Natriumkarbonat 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; auch hat derselbe eine Methode, nach welcher das freigemachte Ammoniak im Vakuum abdestilliert wird, angegeben, welches Verfahren auch von Wurster,[3]) Nencki und Zaleski,[4]) Söldner[5]) zur Anwendung vorgeschlagen wurde.

Ausführung.

25 ccm Harn werden in einem Aräometerzylinder von etwa 45 cm Höhe und 5 cm Durchmesser abgemessen (der Zylinder kann auch kleiner sein), sodann werden 8—10 g Natriumchlorid, 5—10 ccm Petroleum oder Toluol zur Verhinderung des Schäumens und zuletzt etwa 1 g getrocknetes Natriumkarbonat dem Harne zugesetzt. Ein starker Luftstrom mit einem Wasserstrahlgebläse wird nun durch den Harn geleitet, bis alles Ammoniak ausgetrieben ist, was bei 20—25° C. unter Anwendung von 600—700 Litern 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 $^1/_{10}$ Säure (je

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **37.** 161.
[2]) Memoir. d. chim. agricol. 291; Journ. prakt. Chem. 1850. **51.** 281.
[3]) Centralbl. Physiol. 1887. 485; Berl. Ber. 1889. 1903.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **33.** 237.
[5]) Zeitschr. Biolog. **38.** 237.

20—40 ccm) und Wasser enthaltende Vorlagen geleitet. Der Ammoniakgehalt des Harnes wird erhalten durch Zurücktitrieren der in der Vorlage enthaltenen Zehntelnormalsäure unter Anwendung eines geeigneten Indikators. Folin verwendet 2 Tropfen 1% Alizarinrotlösung und titriert bis zur Rotfärbung, nicht zur Violettrotfärbung.

Beurteilung.

Shaffer erhielt sehr gute Resultate; auch ich kann nach den Ergebnissen einiger Versuche die Methode als recht brauchbar empfehlen.

Ich habe, da besondere Angaben über die Zusammenstellung der Apparate nicht erwähnt sind, folgendermaßen verfahren.

Der Zylinder wurde mit doppeltdurchbohrtem 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 + Wasser enthaltenden Erlenmeyerkölbchen verbunden, die mit doppeltdurchbohrtem Kautschukstopfen und zwei rechtwinklig gebogenen Röhren 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 Erlenmeyer können zwei Peligotsche Röhren auch Verwendung finden, die ersteren haben den Vorzug, daß man darin direkt die Titration vornehmen kann.

Verfügt man nur über eine Saugpumpe, so fügt man an die zweite Vorlage noch eine leere Saugflasche (wegen möglicherweise stattfindenden Zurücksteigens von Wasser) und saugt nun (Leitung ganz öffnen!) Luft durch den ganzen luftdicht verbundenen Apparat.

Es werden übrigens Wasserstrahlsaugpumpen konstruiert, die ein Zurücksteigen von Wasser verhindern.

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

Wahl der Methode.

Das Schloesingsche Verfahren ist einfach, leicht ausführbar, doch zeitraubend; das Folinsche ist in einem wohleingerichteten Laboratorium schnell erledigt.

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 die Temperatur, sowie 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 führt dieses zur Bildung der Harnkonkremente, Harnsteine.

Die in 24 Stunden ausgeschiedene Gesamtmenge der Erdphosphate beträgt ca. 1,2 g, die des phosphorsauren Kalkes allein 0,31—0,37, die der phosphorsauren Magnesia im Durchschnitt 0,64.

Die Größe der Kalk- und Magnesiaausscheidung hängt vom Körpergewicht, vom Kalkgehalte der Nahrung und der Verdauungskraft des Darmes ab. Vermehrte Ausscheidung der Kalksalze ist beobachtet 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 Harn erhaltenen Niederschlag (phosphorsauren Kalk und phosphorsaure Ammoniakmagnesia) in Essigsäure, setzt etwas Chlorammonium und dann eine Lösung von oxalsaurem Ammon hinzu; es wird oxalsaurer Kalk ausgefällt; im Filtrat 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 gibt man in ein Becherglas, versetzt mit Ammoniak und löst den hierdurch ausgeschiedenen Niederschlag wieder in wenig Essigsäure; nun gibt man oxalsaures Ammon hinzu und filtriert den nach 10—12stündigem Stehen an einem warmen Platze abgesetzten Niederschlag von oxalsaurem Kalk ab, indem man den Rückstand erst mit warmem Wasser durch Dekantieren auswäscht und dann aufs Filter bringt. Das Filtrat dient zur Magnesiabestimmung. Das getrocknete Filter mit Niederschlag wird im Platintiegel verascht, der Platintiegel auf dem Gebläse $^1/_4$ Stunde geglüht und nach dem Erkalten gewogen.

Rückstand = Calciumoxyd, CaO.

1 g CaO = 1,845 g $Ca_3(PO_4)_2$ = 3,07 $CaHPO_4 + 2H_2O$
= 4,5 $CaH_4(PO_4)_2 + H_2O$

b) Der Magnesia.

Zum Filtrat von der Kalkbestimmung gibt man circa $^1/_3$ Volumen 10 % Ammoniak, läßt 12 Stunden stehen und sammelt die nach dieser Zeit abgeschiedene phosphorsaure Ammoniak-Magnesia auf einem Filter, wäscht mit ammoniakhaltigem Wasser ($^2/_3$ Wasser, $^1/_3$ 10 % Ammoniak) aus und trocknet. Vom getrockneten Filter entfernt man den Niederschlag, bringt ihn in einen Platintiegel, verascht das Filter in der Platinspirale, bringt die Filterasche zum Niederschlag und glüht über einer gewöhnlichen Flamme, zuletzt einige Minuten auf dem Gebläse. Der Platintiegel mit Inhalt wird nach dem Erkalten gewogen; der Inhalt ist pyrophosphorsaure Magnesia ($Mg_2P_2O_7$).

$$Mg_2P_2O_7 \cdot 0{,}3624 = MgO.$$

Stark eiweißhaltiger Harn muß vorher verascht werden. Man nimmt die Asche mit heißer Salzsäure auf, verdünnt mit Wasser, versetzt mit Ammoniak und nimmt in der Lösung die Bestimmung des Kalkes und der Magnesia, wie angegeben, vor.

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

Der Kalk wird, wie angegeben, ausgefällt und geglüht. Den Tiegelinhalt — CaO — (oder wenn er nur über der Flamme geglüht wurde $CaCO_3$ + CaO) 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 Phenolphtalein oder Lackmus als Indikator mit $^1/_{10}$ Normalkalilauge den Überschuß an Säure zurück. Die verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$ Normallauge werden von den zugegebenen 20 ccm Säure abgezogen und der Rest auf Kalk (CaO) berechnet.

1 ccm $^1/_{10}$ Säure = 0,0028 g 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 nach der S. 70 angegebenen Methode bestimmt.

Gefundene Phosphorsäure · 0,5676 = MgO.

Man kann den Niederschlag der phosphorsauren Ammoniakmagnesia auch mit $^1/_{10}$ Säure titrieren; zu diesem Zwecke muß aber aus dem Niederschlag das vom Auswaschen mit verdünntem Ammoniak noch vorhandene Ammoniak entfernt werden, was man durch Auswaschen des Niederschlages mit Alkohol erreicht. Man gibt dann 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 = 0,002018 MgO.

Wahl der Methode.

Wenn nicht eine Wage fehlt zum Abwiegen der Platintiegel, dann wird man sich der quantitativen Bestimmung, die sehr schnell erledigt ist, bedienen.

4. Eisen. Fe.

Der Eisengehalt ist im normalen Harn ein geringer und schwankt in der 24stündigen Harnmenge von 0,005—0,015 g. Das Eisen ist organisch gebunden (eisenhaltige Farbstoffe). Im allgemeinen ist der Nachtharn reicher an Eisen als der Tagesharn. In an Eiweiß reichem Harne, bei Diabetes mellitus und perniciöser 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 — blutrote Färbung;
2. den anderen Teil versetzt man nach dem Kochen mit 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.

1. Man bestimmt das Eisen am sichersten titrimetrisch in der Harnasche unter Anwendung der von A. Jolles[1]) angegebenen, sehr zweckdienlichen Verbesserungen.

200—500 ccm Harn werden in einer Platin- oder Porzellanschale (die ersteren werden stark angegriffen) eingedampft, im Luftbade bei ca. 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 dann 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

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

Filter. Nach dem Auswaschen wird das Filter mit Rückstand in die Platinschale gegeben, dieser 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. Hierbei wird eine bedeutende Menge von Harnsalzen, darunter auch die bei der Titration mit Kaliumpermanganat störend wirkenden Chloride, entfernt. Der Filterrückstand samt Filter wird in einen Platintiegel oder Platinschale gebracht, verascht und der Tiegelinhalt mit reinem wasserfreiem saurem schwefelsaurem Kali geschmolzen; man läßt den Tiegel oder Schale erkalten, bringt diese in ein Gefäß (Becherglas) mit heißem Wasser, um die Lösung der Masse zu erzielen, nimmt dann Tiegel oder Schale heraus, spült ab und gibt die Lösung in das mit dem Bunsenschen Ventil (Fig. 19) 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 dann mit Kaliumpermanganat, wie bei der Titerstellung angegeben, titriert.



Fig. 19.

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 handelt, 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 Bunsenschen Ventilkölbchen und Titrieren der Lösung mit Permanganat) fest und verwendet zur Reduktion der Harnaschelösung bestimmte Mengen (2 g) Zink; den dieser Zinkmenge entsprechenden Eisengehalt bringt man, wie erwähnt, von dem gefundenen Eisengehalt in Abzug.

Titerstellung der Kaliumpermanganatlösung.

Die Kaliumpermanganatlösung muß vorher mit metallischem Eisen eingestellt werden.

0,03—0,05 g feinster, nicht rostiger, eventuell erst noch mit Glaspapier abgeriebener Klavierdraht wird in dem Bunsenschen Ventilkölbchen in der Wärme in verdünnter Schwefelsäure gelöst; die Lösung wird in ein mindestens 1000 ccm fassendes Becherglas gegeben, das Kölbchen mit warmem Wasser ausgespült, 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 Klavierdraht erforderten 28,25 ccm Permanganat;
1 ccm der Lösung = 0,0017 g Fe.

Für den Versuch sind verbraucht 5 ccm Permanganat; diese entsprächen 0,0085 g Eisen; in Abzug zu bringen wäre noch der für die 2 g Zink allein ermittelte Eisengehalt.

Beurteilung.

Die Eisenbestimmung in der angegebenen Form gibt von allen den verschiedenen empfohlenen Methoden die sichersten Resultate; dieselbe ist auch einfach in ihrer Ausführung.

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

Prinzip.

Das Eisen wird aus salzsaurer Lösung durch eine konzentrierte Nitroso-β-Napthollösung in 50—52% Essigsäure als Ferrinitrosonaphtol $C_{10}H_6NO.O$
$C_{10}H_6NO.O$—Fe abgeschieden. (G. v. Knorre.[1])
$C_{10}H_6NO.O$

A. Jolles[2]) wendet diese Bestimmung für die Harnanalyse an.

Erforderliche Lösungen.

1. Nitroso-β-Naphtol.

1,2 g Nitroso-β-Naphtol kristalisiert (das nicht kristallisierte grüne Pulver ist unbrauchbar), werden in 100 ccm 50% Essigsäure unter Erwärmen auf ca, 90° C. gelöst. Von einem eventuell auftretenden minimalen Rückstande wird abfiltriert.

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 eventuell nochmals filtrierten Lösung wird dann in der Kälte das Nitroso-β-Naphtol so lange zugesetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Bei Veraschung von 500 ccm Harn,

[1]) Berl. Berichte **20.** 283.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1897. **36.** 149; Pharm. Post 1897. **30.** 59.

welche ca. 2—5 mg Eisen enthalten, sind 5—10 ccm Reagens erforderlich. Nach erfolgter Fällung rührt man mit einem Glasstabe um, läßt 5 Minuten absitzen, bringt den Niederschlag auf ein mit 50% Essigsäure befeuchtetes Filter, wäscht mit 50% Essigsäure noch 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 bleibt von dieser etwas im Filter hängen und ist selbst nach langem Auswaschen mit heißem Wasser nicht immer daraus zu entfernen.

5. 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 abgeschieden.

Unter normalen Verhältnissen ist die Ausscheidung des Kochsalzes abhängig von der mit den Speisen eingeführten Menge; so ist auch die Ausscheidung der Chloride am stärksten nach Mahlzeiten, am geringsten in der Nacht; sie wird vermehrt durch körperliche Bewegung, vermindert durch Ruhe.

Die vom gesunden Menschen abgeschiedene Kochsalzmenge beträgt zwischen 10—15 g, nach Heger bis 17,5 g.

In pathologischen Verhältnissen wird eine Verminderung — und zwar zum Teil eine sehr beträchtliche — der Ausscheidung der Chloride herbeigeführt bei allen akuten fieberhaften Krankheiten, besonders bei 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 und bei der Entstehung seröser Transsudate in der Körperhöhle, weil hier Kochsalz im Blut, in den Geweben und im Transsudate zurückgehalten wird, dann auch bei starken Wasserverlusten des Körpers nach starkem Schweiß, heftigem Erbrechen. Eine Vermehrung der Chloride findet sich bei der Aufsaugung größerer Exsudate.

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

Qualitativer Nachweis.

Wird in einem Reagensglase ein mit Salpetersäure angesäuerter Harn mit Silbernitrat versetzt, so entsteht bei reichlichem Chlorgehalte ein käsiger, starker Niederschlag von Chlorsilber; bei geringen Chlormengen erhält man nur eine weiße Trübung.

Eiweißhaltiger Harn ist vorher von dem Eiweiß zu befreien, auch dürfen Jod und Brom nicht vorhanden sein. **(Trennung S. 57.)**

Quantitative Bestimmung des Chlors.

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

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

1. Verfahren nach Volhard.

Prinzip der Methode.

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

$$AgNO_3 + NH_4CNS = AgCN.S_{-} + NH_4NO_3.$$

Gleichzeitig tritt stets blutrote Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid ein.

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6NH_4CNS = Ee_2(CNS)_6 + 3(NH_4)_2SO_4.$$

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1881. 5. 81.
[2]) Ebenda. 1881. 5. 290.
[3]) Journ. prakt. Chem. 1874. [2] 9. 217.
[4]) Berl. Ber. 8. 12.

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

$$Fe_2(CNS)_6 + 6\,AgNO_3 = Fe_2(NO_3)_6 + 6\,AgCNS.$$

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

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{10}$ Silberlösung. Man löst 16,997 g Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser und füllt genau bis zur Marke auf. (Man kann auch 10,793 g reines metallisches Silber in Salpetersäure von 1,2 spez. 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. Eisenoxydammoniakalaun. Kalt gesättigte Lösung.

4. $^1/_{10}$ Rhodanammoniumlösung. Man löst ca. 8 g Rhodanammonium in einem Liter Wasser und ermittelt den wahren Gehalt dieser Lösung mittels 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 soviel Salpetersäure hinzu, daß die Farbe des Eisensalzes verschwindet und läßt nun unter Umschütteln oder Umrühren die Rhodanlösung zufließen, bis bleibend schwachrötliche Färbung eintritt.

Gesetzt man habe hierbei 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. 27) sein muß, werden 10 ccm in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen abpipettiert und ca. 3—4 ccm einer 30 % reinen chlor- und salpetrigesäurefreien Salpetersäure hinzugegeben. Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmäßig, 3—4 Tropfen einer konz. Kaliumpermanganatlösung (1 : 30) zuzusetzen. Nach mehrmaligem Umschwenken ist die Farbe in weingelb übergegangen. Nun läßt man aus einer Bürette oder Pipette 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 überschüssig zugesetzte Silber zurück, bis Rotfärbung entsteht.

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

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

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 · 0,00585 = 0,10237 Chlornatrium in 10 ccm oder 1,0237 in 100 ccm.

2. Die Bestimmung des Chlorgehaltes kann auch in der Asche des mit Soda und Salpeter eingedampften Harnes ausgeführt werden.

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 chromsaures Silber ausgeschieden, erkenntlich an der roten Farbe.

Ausführung:

10 ccm Harn werden mit 2 Teilen Salpeter und 1 Teil Soda 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.

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

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

1 ccm 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.

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

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% Lösung) im Überschuß 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. 0,24725 = 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.

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 Gehalt an Jod und Brom die gewöhnlichen Methoden zum Nachweise (siehe zufällige Bestandteile) versagen können, wenn man den Harn direkt verwendet.

Man verascht den Harn — selbstverständlich größere Mengen — in der oben angegebenen Weise. Zu der wässerigen, in einem Scheidetrichter befindlichen filtrierten Lösung der Schmelze fügt man 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 mit 10—20 ccm rektifiziertem Schwefelkohlenstoff tüchtig durch. Den gefärbten Schwefelkohlenstoff läßt man in einen Erlenmeyerkolben abfließen und behandelt den Inhalt im Scheidetrichter nochmals mit Schwefelkohlenstoff.

Man gibt auch diese Schwefelkohlenstoffmenge zu der ersten.

Der violett gefärbte Schwefelkohlenstoff wird mit Wasser durch kräftiges Schütteln ausgewaschen und das Wasser vorsichtig durch ein kleines angenäßtes Filter abfiltriert; allenfalls auf das Filter gelangte Schwefelkohlenstofftröpfchen spült man in den Erlenmeyer zurück, gibt 25 ccm einer 0,5% Lösung von Natriumbikarbonat hinzu und titriert das Jod mit unterschwefligsaurem Natron (man verwendet hier zweckmäßig $^1/_{100}$ Thiosulfatlösung) bis zur Entfärbung des Schwefelkohlenstoffes.

1 ccm $^1/_{100}$ Thiosulfatlösung = 0,0012685 Jod.

Aus der vom jodhaltigen Schwefelkohlenstoff getrennten Flüssigkeit, einschließlich des Waschwassers vom Schwefelkohlenstoff — eventuell verwendet man einen abgemessenen Teil der zu einem bestimmten Volumen aufgefüllten Flüssigkeit — fällt man vorhandenes Brom und Chlor in Form ihrer Silberverbindung und bestimmt AgCl und AgBr gewichtsanalytisch in der S. 57 angegebenen Weise.

Um Brom **neben** Chlor zu bestimmen, glüht man einen genau abgewogenen Teil von diesem geglühten Chlor- und Bromsilber gelinde im Chlorstrom und bestimmt das Brom durch die Gewichtsabnahme; aus der auf die ganze Menge AgCl und AgBr 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.

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.

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.

Zu der letzten Gruppe gehören die unterschweflige Säure, die Rhodanwasserstoffsäure und der Gallenschwefel (Abkömmlinge des Taurins und Cystins). (Durch die Auffindung der Oxyproteinsäure und Alloxyproteinsäure (s. d.) dürfte die Natur des sog. neutralen Schwefels, des Gallenschwefels, vollkommen aufgeklärt sein). 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 eine geringe und treffen von der Gesamtmenge des Schwefels ca. 15 % auf diese Gruppe. Durch Behinderung des Gallenabflusses bei Carcinom, bei Gallensteinkolik, bei chronischem Ikterus kann die Menge des neutralen Schwefels etwas vermehrt 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, Indoxyl, Brenzkatechin, als Ätherschwefelsäure (gebundene, gepaarte, abspaltbare Schwefelsäure). Die Gesamtmenge der Schwefelsäure beträgt in der 24stündigen Harnmenge des Erwachsenen 1,5 bis 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.

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 ($N : H_2SO_4 = 5 : 1$).

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.

Was die Größe der Ausscheidung der Sulfate betrifft, so sinkt diese bei geringer Nahrungszufuhr.

Die gepaarten Schwefelsäuren, die Ätherschwefelsäuren, werden vermehrt durch Einführung von Phenol, Kresol, Resorcin, nach Phosphorvergiftungen u. s w., außerdem bei vermehrter Eiweißfäulnis im Darm, 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 hierbei 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.

Qualitativer Nachweis.

Chlorbaryum verursacht in dem mit Salzsäure angesäuerten Harne eine weiße Fällung von Baryumsulfat.

Quantitative Bestimmung.

I. Bestimmung der Gesamtschwefelsäure.

1. Gewichtsanalytische.

Bei der Analyse muß die in zwei Formen im Harne erscheinende Schwefelsäure berücksichtigt werden. Die Bestimmung und Trennung der beiden Schwefelsäuren nach der Methode Baumann[1]) beruht darauf, daß die in Form der schwefelsauren Salze vorhandene Schwefelsäure durch Chlorbaryum nach dem Ansäuern mit Essigsäure in mäßiger Wärme gefällt wird, während die in Gestalt der Ätherschwefelsäure vorhandene Schwefelsäure (gepaarte Schwefelsäure) erst nach dem Kochen mit Mineralsäuren abgespalten und durch Baryumchlorid ausgefällt wird.

a) Sulfate.

50—100 ccm des filtrierten Harnes werden nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser mit Essigsäure angesäuert, mit Chlorbaryumlösung im Überschuß versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt, bis sich der Niederschlag klar abgesetzt hat, was nach $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden erreicht ist. Der Niederschlag wird auf einem aschefreien Filter gesammelt, mit heißem Wasser gut gewaschen, bis das Filtrat chlorfrei ist, und das Filter im Platintiegel verascht und geglüht.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1. 70.

Da das ausgefällte Baryumsulfat durch organische Substanzen verunreinigt sein kann, so ist der geglühte schwefelsaure Baryt möglicherweise teilweise reduziert worden; man befeuchtet den Tiegelrückstand mit verdünnter Schwefelsäure, verdunstet vorsichtig, glüht abermals und wiegt dann.

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

Menge der in Gestalt von schwefelsauren Salzen im Harne vorhandenen Schwefelsäure im Mittel 2,2—2,25 % SO_3.

b) Gepaarte Schwefelsäure.

Das Filtrat von obiger Bestimmung wird zur Ermittelung derjenigen Schwefelsäuremenge, die in Gestalt von Ätherschwefelsäuren vorhanden ist, mit ca. 10 % Salzsäure stark angesäuert, 10 Minuten lang zum Kochen erhitzt, wodurch Spaltung der gepaarten Schwefelsäure eintritt und sich nochmals Baryumsulfat abscheidet. Man prüft durch Zusatz von Baryumchlorid, ob alle Schwefelsäure gefällt ist. Man läßt den Niederschlag absitzen und behandelt ihn, wie angegeben.

Die aus beiden Bestimmungen ermittelten Schwefelsäuremengen addiert geben die Gesamtschwefelsäure, die auch im Harne direkt nach dem Ansäuern mit Salzsäure in der Hitze durch Ausfällen mit Chlorbaryum erhalten werden kann. Der Niederschlag wird, wie oben angegeben, gesammelt und behandelt.

Beurteilung.

Diese Methode hat ihre Schattenseite insofern, als sich der schwefelsaure Baryt, aus der essigsauren Lösung abgeschieden, oft recht schwer filtrieren läßt; auch ist das Baryumsulfat hier stets mit Baryumphosphat verunreinigt und müßte erst mit Salzsäure gereinigt werden. Ich empfehle deshalb die folgende Methode, bei welcher die Gesamtschwefelsäure (also präformierte und Ätherschwefelsäure) bestimmt wird. Zieht man von dieser Summe die der gepaarten Schwefelsäure, deren Abscheidung in etwas anderer Form ebenfalls im folgenden angegeben ist, ab, so bleibt als Rest die präformierte Schwefelsäure.

Ausführung.

25—50 ccm klarer oder vorher filtrierter Harn wird in einem Becherglas mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt, mit 10—15 ccm Salzsäure versetzt, zum Kochen erhitzt und ca. 10 Minuten im schwachen Kochen erhalten, um die gepaarten Schwefelsäuren zu spalten. Man gibt dann vorher erhitzte Baryumchloridlösung hinzu, und zwar in geringem Überschuß, und läßt das Becherglas noch einige Stunden auf einem Sandbade oder in einem warmen Wasserbade und am zweckmäßigsten in der Kälte über Nacht stehen. Die Flüssigkeit wird durch ein aschefreies gehärtetes Filter abfiltriert, der

noch zurückgelassene Niederschlag mit heißem Wasser gewaschen, wieder absitzen lassen, die Flüssigkeit abfiltriert und endlich der Niederschlag selbst aufs Filter gebracht und chlorfrei gewaschen. Der Filterrückstand wird mit warmem Alkohol und mit Äther gewaschen und dann in der bekannten, oben angegebenen Weise im Platintiegel verascht, geglüht und schließlich gewogen.

Mit der gleichen Menge Harn verfährt man, wie bei 1a angegeben, nur gibt man nach dem Digerieren den Becherglasinhalt (mit Niederschlag) in einen Meßzylinder und füllt zu einem bestimmten Volumen auf. Man läßt absitzen, filtriert und nimmt vom Filtrate ein abgemessenes Volumen zur Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure, die man nach 1b bestimmt. Die gefundene und unter Berücksichtigung des verwendeten Harnvolumens berechnete Menge Schwefelsäure von der Gesamtmenge abgezogen, ergibt als Rest die der präformierten Schwefelsäure.

2. Bestimmung der Gesamtschwefelsäure durch Titrieren.

Man setzt zu einer abgemessenen Menge Harn, der mit Salzsäure stark angesäuert und erhitzt ist, soviel von einer Chlorbaryumlösung von bekanntem Gehalt, bis einige Tropfen der über dem Niederschlage stehenden Flüssigkeit durch die Chlorbaryumlösung ebenso stark getrübt werden, wie durch eine der Chlorbaryumlösung äquivalente Lösung von schwefelsaurem Kali.

Erforderliche Lösungen.

1. Man löst 30,5 g lufttrockenes reines Chlorbaryum im Liter Wasser; 1 ccm = 0,01 SO_3;
2. Man löst 21,778 g reines bei 100° getrocknetes schwefelsaures Kali im Liter Wasser; diese Lösung muß der von 1 äquivalent sein.

Zur Ausführung der Bestimmung mißt man 50—100 ccm Harn in ein Becherglas, setzt 5—10 ccm Salzsäure hinzu und erhitzt $^1/_4$ Stunde zum Kochen. Man gibt von der in einer Bürette befindlichen Chlorbaryumlösung so lange zu (1 ccm nach dem anderen), bis man keine deutliche Ausscheidung von schwefelsaurem Baryt mehr beobachtet. Von der klaren Flüssigkeit nimmt man mit einem Glasstabe einen Tropfen heraus und prüft mit Chlorbaryumlösung. Entsteht noch eine stärkere Fällung, so setzt man aus der Bürette noch zuletzt 0,1 ccm Chlorbaryumlösung zu, bis in der Flüssigkeit erst nach einigen Sekunden ein Niederschlag entsteht; gibt eine weitere Probe des herausgenommenen Tropfens auch mit der Kaliumsulfatlösung nach einigen Sekunden eine schwache Trübung, so ist die Titrierung beendigt. Einen größeren Zusatz von Chlorbaryumlösung kann man durch die Kaliumsulfatlösung zurücktitrieren; bei der Berechnung müssen die von letzterer Lösung gebrauchten Kubikzentimeter von denen der Chlorbaryumlösung in Abzug gebracht werden.

Eine Bestimmung der Sulfat- und der Ätherschwefelsäure nach der Titriermethode kann unter Befolgung der bei der quantitativen Bestimmung angegebenen Trennungsweise (Essigsäure — Salzsäure) auch vorgenommen werden.

Wahl der Methode.

Die quantitative gewichtsanalytische Bestimmung ist selbstverständlich als die viel sichere und genauere vorzuziehen.

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

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

50 ccm (von Cystinharn nur 25 ccm) Harn werden mit 10—20 g einer Mischung aus Salpeter und Soda (4 : 1) in einer Platinschale eingedampft und verascht. Die Asche wird in Wasser gelöst, die Lösung in eine Porzellanschale gebracht und mit Salzsäure eingedampft. Dieses Abdampfen des Rückstandes mit konzentrierter 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 Baryumchloridlösung u. s. w.

Zieht man die nach I1 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.

Man kann den neutralen Schwefel auch im Filtrate von der Bestimmung der Gesamtschwefelsäure bestimmen. Man dampft dieses 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, nach dem Erkalten vorsichtig nach und nach mit 10—15 ccm konzentrierter Salpetersäure versetzt und ca. 1 Stunde stehen gelassen, worauf man im Wasserbade die Salpetersäure verjagt. Man muß ebenfalls einige Male mit konzentrierter Salzsäure abrauchen. Die weitere Bestimmung geschieht, wie geschildert. (Methode nach Mohr.[1])

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

8. Unterschweflige Säure. $H_2S_2O_3$.

Diese ist einmal im Menschenharne bei Typhus von v. Strümpell und in einem Falle bei Cystinurie neuerdings von 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 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 Salkowski[1]) wird Harn mit 0,1 Volumen Salzsäure (1,12 spez. Gew.) destilliert; es tritt beim Vorhandensein dieser Säure der freigewordene Schwefel in Form eines fingerbreiten Beschlages — bei Spuren nur als ein bläulichweißer Hauch — am oberen Teile des Kühlrohres auf. Im Destillat ist schweflige Säure, die man in verdünnter Jodlösung (Jod in Jodkalium) auffangen und zu Schwefelsäure oxydieren kann, vorhanden. Erhitzt man nach Zusatz von etwas Salzsäure das Destillat zur Verflüchtigung des Jods und gibt etwas Baryumchlorid zu, so entsteht eine Fällung von Baryumsulfat.

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 sind nach Gscheidlen und Munk 0,035—0,11 g Sulfocyankalium vorhanden.

Nachweis.

1. Nach Munk[2]) wird der mit Salpetersäure angesäuerte Harn mit salpetersaurem Silber ausgefällt; der abfiltrierte Niederschlag wird in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Flüssigkeit destilliert.

[1]) Pflügers Archiv 1886. **39.** 213. 221.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1876. 46.

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 Harn 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 (Unterschied von essig- und ameisensaurem Eisenoxyd).

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

Eine quantitative Bestimmung könnte kolorimetrisch durch Vergleich mit einer Probe von bestimmtem Gehalte an Rhodankalium mit der Eisenchloridreaktion 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 Rhodanwasserstoffsäure.

10. ***Schwefelwasserstoff.*** H_2S.

Gewöhnlich tritt der Schwefelwasserstoff nicht ins Blut ein; wenn aber dieser bei der Fäulnis von Eiweiß im Dünndarm entsteht, dann ist die Möglichkeit eines Überganges in den Blutstrom und somit in den Harn gegeben. Es besteht in solchen Fällen gewöhnlich Cystitis und der Harn ist trüb; ist er klar, so kann fertig gebildetes Gas aus dem mit stagnierendem Kot erfüllten Darme u. s. w. in den Harn gelangt sein (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 zerlegen, zu suchen.

Meistens hat sich Schwefelwasserstoff erst nach der Entleerung des Harnes durch Gärung oder Fäulnis aus Eiweißstoffen oder anderen Schwefelverbindungen entwickelt. Man

muß deshalb bei der Prüfung des Harnes auf Schwefelwasserstoff sich versichern, daß der Harn vollkommen frisch ist und nicht vielleicht erst längere Zeit gestanden hat.

Nachweis.

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

   Man gießt Harn in einen Kolben und verschließt diesen mit einem Kork, in dessen unterem Ende ein mit Bleiessig und verdünntem Ammoniak getränktes Stückchen Filtrierpapier eingeklemmt ist. Das Papier wird bei Anwesenheit von H_2S gebräunt oder geschwärzt, zumal wenn man den Kolben mit Inhalt auf einem Wasserbade bis 50° erwärmt.

2. 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 Kork, 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 Kork vom kurzen Rohr wird mit einer mit verdünnter Natronlauge beschickten Waschflasche verbunden, ebenso der andere Schenkel. Man saugt dann ca. 1 Stunde lang mittels der Saugpumpe Luft durch den Kolben, der auf einem Wasserbade auf ca. 50° erwärmt wird. In der ersten Flasche wird die Luft gewaschen, die aus dem Kolben den H_2S 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 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. 0,1124 = H_2S.

11. Phosphorsäure. H_3PO_4 (P_2O_5 Anhydrit).

Die Phosphorsäure findet sich im Harn 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 ca. 60% der Gesamtphosphorsäure als zweifach saures und ca. 40% als einfach saures Salz vor. In sehr geringer Menge kann die Phosphorsäure als Glyzerinphosphorsäure und in Verbindung mit Neurin als Lecithin in den Harn übergehen. Eine phosphorhaltige andere Substanz, Phosphorfleischsäure genannt, isolierte C. W. Rockwood.

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 Substanzen, Lecithin, Nuclein, welche gleichfalls Bestandteile der Nahrung sind.

Die durchschnittliche Menge der im Tag mit dem Harn entleerten Phosphorsäure eines Erwachsenen beträgt 1—8 g, im Mittel 3,5 g P_2O_5 und sind hiervon $^2/_3$ an Alkalien, $^1/_3$ an Erdalkalien gebunden.

Die Ausscheidungsmenge der Phosphorsäure ist abhängig von der absoluten Menge der in der Nahrung zugeführten Phosphorsäure (durch Hunger fällt die Phosphorsäure stark), 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, Rhachitis, Gicht, chronischem Rheumatismus. Erhöht kann der Phosphorsäuregehalt im Harne sein bei Diabetes mellitus, bei Meningitis, Oxalurie. Reichlich 12—30 g ist die Ausscheidung bei Phosphaturie,

worunter man die Ausscheidung eines durch nicht gelöste Phosphate getrübten Harnes versteht; der anfangs klare Harn kann sich erst nach einigem Stehen trüben. Die Reaktion eines solchen Harnes ist häufig alkalisch oder nur wenig sauer oder neutral. Das Sediment besteht größtenteils aus Erdphosphaten (Tripelphosphat). Die Entstehung wird teils auf den ungenügenden Säuregehalt des Blutes, teils auf eine Sekretionsneurose der Niere zurückgeführt. Das Auftreten der Phosphaturie, die als keine selbständige pathologische Krankheitsform aufzufassen sein soll, ist von nervösen Symptomen begleitet. Bemerkenswert ist die infolge von periodischer oder dauernder hypersthenischer Dyspepsie hervorgerufene Ausscheidung eines milchigen, Erdphosphate enthaltenden Harnes; hier findet sich nur der an Erden gebundene Gehalt an Phosphorsäure beträchtlich vermehrt; im Sediment finden sich häufig weiße Blutkörperchen, im Harn Eiweiß, veranlaßt durch Entzündungen in den Harnwegen infolge des abgesetzten Dicalciumphosphates. (Erdphosphaturie, A. Rosen.[1])

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 im Harnwasser wird durch gewisse Salze (primäres Alkaliphosphat, Chlornatrium) erhöht und durch die sauren Salze werden sie im Harn in Lösung gehalten.

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

Diese Abscheidungen sind nicht selten gefärbt (rot bei Blutfarbstoff, braun bei Gallenfarbstoffen u. s. w.).

[1]) Bull. gén. de Thérapeut. 1900. **140.** 915.

Qualitativer Nachweis.

Phosphorsäure wird gefällt:

1. durch Silbernitrat aus neutraler Lösung als gelber in Säuren und Ammoniak löslicher Niederschlag;
2. durch Chlorcalcium oder Chlorbaryum und Ammoniak als weißer flockiger in Ammoniak unlöslicher, in Essigsäure und Mineralsäuren löslicher Niederschlag;
3. durch Magnesiamixtur als phosphorsaure Ammoniakmagnesia;
4. durch Uransalze in essigsaurer Lösung (S. 70);
5. durch eine salpetersaure Lösung von Ammonmolybdat.

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 mittels der Molybdänmethode gewichtsanalytisch vorgenommen werden.

Erforderliche Lösungen:

1. Molybdänlösung. 100 g molybdänsaures Ammon werden mit Wasser zu 1 Liter Flüssigkeit gelöst und diese Lösung unter Umrühren in 1 Liter Salpetersäure von 1,2 spez. Gewicht gegossen.
2. Konzentrierte Ammonnitratlösung. 750 g Ammonnitrat im Liter.
3. Verdünnte Ammonnitratlösung. 150 g Ammonnitrat im Liter.
4. Magnesiamixtur. 55 g krystallisiertes Chlormagnesium, 70 g Chlorammonium werden im Liter $2^1/_2$ % Ammonflüssigkeit (oder 750 ccm Wasser und 250 ccm 10 % Ammoniak) gelöst.
5. Ammoniakflüssigkeit. $2^1/_2$ % oder 1 Teil 10 % Ammoniak + 3 Teile Wasser.

Ausführung im Harn.

20 ccm Harn werden in einer Platinschale mit ca. 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, in ein Becherglas filtriert, Filter gut ausgewaschen und mit der vorhandenen Kohle verascht. Die Asche wird mit Salpetersäure befeuchtet, mit heißem Wasser aufgenommen und zu dem Auszuge im Becherglase gegeben.

Hierzu gibt man 50 ccm der Ammonmolybdat- und 15 ccm der gesättigten Ammonnitratlösung, rührt um und läßt die Mischung an einem warmen Platze (60°) ca. 6 Stunden lang stehen. Nach dieser Zeit gießt man die Flüssigkeit vom gelben Niederschlag (Ammoniumphosphomolybdat) durch ein kleines Filter und wäscht den Niederschlag mit verdünnter Ammonnitratlösung gut aus, indem man stets den Niederschlag absitzen läßt und die klare Flüssigkeit durch das Filter filtriert. Dann löst man den Niederschlag im Becherglase mit $2^1/_2\,\%$ Ammoniak auf und filtriert durch dasselbe Filter, durch welches 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 $2^1/_2\,\%$ 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 Exsikkator erkalten.

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

2. Bestimmung der Phosphorsäure maßanalytisch.

Prinzip.

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

$$Na_2HPO_4 + UrO_2(C_2H_3O_2)_2 = UrO_2HPO_4 + 2NaC_2H_3O_2.$$

Urannitratlösung behält ihren Titer länger als Uranacetat; damit bei der Verwendung der ersteren Lösung die freiwerdende Salpetersäure von dem gefällten Uranphosphat nichts löst, wird essigsaures Natron hinzugesetzt.

Als Indikator wird die Tüpfelreaktion mit Ferrocyankalium, das mit dem Uran einen rotbraunen Niederschlag von Uranferrocyanid erzeugt, oder Cochenilletinktur angewendet, die mit überschüssigem Uran eine grüne Färbung gibt (C. Malot).

Erforderliche Lösungen.

1. Natriumphosphatlösung, welche 0,1 g P_2O_5 in 50 ccm Lösung enthalten soll. Man löst 10,0845 g reines neutrales Natriumphosphat ($Na_2HPO_4 + 12H_2O$) 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 nach S. 70. Im Falle 0,12 g P_2O_5 (man wird der Vorsicht halber 2 Bestimmungen ausführen) in 50 ccm der Lösung vorhanden sind, so 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 dieselbe 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 0,1875 g pyrophosphorsaures Natron geben. Nach dem gefundenen Gehalt berechnet man einen weiter notwendigen Wasserzusatz zur Lösung.

Man kann die Lösung auch aus dem gewöhnlichen Natriumphosphat darstellen und die richtige Konzentration vermittelst der 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; als Indikator dient Methylorange, besser Alizarinrot; das Ende der Reaktion ist da, wenn die braune Farbe durch einen Tropfen der $^1/_{10}$ 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, 100 ccm 30% Essigsäure hinzugesetzt und zum Liter aufgefüllt.

3. Lösung von Urannitrat oder Uranacetat.

Man löst ca. 35 g krystallisiertes Urannitrat oder Uranacetat in einem Liter Wasser.

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

5. Cochenilletinktur (S. 39).

Einstellung der Uranlösung.

Man mißt 50 ccm der Natriumphosphatlösung in einen Erlenmeyerkolben, gibt 5 ccm der essigsauren Natriumacetatlösung hinzu und erhitzt zum Sieden. Man läßt nun von der Urannitratlösung solange 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 Teller mehrere Tropfen der Ferrocyankaliumlösung und gibt diesen 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 einige Tropfen Cochenillelösung hinzu, erhitzt zum Sieden und läßt solange 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.

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 Harn.

Man verfährt hier genau wie bei der Einstellung. 50 ccm Harn und 5 ccm essigsaure Natriumlösung werden mit Urannitrat titriert u. s. w.

Beurteilung.

Der Harn soll eiweißfrei sein; eiweißhaltiger Harn muß mit Natriumkarbonat 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 Indikator wählen oder man entfärbt den Harn nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Permanganat. 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 und gleicher Resultate muß man immer in den gleichen Mengenverhältnissen die Prüfung vornehmen.

Wahl der Methode.

Die gewichtsanalytische Bestimmung ist vorzuziehen.

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

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 Gesamtphosphorsäure.

Das erstere erreicht man, daß man den Harn oder die Flüssigkeit mit einem bestimmten Überschuß der titrierten $^1/_{10}$ Lauge versetzt, die Phosphorsäure (nun normales Salz) durch Chlorbarium ausfällt und den Überschuß der Lauge mit $^1/_{10}$ Säure (Salzsäure) zurücktitriert. Man erfährt hierdurch die zur Umwandlung des vorhandenen Mono- und Diphosphates in Triphosphat nötige Menge Natron 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 P_2O_5 (auf zweifach saures Phosphat berechnet);
2. $^1/_4$ Normalsalzsäure;
3. ca. $^3/_4$ Normalchlorbariumlösung (90,78 $BaCl_2$, $2H_2O$: 1 Liter).

Die Lösungen 1 und 2 stellt man sich durch entsprechende Verdünnung aus den Normallösungen her (S. 36 und 37).

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 Filtrat 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 Kubikcentimeter 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 . 1,2 ccm Lauge = 24 ccm; zum Rücktitrieren für 50 ccm des Filtrates 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),

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

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

Beurteilung.

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

Der zu hoch gefundene Gehalt der Phosphorsäure hat seine Ursache in der Fällung der in den sauren Salzen enthaltenen Kohlensäure, Harnsäure, Oxalsäure usw., 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; auch V. Lieblein, der die zur Bestimmung der Acidität im Harn angegebenen Verfahrungsweisen geprüft hat, betrachtet die Bestimmung der im Monophosphat vorhandenen Phosphorsäure als richtiges Maß der Acidität im Harn. Lieblein empfiehlt hierzu das nachstehende Verfahren.

2. Methode von E. Freund.[1])

Prinzip.

Dieselbe 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 zweifach-saurem Phosphat zu trennen.

Ausführung.

Man ermittelt zunächst in dem Harn (50 ccm) in der S. 70 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 % 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.

Übrigens ist diese Methode, wie auch die von Maly und Hofmann empfohlene, nach den eingehenden Untersuchungen von O. Naegeli und R. Arnstein, deren Ergebnisse auf S. 10 genau erwähnt wurden, unbrauchbar. Die beiden Methoden wurden nur angeführt, da eine solche Bestimmung noch hier und da gewünscht werden könnte. Man bedient sich der S. 9 angegebenen Aciditätsbestimmung.

Trennung der Erdphosphate von den Alkaliphosphaten.

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

---

[1]) Centralbl. med. Wissenschaft. 1892. 689.

12. Kieselsäure. SiO_2.

Kieselsäure wurde zu 0,03 g im Liter Harn gefunden; dieselbe stammt aus der Nahrung.

Nachweis und quantitative Bestimmung.

Die mit kohlensaurem Natronkali aufgeschlossene Schmelze der Harnasche wird in Salzsäure gelöst und die Lösung in einer Schale auf dem Wasserbade eingedampft. Man erwärmt die Schale mit Inhalt noch eine Stunde bei ca. 140° C., 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 Boraxperle das bekannte Skelett, ist weder in Säuren, noch in Wasser löslich.

13. Salpetersäure. HNO_3 (N_2O_5 Anhydrit).

Salpetersaure Salze enthält jeder Harn in geringer Menge, die sicher aus dem Trinkwasser und der Nahrung stammen. Mit der Zunahme der Harnfäulnis verschwindet die Salpetersäure, die zu 0,05—0,1 g in der täglichen Harnmenge gefunden wurde.

Nachweis.

Man destilliert am besten nach Th. Weyl ca. 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 dasselbe Gelbfärbung (Bildung von Triamidoazobenzol).
2. Man gibt zum Destillat verdünnte Schwefelsäure und eine Lösung von Sulfanilsäure; nach 10 Minuten langem Stehen fügt man der sauren Lösung eine solche von salzsaurem α-Naphtylamin zu; es entsteht bei Vorhandensein von salpetriger Säure eine schöne Rotfärbung, durch Azobenzolnaphtylaminsulfosäure bedingt. (Griesssche Azoreaktion),

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 Chloriden und Nitraten wird durch Schwefelsäure Chlor und Untersalpetersäure entwickelt, welche Dämpfe darüber gehaltenes Jodkaliumpapier bläuen und Indigopapier entfärben.

14. Salpetrige Säure. HNO_2.

Diese ist im frischen Harne nicht nachweisbar; bei beginnender Zersetzung durch Reduktion der salpetersauren Salze entstanden, verschwindet sie bei weiterer Zersetzung wieder aus dem Harne.

Nachweis.

1. Säuert man Harn mit etwas Schwefelsäure oder Essigsäure an und gibt etwas Jodkalium und einige Kubikcentimeter 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 Naphtionsäure oder noch besser 10 Tropfen einer filtrierten Lösung von 2 g chemisch reinem Natriumnaphtionat und 1 g β-Naphtol 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 durch, so tritt auch bei Spuren von HNO_2 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 je nach der Menge der salpetrigen Säure. Man betrachtet die Farbenerscheinung ferner im durchfallenden Lichte, da sehr verdünnte Lösungen von Naphtionsäure veilchenblau fluoreszieren (E. Riegler).[1])

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

3. Man kann die Griesssche Azoreaktion Nr. 2 S. 75 anwenden.

15. Wasserstoffsuperoxyd. H_2O_2.

Dasselbe wurde von Schönbein im Harne nachgewiesen.

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

16. Gase im normalen Harn.

Nach Untersuchungen von G. Wurster und A. Schmidt[1]) enthält jeder saure Harn Kohlensäure, die sich durch einen durchgeleiteten Luftstrom zum größten Teil entfernen läßt; die Menge beträgt in der innerhalb 24 Stunden ausgeschiedenen Harnmenge 60—80 ccm. Geringere Mengen Kohlensäure sind gebunden in Form saurer Salze vorhanden.

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 nimmt der Gehalt an Kohlensäure zu; selbstverständlich auch nach Einnehmen von kohlensauren oder pflanzensauren Alkalien.

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 schon beobachtet; hier wird wohl der Zucker durch eine Gärung in der Blase zum Teil zersetzt worden sein.

Nachweis der Kohlensäure.

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

[1]) Physiol. Centralbl. 1887. 1. 421.

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.

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

Beurteilung.

Ganz genaue Resultate werden nicht erhalten.

In geringer Menge befinden sich auch Sauerstoff und Stickstoff im Harn.

B. Organische Stoffe.

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

Zu 0,01 g wird das Aceton auch nach den neueren Untersuchungen von S. Cotton[1]) 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. 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 Harn meist auf einen pathologischen Harn schließen läßt. Ungemein häufig ist diese Acetonausscheidung (Acetonurie) bei fieberhaften, akuten und chronischen Verdauungsstörungen der Kinder (febrile Acetonurie). Besonders in vorgeschrittenen Diabetesfällen und zumal nach reiner Eiweißkost ist stets Aceton in ziemlich reichlicher Menge vorhanden (diabetische Acetonurie), ebenso bei kachektischen und anämischen Zuständen, bei bestimmten Formen von Karzinomen, bei hungernden Krankheiten, nach Chloroformnarkose.

Ist der Harn reich an Aceton, so deutet schon darauf der charakteristische wein- bis obstartige Geruch hin. Was die Entstehung bezw. Bildung des Acetons betrifft, so ist auch nach den neueren Untersuchungen und Beobachtungen das Aceton wohl als Zersetzungsprodukt stickstoffhaltiger Gewebsbestandteile aufzufassen und auch nur in diesen Fällen von physiologischer und pathologischer Bedeutung. F. Blumen-

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

Nr. 1233. ***Harn. Prüfung auf Aceton und Acetessigsäure.*** *Bitte um Angabe einer qualitativen Reaktion auf Aceton und Acetessigsäure im Harn.*

Zum Nachweis von Azeton im Harn.

Von Dr. H. Friede.

Nachweis v. Aceton i. Harn. Ph. Z. 19-10 N. XX

weis d. Acetons.

glac. 10. Sol. Natr. nitroprussid. (1:10) 0,1. –

zeutische Zeitung", Nr. 69, 27. 8. 27.

cetonnachweis mit Vanillin im Harn

b e an. Die Reaktion, für deren Ausführung ıe genaue Vorschrift angibt, wird vom Holbuch 5. Ausgabe erwähnt. Die Herstellungsıs Reagens und den Verlauf der Reaktion /erfasser wie folgt:

folgendermaßen: In 10 ccm der zu untergkeit wurde etwa 0,01 Vanillin durch Erıd die Lösung in einem Reagensglase auf p. c.) geschichtet. Das Reagenzglas wurde chen erhitztes Wasserbad gestellt und darin, mme entfernt war, stehen gelassen. Es an der Berührungsstelle ein kreßroter Ring, dunkler wurde und sich an seiner der Kali- Seite violettrot verfärbte. Es handelte mehr darum, das Reagens handlicher zu geZweck wurde 0,1 Vanillin in 100,0 30 p. c. gelöst und hiervon jeweilig 5—10 ccm mit mteil der zu prüfenden Flüssigkeit über-

hkeitsgrenze liegt nach meinen Versuchen ɔn."

7, Nr. 54, S. 806.)

Jedenfalls gilt die bereits erwähnte Empfehlung Fischers und Horkheimers, bei positivem Ausfall der Nitroprussidnatriumprobe nicht Azeton, sondern Azetonkörper anzugeben, auch für die Bülowsche Probe, die unter dieser Vorbedingung ein sehr brauchbares Reagens darstellt.

Nachweis v. Aceton. 2 ccm. Harn werden in einem Reagenzglas mit 10 Tropfen 20 %iger Natriumnitroprussidnatrlösung u. 1 ccm. Kalilauge versetzt. Rasch Gemisch wird mit 2 ccm. Essigsäure angesäuert. Bei Anwesenheit von Aceton bildet sich ein violettblauer Ring. (n. Lange. Pharm. Ztg 1918 No. 17)

Aus „Pharmazeutische Zeitung“, Nr. 69, 27. 8. 27.

Einen Acetonnachweis mit Vanillin im Harn

gibt Willy Wobbe an. Die Reaktion, für deren Ausführung der Verfasser eine genaue Vorschrift angibt, wird vom Holländischen Arzneibuch 5. Ausgabe erwähnt. Die Herstellungsvorschrift für das Reagens und den Verlauf der Reaktion beschreibt der Verfasser wie folgt:

„Ich verfuhr folgendermaßen: In 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurde etwa 0,01 Vanillin durch Erwärmen gelöst und die Lösung in einem Reagensglase auf die Kalilauge (30 p. c.) geschichtet. Das Reagenzglas wurde in ein bis zum Kochen erhitztes Wasserbad gestellt und darin, nachdem die Flamme entfernt war, stehen gelassen. Es bildete sich bald an der Berührungsstelle ein kreßroter Ring, der beim Stehen dunkler wurde und sich an seiner der Kalilauge zugekehrten Seite violettrot verfärbte. Es handelte sich für mich nunmehr darum, das Reagens handlicher zu gestalten. Zu dem Zweck wurde 0,1 Vanillin in 100,0 30 p. c. starker Kalilauge gelöst und hiervon jeweilig 5—10 ccm mit dem gleichen Raumteil der zu prüfenden Flüssigkeit überschichtet.

Die Empfindlichkeitsgrenze liegt nach meinen Versuchen bei 0,1 p. c. Aceton.“

(Apoth.-Ztg. 1927, Nr. 54, S. 806.)

gezogen habe, wozu er verpflichtet gewesen sei. Gerichtsmedizinalrat Dr. Oppe hatte die Sektion der Leiche vorgenommen, berichtete eingehend darüber und schloß sich den Ausführungen Dr. Päßlers an. Er war der Meinung, daß am 12. November v. J. erst eine kleine örtliche Erkrankung vorgelegen habe. Ob die biochemischen oder homöopathischen Mittel richtig oder falsch gewesen sind, sei belanglos. Noch am 14. November v. J. sei das Leben der Patientin zu retten gewesen, wenn durch einen kleinen Einschnitt die angesammelten Eitermassen zum Abfluß gebracht worden wären. Durch Unterlassung des operativen Einschnitts sei der Körper mit den Eitergiften durchseucht und der Tod herbeigeführt worden.

Der Sachverständige für Biochemie, Dr. med. Ziegelroth-Potsdam, einer der bekanntesten Anhänger und Vertreter der Biochemie, betonte die Richtigkeit der vom Angeklagten verordneten Arzneimittel. Der Sachverständige war der Meinung, daß die Patientin schon bei Uebernahme der Behandlung durch Neumann bereits unrettbar verloren gewesen sei, da die Masse der Eiterbakterien den Körper der Patientin schon zu sehr durchseucht hätte. Auch ein operativer Eingriff hätte das Leben der Patientin nicht mehr retten können.

Die dritte Ferienstrafkammer hob nach längerer Beratung das Urteil der Vorinstanz auf. Der Angeklagte wurde freigesprochen.

H. F.

Dr. Hammer.

Eine eigentümliche Gerichtsverhandlung fand am 31. August 1927 vor dem Einzelrichter in Hamburg statt. Der Heilkundige S. hatte homöopathische Mittel angewandt und versäumt, die vorgeschriebenen Bücher zu führen.

Dieserhalb wurde Anklage erhoben wegen fahrlässiger Körperverletzung, Betrugs, verbotenen Gifthandels, Uebertretung der Krankenbuchführungsverordnung des Hamburger Senats. Der Amtsanwalt hatte drei Sachverständige und zwei Zeugen aufgeboten. Die Verteidigung hin-

I. Nachweis v. Aceton i. Harn. Ph. Z. 19-10 № XX

Reagens z. Nachweis d. Acetons.

– Acid. acetic. glac. 10,0. Sol. Kalii nitroprussid. (1:10) 0,1. –
20 Tropfen dieses Reagens setzt man zu 15 ccm. Harn u. schüttelt vorsichtig
20 Gtt. Eisessig darüber. Bei Anwesenheit v. Aceton entstehen
an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten eine violette Zone. –

II. 10 ccm. Harn werden mit 2 bis 3 ccm. Ammoniak langsam zur
Alkalität. Dabei entsteht Bromaceton. Sodann wird ~~mit~~ Harn
mit einer Na_2CO_3-Lösung (1:10) [0,5 ccm. auf 5 ccm. obiger Acetonharn]
in Methylcarbinol verwandelt. Zu 0,4 ccm. dieser Lösung setzt
man nun 0,1 ccm. einer wässrigen Lösung von Kal. bromat (1:10)
u. 2 ccm. Konzentr. H_2SO_4; nach dem Umschütteln setzt man
noch 0,1 ccm. einer alkohol. Salicylsäurelösung (1:20) hinzu
u. schüttelt um. Die Flüssigkeit färbt sich nun violett
bis violettblau. – Verwendet man anstatt Salicylsäure Guajacol
so entsteht eine blaue Färbung, ebenso, wenn man eine alkohol.
Sodalösung benützt. –

Zum Nachweis von Azeton im Harn.

Von Dr. H. Friede.

Im Anschluß an die Veröffentlichungen von Dr. Fischer und Dr. Horkheimer (Südd. Apothekerzeitung 1928, 101, 102) wurden, wie in anderen Laboratorien, auch bei uns einige Versuche angestellt, um die Brauchbarkeit der üblichen Azetonreaktionen nachzuprüfen.

Daß Nitroprussidnatrium ein schärferes Reagens auf Azetessigsäure als auf Azeton ist, bestätigt der einfache Versuch. Da aus der neueren medizinischen Literatur bekannt ist, „daß die Menge des Azetons im Verhältnis zu den übrigen Azetonkörpern meistens nur klein ist" (Hammarsten), verdient die Empfehlung Fischers und Horkheimers, bei positivem Ausfall der Nitroprussidnatriumprobe nicht Azeton, sondern Azetonkörper anzugeben, wohl Beachtung.

Wenn man die Langesche Probe bei Urinen vornimmt, die mit Azeton bzw. mit Azetessigsäure (dargestellt nach Ceresole, Beilstein, Handbuch der organischen Chemie) versetzt wurden, so zeigen sich zwar deutliche Farbunterschiede. Auch wenn bei geringer Konzentration (Azeton 1:100; Azetessigsäure 1:2000) die Farbringe schwach werden, sind die Unterschiede noch zu beobachten. Der Ring über der Azetonlösung ist deutlich rötlichbraun, der Ring über der Azetessigsäurelösung charakteristisch bordeauxrot. Doch besteht die Möglichkeit, daß diese Unterschiede nur bei Laborarorіumsversuche erkennbar sind, da der pathologische Harn schließlich noch Bestandteile enthalten kann, die die Unterschiede verwischen.

Aehnliche Bedenken, wie sie für die Eindeutigkeit der Nitroprussidnatriumprobe bestehen, erheben sich bei Anwendung der Azetonprobe nach Bülow (Hager, Handbuch der pharmazeutischen Praxis 1927, II, S. 1245).

Bülows Reagens — 2,4 Dinitro-phenyl-hydrazin — ergibt nämlich sowohl mit Azeton wie mit Azetessigsäure Fällungen, die sich nur wenig voneinander unterscheiden. Dies ist auch zu erwarten, da Phenylhydrazine ein typisches Reagens auf die Gruppe CO sind (auch mit Azetessigester gibt Bülows Reagens eine Fällung). L. Lorber hat zwar nachgewiesen, daß Azetessigsäure sowohl in wässeriger Lösung als im Harn hauptsächlich in Enolform $CH_3—COH = CH—COOH$ vorkommt. Das Reagens ist aber so scharf, daß es auch mit dem Bruchteil Ketoform der Azetessigsäure — dessen Höhe nie genau feststeht — eine deutliche Reaktion gibt.

Bei Anwesenheit von Azeton entsteht mit Bülows Reagens nach einigen Sekunden eine gelbliche, milchige Trübung, die allmählich wieder zurückgeht. Bei Anwesenheit von Azetessigsäure entsteht nach etwas längerer Zeit (20—60 Sekunden) ebenfalls eine gelbliche, etwas hellere — zitronengelbe — Fällung, die relativ stärker und beständiger ist. Doch sind diese Unterschiede zu gering, um zur qualitativen Differenzierung zu dienen.

Auch bei der quantitativen Azetonbestimmung mit Bülows Reagens wäre zu beachten, daß in der erhaltenen Gesamtazetonmenge Azetessigsäure, bzw. aus Azetessigsäure während der Reaktion entstandenes Azeton, mitbestimmt wird. (Möglicherweise liegen die Verhältnisse ähnlich für die Graaffsche Azetonbestimmung (E. Späth, Untersuchung des Harns 1924, S. 121), die mit p-Nitrophenylhydrazin — einem dem Bülowschen Reagens sehr ähnlichen Körper — arbeitet.

Jedenfalls gilt die bereits erwähnte Empfehlung Fischers und Horkheimers, bei positivem Ausfall der Nitroprussidnatriumprobe nicht Azeton, sondern Azetonkörper anzugeben, auch für die Bülowsche Probe, die unter dieser Vorbedingung ein sehr brauchbares Reagens darstellt.

tragseinnahmen 1233846 M. (1928: 1222840 M.), die Gesamtausgaben 1453799 M. (1237054 M.), die Mehrausgabe demnach 219953 M. (14214 M.). Die Ausgaben verteilen sich auf: ärztliche Behandlung 246571 M. (229824 M.), Zahnbehandlung 60002 M. (58764 M.), Arznei und Heilmittel 123014 M. (8 %. D. Schr.) (115633 M.) (9,3 %. D. Schr.), Verwaltungskosten, persönliche 75480 M. (715323 M.), Verwaltungskosten, sächliche 16479 M. (13734 M.), Sonstiges 1455 M. (304 M.). — Die Allgemeine Ortskrankenkasse Karlsruhe berichtet und fügt bemerkenswerte Angaben über vertrauensärztliche Tätigkeit an: Beängstigend hat sich das Jahr 1929 angelassen. Während in normalen Zeiten wöchentlich 30000—35000 M. an Krankengeld auszuzahlen sind, stieg die wöchentliche Krankengeldauszahlung in der letzten Februarwoche auf rund 78000 M. Während voranschlagsmäßig an Krankengeldauszahlung auf das erste Vierteljahr 500125 M. entfallen, sind tatsächlich 697924,76 Mark ausgezahlt worden. Im ersten Vierteljahr 1929 wurden 4229 Kranke vor den Vertrauensarzt geladen. Dieser Aufforderung kamen 2154 oder 51 % nicht nach bzw. meldeten sich durch ihren behandelnden Arzt gesund. Von den übrigen wurden 1270 oder 30 % für arbeitsfähig befunden. Berücksichtigt man, daß auch ohne Ladung zum Vertrauensarzt eine größere Anzahl Gesundmeldungen erfolgt wären, so geben die angeführten Zahlen doch zum Nachdenken Anlaß. ×

Preisausschreiben der Allgemeinen Ortskrankenkasse Singen und Umgebung. Bei dem Wettbewerb zur Erlangung von Entwürfen für das neue Verwaltungsgebäude hat von den achtzehn eingegangenen Entwürfen keiner die richtige Lösung zur Ausführung des Bauprojektes gefunden. Von den Entwürfen wurden fünf Entwürfe preisgekrönt, und zwar zwei zweite Preise und drei dritte Preise. Unter diesen drei Preisträgern findet nochmals ein Wettbewerb statt. Bei dem mit dem zweiten Preis bedachten Entwurf von Architekt Albert Hug würden bei Ausführung des Bauprojekts die Gesamtbaukosten 93500 M. betragen. Der weitere mit dem zweiten Preis bedachte Entwurf sieht an Baukosten den Betrag von 97000 M. vor, der Entwurf von Architekt Waibel führt an Baukosten den Betrag von 104620 Mark an. Von den preisgekrönten Entwürfen von Architekt Häußler sieht der eine an Baukosten den Betrag von 107000 M., der andere 100000 M. vor. ×

Bekanntmachungen der Behörden

Bayern.

Bekanntmachung, betreffend die Errichtung einer Vollapotheke in Haar.

Mit Bescheid der Regierung von Oberbayern vom 8. November 1929 Nr. D 5798 A I wurde festgestellt, daß die Voraussetzungen für die Errichtung einer Vollapotheke in der Ortschaft Haar gegeben sind. Diese Apotheke ist daher zu besetzen.

Bewerbungen um die persönliche Konzession dieser Apotheke sind bis längstens 31. Dezember 1929 beim Bezirksamt München einzureichen und mit den nachstehend aufgeführten vollständigen Nachweisen zu versehen:

1. Geburtszeugnis;
2. Staatsangehörigkeitsausweis,
3. Approbationszeugnis;

Nr. 1233. ***Harn, Prüfung auf Aceton und Acetessigsäure.*** *Bitte um Angabe einer qualitativen Reaktion auf Aceton und Acetessigsäure im Harn.*

Antwort. Um Aceton im Harn nachzuweisen, versetzt man nach Lenz, Medizinisch-chemische Untersuchungen für Apotheker, etwa 250 ccm Harn mit 3—5 Tropfen Salzsäure und destilliert etwa 30 ccm ab. Das Destillat färbt sich mit frisch bereiteter Lösung von Nitroprussidnatrium rubinrot wie Kreatinin; übersättigt man darauf mit Essigsäure, so schlägt die Acetonfärbung in karminrot oder purpurrot um, während die Kreatininfärbung durch gelb in grün und blau übergeht. Die Probe kann auch mit dem Harn selbst angestellt werden. Wird das Destillat mit etwas Natriumkarbonat und darauf mit etwas Jodkaliumlösung versetzt und vorsichtig erwärmt, so entsteht ein Niederschlag der unverkennbaren gelben Jodoformkriställchen in Gestalt mikroskopischer sechsseitiger Täfelchen und Sternchen; gleichzeitig macht sich der bekannte Jodoformgeruch bemerkbar.

Der Nachweis der Acetessigsäure gelingt nur in frischem Harn, da nach längstens 24 Stunden alle Acetessigsäure verschwunden ist. Man führt den Nachweis der Acetessigsäure, a. indem man 10 ccm Harn mit Eisenchloridlösung tropfenweise so lange versetzt, als noch ein Niederschlag (von Ferriphosphat usw.) entsteht. Man filtriert und fügt zum Harn noch etwas Eisenchlorid; die Gegenwart von Acetessigsäure verrät sich durch eine bordeauxrote Färbung, die langsam verblaßt. Beim Erhitzen der Flüssigkeit zum Kochen verschwindet diese Färbung (Unterschied von Rhodansalicylphenolfärbungen). b. Man versetzt 5 ccm Harn tropfenweise mit Jodjodkaliumlösung bis zur orangeroten Färbung der Flüssigkeit, erwärmt, fügt, falls die Färbung verschwindet, wieder Jodjodkalium hinzu, bis die Farbe beim Erwärmen bestehen bleibt, und kocht dann auf. Bei Gegenwart von Acetessigsäure entsteht der stechende Geruch von Jodaceton, das übrigens die Augen heftig angreift. Die Probe ist daher mit Vorsicht auszuführen. Aceton gibt sie nicht.

Einige orientierende Angaben über den Nachweis von Aceton und Acetessigsäure finden sich auch im pharmazeutischen Kalender.

daß sowohl das Eiweiß
Fett unter Umständen
ben können. Aceton ist
auch β-Oxybuttersäure
ß das Aceton aus der
ere bildet sich aus der
ion im Organismus und
Kohlensäure.
chen, daß nach Gebrauch
anden sein kann.

aus dem Harn.

en, daß starkes Ansäuern und
erschiedene Kohlehydrate nach
n erkennen lassen.

schwach acetonhaltigem
m 50% Essigsäure — in
sscheidung von Phenol,
Essigsäure, sowie anderer
angesäuert hat, der De-
e Destillat in einer Vor-
. Damit keine Aceton-
mit einem doppeltdurch-
n Bohrung befindet sich
ren ein mit Wasser zur
n destilliert unter guter
ellt mit dem Destillate,
tem sicherer nachweisen
eaktionen an:

1. Eine Probe des Destillates mit etwas Jodjodkaliumlösung versetzt, gibt auf Zusatz von etwas Natronlauge eine gelbliche Fällung, Abscheidung von Jodoform, das schon in geringster Menge an seinem charakteristischen Geruche zu erkennen ist (Liebensche[2]) Jodoformprobe).

Beurteilung.

Anwesenheit von Alkohol gibt auch die Liebensche Reaktion; bei Gegenwart von Alkohol wendet man nach Gunning[3])-Le Nobel Ammoniak und Jodjod-

[1]) F. Blumenthal, Pathol. d. Harnes. Urban u. Schwarzenberg. Wien 1903.
[2]) Annal. Chem. Pharm. Suppl.-Band. 7. 236.
[3]) Journ. Pharm. Chem. [5] 1881. 4. 30.

Nr. 1233. ***Harn, Prüfung auf Aceton und Acetessigsäure.*** *Bitte um Angabe einer qualitativen Reaktion auf Aceton und Acetessigsäure im Harn.*

Antwort. Um Aceton im Harn nachzuweisen, versetzt man nach Lenz, Medizinisch-chemische Untersuchungen für Apotheker, etwa 250 ccm Harn mit 3—5 Tropfen Salzsäure und destilliert etwa 30 ccm ab. Das Destillat färbt sich mit frisch bereiteter Lösung von Nitroprussidnatrium rubinrot wie Kreatinin; übersättigt man darauf mit Essigsäure, so schlägt die Acetonfärbung in karminrot oder purpurrot um, während die Kreatininfärbung durch gelb in grün und blau übergeht. Die Probe kann auch mit dem Harn selbst angestellt werden. Wird das Destillat mit etwas Natriumkarbonat und darauf mit etwas Jodkaliumlösung versetzt und vorsichtig erwärmt, so entsteht ein Niederschlag der unverkennbaren gelben Jodoformkriställchen in Gestalt mikroskopischer sechsseitiger Täfelchen und Sternchen; gleichzeitig macht sich der bekannte Jodoformgeruch bemerkbar.

Der Nachweis der Acetessigsäure gelingt nur in frischem Harn, da nach längstens 24 Stunden alle Acetessigsäure verschwunden ist. Man führt den Nachweis der Acetessigsäure, a. indem man 10 ccm Harn mit Eisenchloridlösung tropfenweise so lange versetzt, als noch ein Niederschlag (von Ferriphosphat usw.) entsteht. Man filtriert und fügt zum Harn noch etwas Eisenchlorid; die Gegenwart von Acetessigsäure verrät sich durch eine bordeauxrote Färbung, die langsam verblaßt. Beim Erhitzen der Flüssigkeit zum Kochen verschwindet diese Färbung (Unterschied von Rhodansalicylphenolfärbungen). b. Man versetzt 5 ccm Harn tropfenweise mit Jodjodkaliumlösung bis zur orangeroten Färbung der Flüssigkeit, erwärmt, fügt, falls die Färbung verschwindet, wieder Jodjodkalium hinzu, bis die Farbe beim Erwärmen bestehen bleibt, und kocht dann auf. Bei Gegenwart von Acetessigsäure entsteht der stechende Geruch von Jodaceton, das übrigens die Augen heftig angreift. Die Probe ist daher mit Vorsicht auszuführen. Aceton gibt sie nicht.

Einige orientierende Angaben über den Nachweis von Aceton und Acetessigsäure finden sich auch im pharmazeutischen Kalender.

Nr. 1257. ***Spec. pectoral. Kaplick.*** *Ist mandem die Vorschrift zu Spec. pectoral. Kaplick ekannt?*

Nr. 1258. ***Spiritin.*** *Was ist Spiritin? Dasselbe wird zum Denaturieren von Spiritus benutzt.*

Antwort. Zum Denaturieren von Spiritus arf nur das amtlich vorgeschriebene, Pyridinasen enthaltende Denaturierungsmittel verwendet erden. Ausgenommen ist nur die sog. unvollständige Vergällung des Branntweins, aber auch ier sind die Denaturierungsmittel amtlich genau stgelegt.

Nr. 1259. ***Spotol.*** *Um Angabe einer Vorhrift zu Spotol wird gebeten.*

Nr. 1260. ***Tinct. Gamgée.*** *Was ist Tinctura amgée.*

Nr. 1261. ***Vanadioform.*** *Um nähere Mitilungen über Vanadioform wird gebeten.*

Antwort. Unter dem Namen Vanadioform ommt ein Präparat in den Handel, das als Streuulver für Wunden Verwendung finden soll. Die usammensetzung ist uns jedoch nicht bekannt, öglicherweise ist es identisch mit Vanadoform, as aus Vanadozon (Natrium chlorat. vanadin. nhydric.) und Bismutum subgallicum besteht. Weitere Mitteilungen über einige andere Vanaiumpräparate finden sich in Pharm. Ztg. 1909, r. 101.

Nr. 1262. ***Wanzenvertilgung.*** *Wanzen sollen ertilgt werden, indem das Zimmer frisch geincht wird, der Farbe aber Sublimat beigemischt erden soll. Besteht für die Bewohner nach dem rockenwerden der Sublimat enthaltenden Leimarbe irgend eine Vergiftungsgefahr? Was könnte vent. Sublimat ersetzen?*

Antwort. Zur Bekämpfung der Wanzen wurde in Pharm. Ztg. 1910, Nr. 67 empfohlen, dem Mauerkalk, mit dem die betreffenden Räume ausreputzt werden müssen, eine starke Koloquinthenbkochung, der man 1 : 1000 Sublimat zugesetzt at, zuzumengen, oder bevor die Tapete aufgeogen wird, die Unterlage mit einer gleichen Abochung zu bestreichen. Dann wird ebenfalls

Nr. 1257. Spec. pectoral. Kapfick. Ist
mandem die Vorsch.tft zu Spec. pectoral. Kapfick
kannt?
Nr. 1258. Spirtip.

thal und C. Neuberg[1]) nehmen an, daß sowohl das Eiweiß als auch die Kohlehydrate und das Fett unter Umständen die Ursache der Acetonbildung abgeben können. Aceton ist häufig neben Acetessigsäure und auch β-Oxybuttersäure vorhanden und ist sichergestellt, daß das Aceton aus der Acetessigsäure entsteht. Diese letztere bildet sich aus der β-Oxybuttersäure durch eine Oxydation im Organismus und zerfällt dann weiter in Aceton und Kohlensäure.

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

Darstellung und Gewinnung aus dem Harn.

Bei der Destillation ist zu berücksichtigen, daß starkes Ansäuern und anhaltende Destillation zu vermeiden ist, da verschiedene Kohlehydrate nach E. Salkowski im Destillate Acetonreaktionen erkennen lassen.

Man unterwirft 100 ccm — von schwach acetonhaltigem Harn mehr —, nachdem man mit 2 ccm 50% Essigsäure — in dieser Menge zugesetzt, soll eine Ausscheidung von Phenol, die bei Anwendung größerer Mengen Essigsäure, sowie anderer Säuren entsteht, vermieden werden — angesäuert hat, der Destillation und fängt das gut gekühlte Destillat in einer Vorlage — Erlenmeyerkolben — auf. Damit keine Acetondämpfe entweichen, ist die Vorlage mit einem doppeltdurchbohrten Kork versehen; in der einen Bohrung befindet sich der Vorstoß des Kühlers, in der anderen ein mit Wasser zur Hälfte angefüllter Kugelapparat. Man destilliert unter guter Kühlung ca. 20—30 ccm ab und stellt mit dem Destillate, in welchem sich das Aceton bei weitem sicherer nachweisen läßt als im Harne direkt, folgende Reaktionen an:

Qualitativer Nachweis.

1. Eine Probe des Destillates mit etwas Jodjodkaliumlösung versetzt, gibt auf Zusatz von etwas Natronlauge eine gelbliche Fällung, Abscheidung von Jodoform, das schon in geringster Menge an seinem charakteristischen Geruche zu erkennen ist (Liebensche[2]) Jodoformprobe).

Beurteilung.

Anwesenheit von Alkohol gibt auch die Liebensche Reaktion; bei Gegenwart von Alkohol wendet man nach Gunning[3])-Le Nobel Ammoniak und Jodjod-

[1]) F. Blumenthal, Pathol. d. Harnes. Urban u. Schwarzenberg. Wien 1903.
[2]) Annal. Chem. Pharm. Suppl.-Band. 7. 236.
[3]) Journ. Pharm. Chem. [5] 1881. 4. 30.

ammonium an; man muß aber einige Zeit bis zum Verschwinden des schwarzen Niederschlages (Jodstickstoff) stehen lassen, um das abgeschiedene Jodoform zu erkennen. Alkohol läßt sich neben Aceton durch die Bildung des Benzoësäureäthylesters 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 Benzoësäureäthylesters auf, der durch Ausschütteln der Lösung mit Äther von diesem aufgenommen wird und nach dem Verdunsten des Äthers an der Luft hinterbleibt.

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

Beurteilung.

Eine für die Praxis empfehlenswerte Methode.
Im Harndestillate stets vorhandenes Parakresol gibt mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge eine rotgelbe, nach Zusatz von Essigsäure rosa werdende Färbung.

3. Man macht Quecksilberchloridlösung mit alkoholischer Kalilauge stark alkalisch und schüttelt damit eine Probe 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 (Reynold-Gunning). Die Prüfung mit Schwefelammonium führt man am besten als Ringprobe durch vorsichtiges Überschichten des Filtrates mit dem Reagens aus.

Beurteilung.

Auch Aldehyd löst Quecksilberoxyd, ferner gehen Spuren von Quecksilberoxyd fast immer durchs Filter, so daß der positive Ausfall dieser Probe mit Vorsicht aufzunehmen und durch eine weitere Methode zu kontrollieren ist.

4. Man löst einige Kriställchen Orthonitrobenzaldehyd in heißem Wasser und gibt nach dem Erkalten von der zu prüfenden Flüssigkeit und Natronlauge hinzu; bei Acetongegenwart färbt sich die Flüssigkeit gelb, dann grün, dann blau (Abscheidung von Indigo); der Indigo geht beim Schütteln mit Chloroform in dieses

Zum Nachweis von Acetessigsäure im Harn empfiehlt Béla v. Ondrejovich folgende Methode:

Man nimmt 5 ccm Urin, säuert mit 5 Tropfen 50 prozentiger Essigsäure an und gibt 2 promillige Methylenblaulösung zu, bis das Ganze eine ausgesprochen blaue Farbe annimmt, wozu gewöhnlich 1 Tropfen genügt. Dann gibt man 4 Tropfen Jodtinktur zu, worauf die ganze Mischung rot wird. Ist Acetessigsäure vorhanden, dann wird sie spätestens in einer Minute wieder blau resp. grün; andernfalls behält sie ihre rote Färbung.

Der bei der Reaktion ablaufende chemische Prozeß basiert darauf, daß die Acetessigsäure in saurer Lösung das Jod zu binden fähig ist. Die Acetessigsäure wird in saurer Lösung nach Hinzugeben von Jod zu der farblosen und ganz geruchlosen Verbindung Monojodacetessigsäure.

$$CH_3-CO-CH_2-COOH + J_2$$
$$= CH_3-CO-CHJ-COOH + HJ.$$

Diese zerfällt aber leicht in Kohlensäure und Jodaceton.

Ist daher im Urin Acetessigsäure vorhanden, so bindet diese nach Ansäuerung das hinzugegebene Jod und enthält bis zur Sättigung kein freies Jod. Ein Urin aber, welcher keine Acetessigsäure enthält, wird schon von 4 Tropfen Jod übersättigt, daher Jod auch in ungebundenem Zustand vorhanden ist.

Diese Reaktion ist zur quantitativen Abschätzung sehr geeignet. (D. Med. Wschr. 1912 Nr. 30.)

Die Probe ist empfindlich und tritt noch bei 0,001 g Aceton ein.

6. Setzt man zum Destillate eine Lösung von Äthylendiamin oder von Monomethylamin und Nitroprussidnatriumlösung, so entsteht Purpurfärbung.

Beurteilung.

Ist zwar ausschließlich dem Aceton eigen, aber nicht sehr empfindlich.

Wahl der Methode.

Für eine genaue Prüfung des Harnes auf Aceton ist dessen Isolierung, wie angegeben, unerläßlich; mit dem Destillate stellt man Probe 4, 2, 1, 3, 5 an. Zur direkten Prüfung des Harnes auf Aceton, wenn dieses in größeren Mengen vorhanden ist, wendet man die Penzoldtsche und Legalsche Probe für die Vorprüfung an.

Quantitative Bestimmung.

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

Die beiden ersten Bestimmungsmethoden basieren auf der Eigenschaft des Acetons, mit Jodjodkalium und Kali- oder Natronlauge Jodoform abzuscheiden, indem hierbei ein Molekül Aceton in ein Molekül Jodoform und ein Molekül Essigsäure sich zersetzt; nach dem einen Verfahren (Hilger[2]) und Krämer[3]) wird das abgeschiedene Jodoform gewogen, nach dem anderen (Messinger[4])-Huppert) wird die Acetonmenge aus der zur

[1]) Archiv. klin. Medic. 1883. **34.** 132.
[2]) Annal. Chem. **195.** 316.
[3]) Berl. Berichte. **13.** 1002.
[4]) Berl. Berichte. **21.** 3366.

Zum Nachweis von Acetessigsäure im Harn empfiehlt Béla v. Ondrejovich folgende Methode: 1.8.92.

Man nimmt 5 ccm Urin, säuert mit 5 Tropfen 50 prozentiger Essigsäure an und gibt 2 promillige Methylenblaulösung zu, bis das Ganze eine ausgesprochen blaue Farbe annimmt, wozu gewöhnlich 1 Tropfen genügt. Dann gibt man 4 Tropfen Jodtinktur zu, worauf die ganze Mischung rot wird. Ist Acetessigsäure vorhanden, dann wird sie spätestens in einer Minute wieder blau resp. grün; andernfalls behält sie ihre rote Färbung.

Der bei der Reaktion ablaufende chemische Prozeß basiert darauf, daß die Acetessigsäure in saurer Lösung das Jod zu binden fähig ist. Die Acetessigsäure wird in saurer Lösung nach Hinzugeben von Jod zu der farblosen und ganz geruchlosen Verbindung Monojodacetessigsäure.

$$CH_3—CO—CH_2—COOH + J_2$$
$$= CH_3—CO—CHJ—COOH + HJ.$$

Diese zerfällt aber leicht in Kohlensäure und Jodaceton.

Ist daher im Urin Acetessigsäure vorhanden, so bindet diese nach Ansäuerung das hinzugegebene Jod und enthält bis zur Sättigung kein freies Jod. Ein Urin aber, welcher keine Acetessigsäure enthält, wird schon von 4 Tropfen Jod übersättigt, daher Jod auch in ungebundenem Zustand vorhanden ist.

Diese Reaktion ist zur quantitativen Abschätzung sehr geeignet. (D. Med. Wschr. 1912 Nr. 30.)

Bekanntmachung, betr. Arzneimittelverkeh

Auf Grund des § 15 des Schutzgebietsges in Verbindung mit § 5 der Verfügung des Re kanzlers, betr. das Verordnungsrecht der Behö in den Schutzgebieten Afrikas und der Si vom 27. September 1903 erhält der § 5 der kanntmachung betr. den Verkehr mit Ar mitteln außerhalb der Apotheken vom 27. 1911 folgende Fassung:

„§ 5. Der Verkauf aller anderen sowie derartige Mittel enthaltenden Zubereitungen sonders der sogenannten Patentmedizinen Geheimmittel, ist außerhalb der Apotheken boten.

Die öffentliche Ankündigung oder Anprei dieser Mittel oder Zubereitungen ist verbote

Der öffentlichen Ankündigung oder An sung steht es gleich, wenn in öffentlichen kündigungen auf Druckschriften oder son Mitteilungen verwiesen wird, die eine Anprei der Mittel oder Zubereitungen enthalten."

Daressalam, den 14. Mai 1912.

Der Kaiserliche Gouverneur.

I. V.: Methner.

Landespolizeibezirk Berlin. Po verordnung, betr. den Verkehr mit Arzneim

[illegible] eschränkt ist.

über und kann weiter identifiziert werden (s. Indigo). Probe von Penzoldt.[1])

Beurteilung.

Die Penzoldtsche Probe ist, wie auch W. Ellram, sowie R. v. Melckebecke neuerdings nachwiesen, die einwandfreiste Probe.

5. Man versetzt 10 ccm des Destillates mit einem Tropfen einer 10% Lösung von salzsaurem Hydroxylamin und einem Tropfen 5% Natronlauge, sowie 1—2 Tropfen Pyridin. Hierauf überschichtet man mit etwa 1 ccm Äther, gibt unter Umschütteln Bromwasser bis zur Gelbfärbung des Äthers hinzu und dann Wasserstoffsuperoxyd. Der Äther nimmt Blaufärbung an (Probe nach Stock).

Froehner löst in 5 ccm des Destillates einen Krystall Hydroxylaminhydrochlorid, versetzt die Lösung mit Chlorkalklösung und schüttelt mit wenig Äther aus. Derselbe färbt sich blau.

Beurteilung.

Die Probe ist empfindlich und tritt noch bei 0,001 g Aceton ein.

6. Setzt man zum Destillate eine Lösung von Äthylendiamin oder von Monomethylamin und Nitroprussidnatriumlösung, so entsteht Purpurfärbung.

Beurteilung.

Ist zwar ausschließlich dem Aceton eigen, aber nicht sehr empfindlich.

Wahl der Methode.

Für eine genaue Prüfung des Harnes auf Aceton ist dessen Isolierung, wie angegeben, unerläßlich; mit dem Destillate stellt man Probe 4, 2, 1, 3, 5 an. Zur direkten Prüfung des Harnes auf Aceton, wenn dieses in größeren Mengen vorhanden ist, wendet man die Penzoldtsche und Legalsche Probe für die Vorprüfung an.

Quantitative Bestimmung.

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

Die beiden ersten Bestimmungsmethoden basieren auf der Eigenschaft des Acetons, mit Jodjodkalium und Kali- oder Natronlauge Jodoform abzuscheiden, indem hierbei ein Molekül Aceton in ein Molekül Jodoform und ein Molekül Essigsäure sich zersetzt; nach dem einen Verfahren (Hilger[2]) und Krämer[3]) wird das abgeschiedene Jodoform gewogen, nach dem anderen (Messinger[4])-Huppert) wird die Acetonmenge aus der zur

[1]) Archiv. klin. Medic. 1883. **34.** 132.
[2]) Annal. Chem. **195.** 316.
[3]) Berl. Berichte. **13.** 1002.
[4]) Berl. Berichte. **21.** 3366.

Bildung des Jodoforms verbrauchten Jodmenge titrimetrisch bestimmt. Zu bemerken ist, daß jedoch auch die bei Acetongegenwart stets vorhandene Acetessigsäure (s. d.) mit als Aceton bestimmt wird.

Die Methode von Riegler ist eine gasvolumetrische.

Ausführung der Methode.

Das Aceton muß für die folgenden zwei Bestimmungen erst isolirt sein, und zwar kann man nicht das nach S. 79 gewonnene Destillat direkt verwenden, da dieses vollkommen frei von Phenol, Ammoniak, auch salpetriger Säure und Ameisensäure sein muß, die sämtlich absorbierend auf Jod einwirken.

Man destilliert 500 ccm Harn — von acetonreichem, auch Fieberharn, genügen 100 ccm — in der S. 79 angegebenen Art und Weise, wozu noch zu bemerken ist, daß alkalischer Harn mit Essigsäure auf normale Säure zu bringen ist. Man destilliert bei Anwendung der 500 ccm Harn 200 ccm, bei Anwendung von 100 ccm Harn 50 ccm ab. Das Destillat und das im Kugelapparate oder in einer angefügten Peligotschen Röhre vorgelegte Wasser werden in einem Kolben vereinigt, mit Calciumkarbonat geschüttelt, um Ameisensäure und salpetrige Säure zu entfernen, und nun abermals destilliert. Dieses Destillat und das vorgelegte Wasser werden nach Zusatz von 1 ccm 8fach verdünnter Schwefelsäure nochmals destilliert. (Die salpetrige Säure läßt sich leicht durch Zusatz von etwas Harnstoff zu dem ersten Destillate entfernen.) Das letztgewonnene Destillat findet nun Verwendung für die quantitative und titrimetrische Acetonbestimmung.

1. Wägen des Jodoforms.

Das, wie eben eingehend angegeben, gewonnene Destillat wird in einem Becherglase mit reiner Natronlauge und mit Jodjodkaliumlösung versetzt, der entstandene Niederschlag von Jodoform 24 Stunden unter der Flüssigkeit stehen gelassen, dann auf einem gewogenen über Schwefelsäure getrockneten Filter gesammelt, mit kaltem Wasser ausgewaschen und wieder über Schwefelsäure getrocknet. Man kann auch die Herstellung des Jodoforms in einem Zylinder 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 = 0,0147 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.

$$\text{I. } J_2 + KOH = KOJ + HJ; \quad HJ + KOH = KJ + H_2O.$$

$$\text{II. } 2CH_3 - CO - CH_3 + 2KOJ = 2CH_3 . CO . CJ_3 + 6KOH + 6KJ.$$

$$2CH_3CO . CJ_3 + 2KOH = 2CHJ_3 + 2KC_2H_3O_2.$$

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

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

Erforderliche Lösungen.

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

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

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

Die sicherste Titerstellung der $^1/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung und indirekt der Jodlösung ist die Volhardsche Probe mit Kaliumdichromat. Man löst 3,8740 g Kaliumdichromat in 1 Liter Wasser auf und läßt dann 20 ccm in eine Stöpselflasche fließen, in welche man vorher 10 ccm 10 % Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure (20 %) gebracht hat. Das ausgeschiedene Jod wird mit der Thiosulfatlösung und Stärkelösung titriert (Ende der Reaktion — Eintreten einer schönen grünen Färbung der Flüssigkeit). Jeder Kubikzentimeter der Bichromatlösung macht 0,01 g Jod frei, so daß 20 ccm 0,2 Jod ausscheiden; für dieses ausgeschiedene Jod müßten, wenn die Thiosulfatlösung genau $^1/_{10}$ 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 garnicht 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 das Jod ein; für 10 ccm Jodlösung werden verbraucht 9,75 ccm Thiosulfatlösung; da nun 1 ccm der letzteren 0,01333 g Jod entspricht, so ist in den 10 ccm Jodlösung 9,75 . 0,01333 = 0,12996 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 Jodes erspart.

Ausführung der Bestimmung.

Das vorbereitete Destillat (wie S. 82 angegeben), bringt man in eine 250—500 ccm fassende Flasche mit gut eingeriebenem Stopfen, gibt 30 ccm Normalkalilauge und dann aus einer Bürette 20—30 ccm $^1/_{10}$ Jodlösung hinzu und schüttelt $^1/_4$ bis

$^1/_2$ Minute gut um, bis die Lösung klar erscheint. Nun säuert man mit soviel Kubikcentimeter Salzsäure (1,025) an, als man Kalilauge verbrauchte, wobei eine Braunfärbung eintreten muß; bleibt dieselbe aus, so war zu wenig Jod zugesetzt worden und man beginnt den Versuch ganz von neuem. Das ausgeschiedene Jod titriert man mit Natriumthiosulfat bis zur Gelbfärbung, setzt dann Stärkelösung hinzu und titriert weiter, bis die Blaufärbung eben verschwindet.

1 ccm der $^1/_{10}$ Jodlösung = 0,0967 Aceton.

3. Gasvolumetrische Bestimmung.

Prinzip.

Bringt man Phenylhydrazin mit heißer Fehlingscher Lösung zusammen, so wird sämtlicher Stickstoff frei, wobei gleichzeitig Benzol und Phenol entsteht. Ist aber Aceton vorhanden, so verbindet sich dieser Körper mit Phenylhydrazin, um Acetonhydrazon zu bilden, welches durch Fehlingsche Lösung nicht mehr zerlegt wird.

$$\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!\!>\!CO + H_2N\,.\,NHC_6H_5 = \begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!\!>\!C = N\,.\,NHC_6H_5 + H_2O\,.$$

Wird demnach eine Phenylhydrazinlösung von bekanntem Gehalte mit einer unbekannten Menge Aceton und hierauf mittels Fehlingscher Lösung behandelt, so wird eine dem gebildeten Acetonhydrazon entsprechende Menge Phenylhydrazin unzersetzt bleiben und mithin eine Verminderung des Stickstoffvolumens stattfinden. Diese von Strache stammende, von A. Jolles[1]) zu dem gleichen Zwecke empfohlene Methode läßt E. Riegler[2]) in folgender Weise vornehmen.

Man bringt 10 ccm einer Phenylhydrazinlösung (1 g salzsaures Phenylhydrazin : 50 ccm destilliertes Wasser) in das äußere Entwickelungsgefäß des Knop-Wagnerschen Azotometers (s. d.), fügt etwa 40 ccm destilliertes Wasser und mittels Pipette 10 ccm von einer 15 % Natronlauge hinzu. In das innere Gefäß läßt man 10 ccm von einer 15 % Kupfersulfatlösung mittels Pipette einfließen. Das Entwickelungsgefäß wird in das Kühlgefäß eingestellt und der Wasserspiegel in der Bürette auf 0 eingestellt. Nach Verlauf von 10 Minuten wird das Entwickelungsgefäß $^1/_2$ Minute kräftig geschüttelt und in das Kühlgefäß zurückgestellt. Nach weiteren 5 Minuten liest man, nachdem das Wasserniveau in beiden kommunizierenden Röhren gleich hoch gestellt wurde, die Anzahl der entwickelten Kubikcentimeter Stickstoff ab und notiert die Temperatur und den Barometerstand. Das abgelesene Volumen

[1]) Wien. med. Wochenschr. 1892. Nr. 17 u. 18.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1901. 40. 94.

wird auf 0° und 760 mm Druck reduziert = V_0 (s. Dietrichs Tabelle).

Um den Acetongehalt in einem Harne zu bestimmen, nimmt man davon 50 ccm, fügt 1 ccm Eisessig hinzu und destilliert. Das Destillat fängt man in einem Kölbchen auf, in welches man vorher genau 10 ccm der salzsauren Phenylhydrazinlösung und ungefähr 1 g krystallisiertes Natriumacetat gebracht hat. Man setzt die Destillation so lange fort, bis 40—45 ccm überdestilliert sind. Das Kölbchen wird nun auf einem Wasserbade etwa $^1/_4$ Stunde erwärmt; nach dem Abkühlen bringt man das Destillat in das äußere Entwickelungsgefäß des Azotometers und fügt mit einer Pipette 10 ccm von der 15% Natronlauge zu; in das innere Gefäß gibt man 10 ccm Kupfersulfatlösung. Es wird nun nach etwa 10 Minuten der Wasserspiegel auf 0 eingestellt, das Entwickelungsgefäß während $^1/_2$ Minute tüchtig geschüttelt, in das Kühlgefäß zurückgestellt, nach Ablauf von 5 Minuten und Gleichstellung des Wasserspiegels in den Büretten das entwickelte Stickstoffvolumen abgelesen und auf 0° bei 760 mm Druck reduziert = v_0.

Aus der Differenz der beiden Volumina ($V_0 - v_0$) läßt sich die Acetonmenge berechnen. 28 Gewichtsteile $N = 58$ Gewichtsteile Aceton; 1 ccm N bei 0°, 760 mm Druck gemessen = 2,6 mg Aceton. Die Differenz von $V_0 - v_0 . 2{,}6$ ergibt also die entsprechende Acetonmenge in Milligrammen. Sollte der auf Aceton zu untersuchende Harn mehr als 70 mg in 50 ccm enthalten, so muß man ein kleineres Volumen der Destillation unterwerfen.

Wahl der Methode.

Ich finde die titrimetrische Methode immer als die brauchbarste; auch ist sie einfach und angenehm in ihrer Ausführung.

Eigenschaften des Acetons.

Das Aceton ist eine obstähnlich riechende Flüssigkeit, die bei 56—57° siedet; es mischt sich mit Wasser, Alkohol und Äther, löst bei Gegenwart von Alkali frisch gefälltes Quecksilberoxyd, vereinigt sich mit sauren schwefligsauren Alkalien zu krystallinischen Verbindungen, wird leicht oxydiert zu Essigsäure und Ameisensäure, gibt mit Jod und Alkali Jodoform und färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure dunkelrot (Ehrlichsche Reaktion).

2. *Flüchtige Fettsäuren.*

Flüchtige Fettsäuren, und zwar vorwiegend Essigsäure, etwas Ameisensäure und Buttersäure sind in geringen Mengen in jedem normalen Harn enthalten; diese wurden auch im Harne der Tiere vorgefunden. Im normalen Harn beträgt nach Rokitansky der Gehalt an diesen Fettsäuren in der Tagesmenge (1500 g) im Durchschnitt 0,05 g; v. Jacksch 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 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 Kohlehydrate beteiligt, indem wahrscheinlich Kohlehydrate durch Vergärung oder durch Bakterien in diese flüchtigen Säuren umgewandelt werden, die unvollkommen zur Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser kommen; ja man hat gefunden, daß bei Diabetikern durch bakterielle Einwirkung infolge eines infektiösen Blasenkatarrhes der Harnzucker bereits in der Blase in Milchsäure und namentlich Buttersäure umgewandelt worden war. Auch die Fette müssen als Quelle für das Entstehen der Fettsäuren angesehen werden.

Ameisensäure fand sich im Harn von Diabetikern und Leukämischen,

Essigsäure in größerer Menge im Harn nach der alkalischen Gärung, auch kei akutem Gelenkrheumatismus und hohem Fieber.

Propionsäure wies v. Jacksch 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 Zuckerharne,

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

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

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 versetzten Menge ganz frischen Harnes durch Einleiten von Wasserdämpfen die flüchtigen Säuren und fängt das Destillat auf.

Man gibt in einen geräumigen Rundkolben den mit Phosphorsäure oder verdünnter Schwefelsäure im Überschuß angesäuerten Harn und läßt durch den Kolbeninhalt die in einem anderen Rundkolben entwickelten Wasserdämpfe streichen, die die flüchtigen Fettsäuren mitnehmen und abgekühlt in die Vorlage bringen. Man destilliert, bis das Übergehende nicht mehr sauer reagiert, neutralisiert das Destillat mit kohlensaurem Natron, verdampft zur Trockne und zieht den Salzrückstand wiederholt in der Wärme mit absolutem Alkohol aus. Fettsaures Natron, aber auch Benzoesäure und Phenole als Salze, gehen in Lösung. Diese wird verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, die wässerige Lösung nach starkem Abkühlen mit Schwefelsäure versetzt und bei 0° stehen gelassen. Ausgeschiedene Benzoesäure 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. Ist diese zugegen (s. Eigenschaften), so zerstört man diese in dem Destillate durch Kochen mit Quecksilberoxyd, sättigt dann mit kohlensaurem Natron, filtriert, konzentriert und läßt zum Auskristallisieren stehen; ist Essigsäure vorhanden, so scheidet sich essigsaures Natron aus, das als solches leicht durch die später angegebenen Reaktionen zu erkennen ist. Die Mutterlauge von der Ausscheidung des essigsauren Natrons säuert man mit Phosphorsäure an und destilliert wieder, gibt dann zum Destillat Barytwasser im Überschuß, leitet Kohlensäure bis zur neutralen Reaktion ein, erhitzt zum Kochen behufs

Zerlegung allenfalls gebildeten zweifach kohlensauren Baryts, filtriert und konzentriert auf ein kleines Volumen. Zuerst scheidet sich das buttersaure Salz, weiter das propionsaure Barytsalz aus. Zur genauen und quantitativen Trennung der höheren Säuren gibt die Analyse des erhaltenen Baryt- oder Silbersalzes Auskunft, die man durch fraktionierte Fällung herstellt. Hierzu dürften wohl aber kaum die im Harne vorhandenen Fettsäuren, auch wenn große Mengen Harn verwendet werden, ausreichen.

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

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

Man kann und wird sich in den meisten Fällen wohl begnügen, das nach der eben angegebenen Methode erhaltene Destillat mit $^1/_{10}$ Normallauge zu titrieren und den Verbrauch der hierzu nötigen Kubikzentimeter anzugeben. In diesem neutralisierten Destillate kann man, wie angegeben, auf die einzelnen Säuren prüfen.

Eigenschaften und charakteristische Reaktionen.

Ameisensäure. H—COOH.

Riecht stechend, siedet bei 99°.

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

1. Erwärmt man die 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.
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 Kohlensäureentwickelung Abscheidung von metallischem Quecksilber statt.

1 ccm $^1/_{10}$ Normalkalilauge = 0,0046 g CH_2O_2.

Trennen läßt sich die Ameisensäure auch durch die Unlöslichkeit des Zinksalzes in absolutem Alkohol (Haberland).

Essigsäure. $CH_3 . COOH$.

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

1. Mit konzentrierter Schwefelsäure und etwas Alkohol gelinde erwärmt entwickelt sich der charakteristische Geruch nach Essigäther.
2. Eisenchlorid färbt, wie aber auch die Ameisensäure, tief rot,
3. Erhitzt man ein essigsaures Salz mit Arsenigsäureanhydrid trocken in einem Reagensglase, so entsteht Kakodyloxyd, eine Substanz von penetrantem Geruche.

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

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

Propionsäure $CH_3 . CH_2 . COOH$.

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

Barytsalz enthält 48,47 % Baryum,
Silbersalz „ 59,63 % Silber.

Buttersäure. $C_3H_7 . COOH$.

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

Charakteristisch ist das Silbersalz, ein weißgelblicher kristallinischer Niederschlag.

Barytsalz enthält 44,10 % Baryum,
Silbersalz „ 55,34 % Silber.

Baldriansäure. $C_4H_9 . COOH$.

Riecht nach Baldrian oder faulem Käse, siedet bei 175° C.; die Salze kristallisieren leicht.

Barytsalz enthält 40,46 % Baryum,
Silbersalz „ 51,63 % Silber.

3. *Fett.*

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

Bei ersterer Krankheit, die vorwiegend in tropischen Ländern vorzukommen pflegt, und die wohl teils auf einer chylösen Blutmischung, teils auf einer eigentümlichen Durchlässigkeit der Nierenkapillaren beruht, werden mit dem Harn die Bestandteile des Chylus, Fett, Lymphzellen, Blutkörperchen, gelöstes Eiweiß entleert; in diesen Fällen kann der Harn sein normales Aussehen verlieren und milchigweiß werden; hier ist das Fett stets innig mit Eiweiß gemischt. Außer Eiweiß sind Cholesterin und Lecithin nachgewiesen worden.

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

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

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 kristallisierter Form, in Form von Nadeln vor (Fettentartung der Nieren und bei septischen Prozessen).

Gewinnung und Nachweis des Fettes, auch quantitative Bestimmung.

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

1. Man schüttelt eine Probe (100 ccm oder mehr) in einem Scheidetrichter mit 100 ccm (oder entsprechend der angewendeten Menge) Äther tüchtig 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 sehr verdünnten wässerigen Kalilauge durchschüttelt, die wässerige Lösung von der ätherischen getrennt, letztere noch mit Wasser gewaschen, auch dieses entfernt, und die durch ein kleines Filter filtrierten ätherischen Lösungen (das Filter wäscht man mit etwas Äther nach) in einem Kolben durch Abdestillieren zum größten Teile vom Äther befreit. Die Lösung im Kolben 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 Papierpatrone im Soxhletschen Extraktionsapparat 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.
3. Mikroskopisch erscheint das Fett in kreisrunden, verschieden großen Tropfen mit glatten Konturen; im auffallenden Lichte sind die Tropfen weiß und silberglänzend und lösen sich in Äther, Unterschied von Leucin (s. d.), das ähnlich unter dem Mikroskope aussieht. S. mikroskopische Prüfung.

Eigenschaften.

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

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

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

Acetylessigsäure oder Acetessigsäure erscheint im Harne zum größten Teil an Ammoniak gebunden in Begleitung von Aceton und β-Oxybuttersäure, aus welcher sie entsteht; die drei genannten Stoffe sind Produkte von zerfallenem Eiweiß im Organismus; Acetessigsäure ohne Aceton wird selten oder nie beobachtet. 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 Infektionskrankheiten, in denen viel Eiweiß zur Zersetzung kommt.

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

Nachweis.

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

1. Versetzt man den angesäuerten und filtrierten Harn tropfenweise (1—2 Tropfen) mit einer mäßig konzentrierten Lösung von Eisenchlorid, filtriert den Niederschlag vom Eisenphosphat ab und fügt zum Filtrate nochmals die gleiche Menge Eisenchlorid hinzu, so zeigt das Filtrat bei Anwesenheit von Acetessigsäure eine bordeauxrote Färbung, die durch 2 Minuten langes Kochen verschwinden muß. (Gerhardt.)

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

Beurteilung.

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

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

Nachweis von Acetessigsäure im Harn n. W. H. Hurtley.

10 ccm des zu prüfenden Harns werden mit 2,5 ccm 10facher HCl u. einem ccm einer Lösung von Natrium-nitrit (1:1000) versetzt. Dann läßt man 2 Min. stehen u. fügt 15 ccm einer Mischflüssigkeit hinzu (5 ccm einer 10%igen Ferrosulfatlösung, bei Gegenwart von Acetessigsäure nimmt die Mischung allmählich eine mittels bis purpurrote Färbung an. Acetessigsäure-Aethylester gibt diese Reaktion nicht.

efelsäure an und schüttelt mit die Acetessigsäure; mit einer sehr wird letztere violettrot gefärbt; eauxrote Färbung. Mit dieser icylsäure könnte dem angesäuerten werden; in diesen Lösungsmitteln

odif. von L. Lipliawsky[2]).

acetophenon (+ 2 ccm kon- ng). Vor dem Gebrauch stets

der zweiten Lösung umen Harn und schüttelt nmoniak kräftig durch. ung nimmt man 0,5—2 ccm lzsäure, 3 ccm Chloro- loridlösung hinzu, wo- und vorsichtig zur Ver- n bewegt. Ist Acetessig- orhanden, so nimmt das arineblauen Farbenton oder schwach rötlich ge- sich durch große Licht-

urch Salicylsäure und die anderen 3t.
e Arnoldsche Reaktion ebenfalls; m einer 1 %, mit 2 g konzentrierter g werden mit 1 ccm 1 % Natrium durch Tierkohle entfärbter Harn schüttelt; bei wenig Acetessigsäure r Anwesenheit sogar ein amorpher ccm der braunen Lösung ca. ritt Purpurviolettfärbung ein. nts. Die Reagentien sind im

dickliche, farblose, stark nen des Acetons gibt und leicht in Aceton und Kohlensäure zerfällt.

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1899. **12.** 541.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 151.

Nachweis von Acetessigsäure im Harn n. W. H. Hurtley.

10 ccm. des zu prüfenden Harns versetzt mit 2,5 ccm. Aether + HCl u. einem ccm. einer Lösung von Natrium-nitrit (1:1000) vermischt. Nun bis 2 Min. stehen u. fügt 10 ccm. Eisenchloridlösung hinzu u. 5 ccm. einer 10 %igen Formalinlösung. Bei Gegenwart von Acetessigsäure nimmt die Mischung allmählich eine violette bis purpurrote Färbung an. Aceton gibt diese Reaktion nicht.

Acetessigsäure-Aethylester gibt eine rote Färbung.

Säuert man ferner den Harn mit Schwefelsäure an und schüttelt mit Äther, so enthält die abgehobene Ätherschicht die Acetessigsäure; mit einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung geschüttelt, wird letztere violettrot gefärbt; ein weiterer Eisenchloridzusatz bewirkt bordeauxrote Färbung. Mit dieser Probe noch 0,01% nachweisbar. Vorhandene Salicylsäure könnte dem angesäuerten Harn durch Benzol oder Chloroform entzogen werden; in diesen Lösungsmitteln ist die Acetessigsäure unlöslich.

2. Methode von V. Arnold[1]), modif. von L. Lipliawsky[2]).

Man benötigt 2 Lösungen:

1. Eine 1% Lösung von Paramidoacetophenon (+ 2 ccm konzentrierter Salzsäure behufs leichterer Lösung). Vor dem Gebrauch stets zu schütteln.

2. Eine 1% Kaliumnitritlösung.

Ausführung.

6 ccm der ersten und 3 ccm der zweiten Lösung versetzt man mit dem gleichen Volumen Harn und schüttelt nach Zugabe eines Tropfen Ammoniak kräftig durch. Von der ziegelrot gefärbten Mischung nimmt man 0,5—2 ccm und setzt ca. 15—20 ccm konz. Salzsäure, 3 ccm Chloroform und 2—4 Tropfen Eisenchloridlösung hinzu, worauf man das Reagensglas 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.

Beurteilung.

Diese Reaktion ist empfindlich und wird durch Salicylsäure und die anderen bei 1. angegebenen Medikamente nicht beeinflußt.

E. Allard und R. Kobert empfehlen die Arnoldsche Reaktion ebenfalls; Kobert nimmt sie in folgender Weise vor. 2 ccm einer 1%, mit 2 g konzentrierter Salzsäure versetzten Paramidoacetophenonlösung werden mit 1 ccm 1% 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 ca. 10—12 ccm starke Salzsäure hinzu, so tritt Purpurviolettfärbung ein. Gelbe oder rotgelbe Färbung bedeutet nichts. Die Reagentien sind im Dunkeln zu verwahren.

Eigenschaften.

Die Acetessigsäure bildet eine dickliche, farblose, stark sauere Flüssigkeit, die alle Reaktionen des Acetons gibt und leicht in Aceton und Kohlensäure zerfällt.

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1899. **12.** 541.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 151.

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 inaktiven 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. Im normalen Harn fehlt die Milchsäure stets; sie entsteht, wenn Sauerstoffmangel im Organismus eintritt, wenn die Leber das milchsaure Ammon infolge Erkrankung nicht in Harnstoff umzuwandeln vermag.

Die Fleischmilchsäure wurde bei akuter Phosphor- und Kohlenoxydgasvergiftung, akuter gelber Leberatrophie, überhaupt bei besonders schweren Leberkrankheiten, auch im Harn von Epileptikern nach einem Anfall (neuerdings wieder von K. Inoye und T. Saiki[1]) nachgewiesen) und nach starken körperlichen Anstrengungen im Harne vorgefunden.

Darstellung und Nachweis.

Der Harn wird im Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit 95% Alkohol wiederholt in der Wärme ausgezogen. Aus der alkoholischen Lösung destilliert man den Alkohol ab, säuert den Syrup mit Phosphorsäure stark an und schüttelt wiederholt mit größeren Mengen Äther aus. Der nach dem Abdestillieren des Äthers verbleibende Rückstand wird mit Barytwasser neutralisiert, diese Lösung filtriert, auf ein kleines Volumen eingedunstet und das Bariumsalz mit absolutem Alkohol ausgefällt. Das Laktat wird gesammelt, mit absolutem Alkohol ausgewaschen, getrocknet, hierauf mit einer entsprechenden Menge Phosphorsäure digeriert und von neuem mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. (Der im Wasser gelöste Ätherrückstand kann auch eine halbe Stunde auf dem Wasserbade mit kohlensaurem Blei oder frisch gefälltem Bleioxyd-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1903. 37. 203.

hydrat erhitzt und das nach dem Erkalten gewonnene Filtrat durch Schwefelwasserstoff zersetzt werden. Das Filtrat vom Bleisulfid wird nach der Konzentration wiederholt mit Äther ausgeschüttelt.) Die nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibende Milchsäure wird mit Wasser aufgenommen, Zinkkarbonat hinzugegeben, digeriert, das Filtrat zur Kristallisation verdunstet und die ausgeschiedenen Kristalle mit wenig absolutem Alkohol gewaschen. Die Kristallform, der Metallgehalt, besonders aber der Gehalt an Kristallwasser geben Anhaltspunkte zur Identifizierung als Milchsäure. Das milchsaure Zink bildet beiderseits abgestumpfte Keile. Die fleischmilchsauren Salze drehen links.

Es empfiehlt sich, um sich nicht durch andere Säuren (aromatische Oxysäuren) etwa Milchsäureanwesenheit vortäuschen zu lassen, das Kristallwasser des Zinksalzes zu bestimmen; dieses kristallisiert mit 2 Mol. Kristallwasser, die bei 105° entweichen. Man läßt die mit wenig absol. Alkohol gewaschenen Kristalle an einem staubfreien Platze lufttrocken werden und bestimmt in einer abgewogenen Menge durch Trocknen bei 105° während $2^1/_2$ Stunden das Kristallwasser; es muß das Salz genau 12,9% seines Gewichtes verlieren.

F. Araki[1]) empfiehlt zur weiteren definitiven Bestätigung von vorhandener Milchsäure, einen Teil des Zinklaktats mit 3 Teilen Wasser und 1 Teil konz. Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohr 8 Stunden auf ca. 150° zu erhitzen und auf die Spaltungsprodukte, Ameisensäure und Aldehyd zu prüfen. Man neutralisiert, destilliert den Aldehyd ab (gut kühlen) und prüft das Destillat auf Aldehydanwesenheit (mit schwefliger Säure entfärbte Fuchsinlösung wird rot, ammoniakalische Silberlösung bei Vorhandensein von freiem Alkali wird geschwärzt). Den Kolbenrückstand säuert man mit verdünnter Schwefelsäure stark an und destilliert diesmal die Ameisensäure über, deren Nachweis S. 88 sich angegeben findet.

Die Uffelmannsche Reaktion ist nicht für Milchsäure allein zutreffend; diese geben auch Essigsäure, Buttersäure, ebenso Alkohol und Zucker.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895. **19.** 434.

Eigenschaften.

Ein in Wasser, Alkohol, Äther löslicher Sirup, verflüchtigt sich in geringen Mengen mit Wasserdämpfen. Das Zinksalz kristallisiert in glänzenden Prismen mit 2 Mol. Kristallwasser. Eine 2—4% wässerige durch etwas Eisenchlorid violett gefärbte Phenollösung wird durch Milchsäure gelb. (Uffelmann.) Die Fleischmilchsäure gibt die Liebensche Jodoformprobe nicht, wie die Gärungsmilchsäure; letztere, auch in Salzen, ist optisch inaktiv; die fleischmilchsauren Salze drehen links.

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

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

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

Als regelmäßige Begleiter des Cystins im Harn sind das Kadaverin und das Putrescin zu nennen. Es scheinen Mikroorganismen die Eiweißfäulnis im Darm in der Weise zu beeinflussen, daß die Diamine und das Cystin entstehen, daß die Oxydation des leicht abspaltbaren Eiweißschwefels eben nur zum Teile erfolgt und ein größerer oder geringerer Teil in organischer Bindung (Cystin) ausgeschieden wird.

Die Ausscheidung des Cystins ist in Bezug auf ihre Menge großen Schwankungen unterworfen, kann aber bis 0,5 g und mehr im Tage betragen. Die Cystinurie, die als selbständige Krankheit, aber auch als Begleiterin verschiedener Krankheiten

auftreten kann, findet sich beim männlichen Geschlechte häufiger als beim weiblichen und häufiger in der Jugend als im Alter, manchmal bei mehreren Mitgliedern der gleichen Familie. Reichliche Cystinausscheidung hat man nach Phosphorvergiftungen beobachtet. Bei der Fäulnis der Cystinharne bildet sich als Zersetzungsprodukt des schwefelhaltigen Körpers, der jedenfalls aus dem Eiweißschwefel entsteht, Schwefelwasserstoff.

Über Cystinsteine und Cystinsedimente s. unter diesen Namen.

Was die Entstehung betrifft, so ist, wie schon erwähnt, unter allen Umständen das Cystin, wie das Cystein, als ein Umwandlungsprodukt der Eiweißkörper, und zwar als Zwischenstufe des Proteinschwefels und der Schwefelsäure zu betrachten.

Darstellung, Nachweis und Bestimmung.

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

Prinzip.

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

$$\left(C_6H_5 \cdot CO \cdot HN\!>\!S\!>\!C\!<\!\begin{matrix}CH_3\\COOH\end{matrix}\right)_2,$$

das sich in Äther löst.

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

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 254.

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 vorfinden.

Zur Unterscheidung von der Harnsäure unter dem Mikroskope läßt man vorsichtig vom Rande des Deckglases einen Tropfen Ammoniak zufließen; sofort lösen sich die Cystinkristalle, während Harnsäure ohne Erwärmen sich nicht ändert; nach dem Verdampfen des Ammoniaks kristallisiert 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.

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).

3. Cystin unter schwachem Erwärmen in Kalilauge gelöst, gibt nach dem Erkalten und Verdünnen mit Wasser auf Zusatz von Nitroprussidnatrium eine violette Färbung.

4. Cystin verbrennt auf dem Platinblech mit blaugrüner Farbe und Geruch nach Blausäure.

Quantitative Bestimmungen des Cystins.

Sämtliche hierzu empfohlenen Methoden geben ungenaue Resultate; eine wirklich einwandfreie Methode existiert bis jetzt nicht.

1. Indirekte Methode.

Man bestimmt nach S. 63 den Gesamtschwefel und die Gesamtschwefelsäure in der Harnprobe. Die Quantität des nicht in Form schwefelsaurer und ätherschwefelsaurer Salze vorhandenen Schwefels beträgt sonst ca. 17,2%; diese Menge zieht man von dem gefundenen Schwefel ab; der Rest entspricht dem im Cystin vorhandenen Schwefel.

2. Nach v. Udránszky und Baumann[1]) neutralisiert man den Ätherrückstand des nach S. 97 gewonnenen Benzoylcystins mit 12% Natronlauge, gibt zu dieser Lösung noch das doppelte Volumen der gleichen Natronlauge und kühlt auf 0° ab. Nach ca. 12—14 stündigem Stehen filtriert man das ab-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. 15. 88.

geschiedene, in Natronlauge unlösliche Natronsalz des Benzoylcystins — glänzende Blättchen — ab, wäscht mit wenig kalter Natronlauge, löst dann in Wasser (600 ccm) und fällt aus dieser Lösung mit Salzsäure das Cystin, das sich gallertig 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. 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.

Eigenschaften.

Das Cystin krystallisiert in schönen farblosen, sechsseitigen Täfelchen (s. Sedimente) oder auch Prismen, ist in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, in Ammoniak und den einfach- und doppeltkohlensauren Alkalien und Alkalihydroxyden löslich; Lösungen des Cystins drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links (in salzsaurer Lösung $[\alpha]$ D = 205,9°), doch ist cystinhaltiger Harn nur schwach linksdrehend (einige Minuten) wie der normale Harn. Erhitzt, zersetzt sich das Cystin. Beim Behandeln des Cystins mit Zinn und Salzsäure wird es in Cystein verwandelt, 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.

[1]) Zeitschr. physiol. Chemie. 1895. **20.** 504.
[2]) Ebenda. 1894. **19.** 511.

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

Diese Säure, ein Produkt von zerfallenen Eiweißstoffen des Organismus, findet sich besonders in schweren Fällen von Diabetes und hier in manchmal großer Menge; auch bei anderen Krankheiten, Scharlach, Masern, Diphtherie, bei Skorbut wurde sie vorgefunden.

Nach Magnus Levy bildet sich die β-Oxybuttersäure nicht aus Eiweiß, sondern aus Fett durch Abbau, und zwar in den Muskeln der Leber u. s. w. Mit der Oxybuttersäure treten größere Mengen von Ammoniak auf. Weiterhin hat die β-Oxybuttersäure auch noch deshalb Interesse, weil sie die Ebene des polarisierten Lichtes nach links dreht (spez. Drehung im Mittel $[\alpha]\ D = -24{,}12^0$) und die quantitative Bestimmung des Harnzuckers durch Polarisation beeinträchtigen und unmöglich machen kann. In der 24stündigen Harnmenge von Diabetikern wurden von Külz 19—50 g, von Wolpe 15—16 g nachgewiesen.

Die Oxybuttersäure wird stets von Acetessigsäure begleitet.

Darstellung und Nachweis.

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

1. Nach Stadelmann[1]) vergärt man diabetischen Harn, kocht zur Entfernung des Harnstoffes mit frisch gelöschtem Kalk, bis sich kein Ammoniak mehr entwickelt, dampft ein und zieht den Rückstand mit Alkohol aus. Aus dem Verdunstungsrückstande, den man mit Schwefelsäure ansäuert, wird die β-Oxybuttersäure mit Äther ausgeschüttelt, der Rückstand der verdampften ätherischen Lösung in Wasser gelöst und mit kohlensaurem Zink auf dem Wasserbade erwärmt. Man filtriert und konzentriert auf dem Wasserbade; das Zinksalz kristallisiert gut, ist in absolutem Alkohol schwer löslich und bildet Nadeln. Aus dem Zinksalz erhält man durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die freie Säure, deren Lösung im Polarisationsapparate links dreht.

[1]) Zeitschr. Biolog. **23.** 457.

Külz[1]) stellt aus dem Ätherrückstande das Bleisalz der Säure her (vorsichtiger Zusatz von basisch essigsaurem Blei), zersetzt dieses mit Schwefelwasserstoff und führt die im Verdampfungsrückstande vorhandene Säure in das Barytsalz und dann durch Silbersulfat in das Silbersalz über, das durch Umkristallisieren gereinigt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Beim Abdampfen des Filtrates hinterbleibt die Säure als farbloser Sirup.

2. Ein weiterer Nachweis beruht auf der Bildung von α-Krotonsäure aus β-Oxybuttersäure. Man dampft nach Külz den Harn — nach dem Vergären des vorhandenen Zuckers — zum Sirup ein und destilliert den mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure vermischten Rückstand; das Destillat fängt man ohne jede Kühlung in einem Reagensglase auf; durch starkes Abkühlen des Destillates kann die α-Krotonsäure kristallinisch 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) und Phenole entfernt.

Quantitative Bestimmung.

1. Nach P. Bergell.[2])

Ausführung.

100—300 ccm Harn werden, nachdem vorhandener Zucker durch Gärung entfernt ist, mit Soda schwach alkalisch gemacht, zum Sirup eingedampft und der Sirup nach dem Erkalten mit sirupöser Phosphorsäure, 20—30 g entwässertem Kupfersulfat und 20—25 g feinem Sand verrieben. Die so getrocknete Masse wird in einer Papierpatrone im Soxhletschen Extraktionsapparat eine Stunde lang mit durch geglühtes Kupfersulfat entwässertem Äther 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. (Spezif. Drehung $[\alpha]D = -24{,}12°$.)

[1]) Zeitschr. Biolog. **23.** 329.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **33.** 310.

2. Nach E. Darmstädter.[1])

Prinzip.

Beruht auf der Zerlegung der β-Oxybuttersäure in Wasser und Krotonsäure durch konzentrierte Mineralsäuren.

Ausführung.

100 ccm Harn werden nach dem Alkalischmachen mit Soda bis fast zur Trockne eingedampft. Den Rückstand löst man in 150—200 ccm Schwefelsäure (50—55%) und destilliert innerhalb 2—$2^1/_2$ Stunden 300—350 ccm Flüssigkeit ab, indem man aus einem im Destillierkolben befindlichen Scheidetrichter Wasser entsprechend der abdestillierten Menge zufließen läßt. Das Destillat wird 2—3mal mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung verdunstet und der Rückstand auf ca. 160° erhitzt, um allenfalls vorhandene Fettsäuren zu entfernen. Man löst dann in 50 ccm Wasser, filtriert und titriert mit $^1/_{10}$ Natronlauge.

1 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH = 0,0086 g Krotonsäure. Oxybuttersäure = 1,21 Krotonsäure.

Beurteilung.

Die Resultate sollen sehr genau sein.

Eigenschaften.

Farb- und geruchloser Sirup, auch in glashellen plattenförmigen Kristallen kristallisierend, einbasische Säure, dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; mit Schwefelsäure oder schon mit Wasser erhitzt, bildet sich α-Krotonsäure; durch Oxydation liefert die Oxybuttersäure Aceton. Die Salze sind leicht löslich in Wasser.

8. ***Leucin, α-Amidocapronsäure.*** $C_6N_{13}NO_2$ oder $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!\!>\!CH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$.

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

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

Außer Cystin treten als weitere Amidosäuren im Harne zwei unmittelbare Spaltungsprodukte der Eiweißkörper auf, das Leucin und das Tyrosin.

Beide Stoffe pflegen gewöhnlich gemeinsam im patho-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902/03. 37. 355.

logischen Harne vorzukommen; im normalen Harne fehlen dieselben.

Sie kommen vor bei starkem, rapidem Zerfalle des Lebergewebes, so bei akuter gelber Leberatrophie und auch bei anderen Leberkrankheiten, bei akuter Phosphorvergiftung; bei schwerem Typhus, bei Pocken sollen dieselben auch im Harne auftreten.

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

Darstellung, Bestimmung und Nachweis.

Zum sicheren Nachweise dieser Stoffe im Harne ist es nötig, dieselben wenigstens einigermaßen von anderen zu isolieren, da z. B. die im Harne vorhandenen anderen Stoffe (Oxysäuren) die Hoffmannsche Probe, wie die Chinonprobe ebenso geben, wie im Harne gelöstes Tyrosin.

Nach Frerichs, Staedeler, Schotten.[1])

Der eiweißfreigemachte Harn (250—500 ccm, eventuell größere Mengen) wird mit Bleiessig ausgefällt, hierauf filtriert, das Filtrat vom überschüssigen Blei durch Einleiten von Schwefelwasserstoff befreit und der Schwefelwasserstoff durch Durchleiten von Luft entfernt. Man konzentriert das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag möglichst stark und zieht den Rückstand zur Entfernung des Harnstoffs mit kleinen Mengen absoluten Alkohols aus; der ungelöste Rückstand wird mit schwächerem ammoniakalischem Alkohol ausgezogen, die Flüssigkeit eingedampft und der Kristallisation 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 gebrachte Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag mit etwas Salzsäure aufkocht, erkalten

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

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 zur Kristallisation stehen gelassen. Die eventuell ausgeschiedenen Kristalle untersucht man chemisch wie mikroskopisch auf Tyrosin und Leucin.

Bemerkt sei noch, daß man die beiden Körper zweckmäßig durch wenig Alkohol trennen kann, in welchem sich das Leucin leichter löst als das Tyrosin. Sollte das Tyrosin stark gefärbt sein, so löst man es in heißem, mit viel Ammoniak versetztem Alkohol, welcher die färbenden Substanzen löst; beim Konzentrieren der Lösung im Wasserbade scheidet sich das Tyrosin in fast reinen Kristallen aus.

Wären die Kristallisationen 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 und kocht dasselbe nach Zusatz von frisch gefälltem Kupferoxydhydrat auf. Es kann nun ein Teil des Leucins im Kupferniederschlag, ein anderer im Filtrat sein; den Niederschlag verteilt man in Wasser, zerlegt denselben 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 Filtrat vom Kupferniederschlag) gewinnt man das Leucin, wie eben bei der Behandlung des Niederschlages angegeben.

Durch Umkristallisieren mit ammoniakhaltigem Alkohol gelingt noch weitere Reinigung.

Vollkommen rein kann man das Leucin erhalten durch Herstellung des Leucinäthylesters nach E. Fischer[1]); mit den im Harn vorhandenen Mengen dürfte aber dieser Ester wohl kaum zu erhalten sein.

Habermann und Ehrenfeld[2]) empfehlen zur quantitativen Bestimmung das Erhitzen des Gemisches der beiden isolierten Körper am Rückflußkühler mit einem Alkoholeisessiggemisch. Hierbei geht das Leucin sehr leicht in Lösung, während sich das Tyrosin am Boden des Gefäßes als pulverige Masse ausscheidet, die eventuell mit der Luftpumpe abfiltriert werden kann.

Nachweis des Leucins.

1. Eine kleine Probe des möglichst gereinigten Leucins (Umkristallisieren aus Alkohol) verdampft man vor-

[1]) Berl. Ber. 1901. **34.** 433.
[2]) Pharm. Centrlh. 1903. **44.** 139.

sichtig auf dem Platinbleche mit Salpetersäure, wobei ein fast ungefärbter und unsichtbarer Rückstand bleibt. Beim Erwärmen des Rückstandes löst sich derselbe je nach dem Grade seiner Reinheit zu einer gar nicht oder mehr oder weniger gefärbten Flüssigkeit, die sich beim vorsichtigen Erwärmen auf dem Platinblech über der Flamme zu einem ölartigen dem Platinblech nicht adhärierenden herumrollenden Tropfen zusammenzieht (Scherer).

2. Im Reagenzglase über der Flamme erhitzt, sublimiert das Leucin zum Teil in weißen, wolligen Flocken, die sich an der Glaswandung niederschlagen unter Entwickelung eines Geruches nach Amylamin.
3. Die Leucinkristalle lösen sich in Ätzkali, nicht in Äther (Unterschied von Fett, womit sie verwechselt werden können).

Eigenschaften des Leucins.

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

Leucin löst sich schwer in kaltem Wasser, noch schwerer aber in Alkohol, dagegen leicht in Säuren und Laugen. Bei schwachem Erhitzen (170°) sublimiert das Leucin zu wolligen flockigen Massen unter Verbreitung eines eigentümlichen Geruches (Amylamin). Das natürlich vorkommende Leucin (das l-Leucin) dreht in wässeriger Lösung links, in saurer und alkalischer Lösung rechts. Durch salpetrige Säure wird der gesamte Stickstoff frei gemacht. Charakteristisch ist der Äthylester und das in Wasser sehr schwer lösliche in blaßblauen Schüppchen kristallisierende Leucinkupfer, beim Kochen von Leucin mit Kupferacetat entstehend.

Nachweis des Tyrosins.

1. Eine heiß bereitete Tyrosinlösung gibt mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kali einen roten Niederschlag, die überstehende Flüssigkeit ist rosen- bis purpurrot (Hoffmanns Probe).

2. Eine siedende wässerige Tyrosinlösung färbt sich mit 1% Essigsäure, dann tropfenweise mit 1% Natriumnitrit versetzt, schön rot; mit etwas trockenem Chinon wird die heiße wässerige Tyrosinlösung rubinrot (Wurster).
3. Man läßt zu 2 ccm reiner Schwefelsäure 3—5 Tropfen reiner Aldehydlösung (5 ccm Acetaldehyd: 10 ccm Weingeist) in einem Reagenzglas 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.[1])
4. Erwärmt man Tyrosin mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure ca. $^1/_2$ Stunde im Wasserbade, setzt dann Wasser zu und neutralisiert mit Bariumkarbonat, so erhält man ein farbloses Filtrat, das nach dem Konzentrieren in der Kälte auf Zusatz von verdünnter säurefreier Eisenchloridlösung schön violett wird (Piria).
5. Sedimente, Tyrosin kristallisiert enthaltend, werden mit Wasser gewaschen, dann in Ammoniak unter Zusatz von kohlensaurem Ammon gelöst und das Filtrat verdunsten lassen; aus ammoniakalischer Lösung kristallisiert das Tyrosin in Büscheln deutlicher Prismen als Ammonverbindung.

Eigenschaften.

Das Tyrosin kristallisiert aus wässeriger Lösung in farblosen, seidenglänzenden, feinen mikroskopischen Kristallnädelchen, die zum Teil garbenartige Gebilde vorstellen, von denen je zwei Garben in Kreuzform übereinander liegen können (s. Sedimente); sie fließen nie zu Kugeln zusammen (Unterschied von Leucin). Aus ammoniakalischem Alkohol scheidet es sich als Ammonsalz in deutlichen büschelförmigen Prismen aus.

In Wasser (kaltem) und Alkohol ist es schwer, in Äther unlöslich; leicht löslich ist es in Säuren und kohlensauren Alkalien, auch in ammoniak- oder salzsäurehaltigem Alkohol.

[1]) Bull. de la Soc. pharm. de Bordeaux 1901.

Beim Eindampfen mit Salpetersäure entsteht neben Oxalsäure gelbes salpetersaures Nitrotyrosin, das sich mit Kali oder Ammoniak rotbraun bis schwarzbraun färbt. Das natürlich vorkommende Tyrosin dreht die Polarisationsebene nach links.

10. Der Harnstickstoff.

Der im Harne zur Ausscheidung kommende Stickstoff schließt eine Reihe verschiedener Stoffe ein, die man wohl gemeiniglich mit dem Namen „stickstoffhaltige Endprodukte" zu bezeichnen gewohnt ist. Als solche sind zu nennen der Harnstoff, die Harnsäure, das Kreatinin, die Purinbasen, das Ammoniak, sowie einige erst seit neuerer Zeit bekannt gewordene Stoffe, die Oxyproteinsäure und die Alloxyproteinsäure. Von diesen genannten Stoffen ist allerdings der Harnstoff diejenige Stickstoffverbindung, die in weitaus reichlichster Menge vorkommt und infolge dessen auch als das wichtigste stickstoffhaltige Endprodukt der Zersetzung von Eiweißstoffen im Organismus zu betrachten ist, da ca. 84 bis 86 % des Stickstoffes als Harnstoff den Organismus im Harne verlassen, während die übrigen Prozente auf die genannten anderen stickstoffhaltigen Endprodukte des Stoffwechsels entfallen, davon 3 % auf vorhandenes Ammoniak.

Von Gesunden werden in der Tagesmenge Harn ca. 11 bis 15 g Stickstoff ausgeschieden.

Es ist selbstverständlich, daß die Kenntnis des ausgeschiedenen Stickstoffes zur Berechnung und Bestimmung des Eiweißumsatzes und des Nutzungs- und Nährwertes einer Nahrung von nicht zu unterschätzender Bedeutung ist. Hierzu 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, als zur Resorption gelangt, im Körper zersetzt und kommt im Harn und Kot zur Ausscheidung.

Unter pathologischen Fällen, bei Diarrhöen, Fieber, Schweiß, Erkrankung der Nieren und des Herzens erscheint nicht aller Stickstoff im Harne; bei Resorption von stickstoff-

haltiger Flüssigkeit, von Exsudaten, ist dieser Stickstoff aber wieder sehr vermehrt.

Aus diesem eben Erwähnten geht hervor, daß man am zweckmäßigsten die Gesamtstickstoffbestimmung für die angegebenen Zwecke in Anwendung ziehen wird und nicht die des in seiner Menge doch auch wechselnden Harnstoffes allein, umsomehr, als uns für die erstgenannte Bestimmung eine vollkommen einwandfreie Methode, die Kjeldahl'sche, zur Verfügung steht, während die in so verschiedenen Formen und Ausführungen empfohlenen Harnstoffbestimmungsmethoden sämtlich diese Genauigkeit nicht beanspruchen können.

Daß es in besonderen Fällen von Interesse sein wird, einen annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harne zu gewinnen, läßt sich nicht leugnen und hierzu fehlt es auch nicht an Methoden.

Quantitative Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

1. Bestimmung nach Kjeldahl.[1])

Prinzip.

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

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.
2. Salpetersäurefreie Natronlauge von 1,35 spez. Gew. (270 g NaOH im Liter).
3. Schwefelkaliumlösung (40 Teile Kalium sulfuratum in 1 Liter).
4. $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. S. 37.
5. $^1/_{10}$ Normalkalilauge. S. 36.
6. Metallisches Quecksilber.

Ausführung.

Je nach der Konzentration des Harnes werden 5 oder 6 ccm desselben in einem ungefähr 200—300 ccm fassenden Kölbchen (Fig. 20) mit rundem Boden mit 20 ccm der Schwefelsäuremischung unter Zusatz eines Tropfens von metallischem Quecksilber versetzt, und die Mischung in dem schiefgestellten Kölbchen auf einem Drahtnetze mit einer anfangs kleineren,

[1] Zeitschr. analyt. Chem. 1883. **22.** 366.

später größeren Flamme so lange erhitzt, bis die Flüssigkeit ganz farblos geworden ist. Das Kölbchen ist mit einer gestielten Glaskugel verschlossen. Nach dem Abkühlen spült man den Inhalt des Kölbchens mit wenig Wasser in den ca. 750 ccm fassenden Destillierkolben (Erlenmeyer), spült das Kölbchen möglichst oft aus, damit nichts zurückbleibt, verdünnt noch bis ca. 250 ccm und setzt nach dem Erkalten oder Abkühlen rasch 80 ccm der Natronlauge, 25 ccm Schwefelkaliumlösung bezw. soviel, daß alles Quecksilber als Schwefelquecksilber ausgefällt ist und die Flüssigkeit schwarz erscheint, dann einige dünne Stückchen Zink zur Vermeidung allenfallsigen Stoßens zu und verbindet rasch mit dem Destillationsrohr (Fig. 21). Letzteres

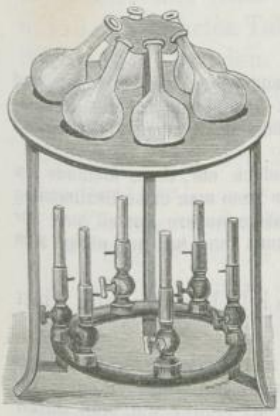


Fig. 20.

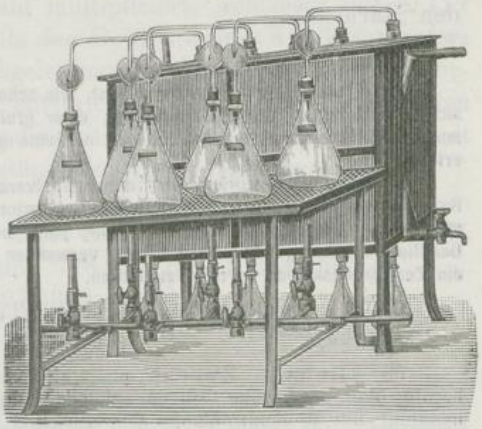


Fig. 21.

taucht in einen 450—500 ccm fassenden Erlenmeyerkolben oder in ein Becherglas, welches 50—100 ccm $^1/_{10}$ 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 das Glas mit der Schwefelsäure tiefer. Nachdem etwa 100 ccm Flüssigkeit abdestilliert sind, spritzt man das in die Säure anfangs getauchte Rohr mit destilliertem Wasser ab und titriert die überschüssige Schwefelsäure mit $^1/_{10}$ Normallauge unter Zusatz von Cochenilletinktur oder von wenigen Tropfen einer Methylorange- oder einer Luteollösung (S. 39) (ich verwende empfindliche Lackmustinktur) als Indikator zurück. (Man stellt sich bei der Verwendung

von Cochenille u. s. w. als Indikator ein damit gefärbtes Glas mit Wasser beim Titrieren zum Beobachten des Farbenumschlages daneben.) Die durch das überdestillierte Ammoniak neutralisierten Kubikzentimeter Schwefelsäure multipliziert man mit 1,404, um zu erfahren, wieviel Milligramm Stickstoff die angewandten Kubikzentimeter Harn enthielten. Zum Beispiel:

Vorgelegt wurden 100 ccm $^1/_{10}$ Schwefelsäure,
zum Rücktitrieren verbraucht 45 ccm $^1/_{10}$ Normallauge,

durch das Ammoniak sind also 55 ccm $^1/_{10}$ Säure neutralisiert,
die angewendeten 5 ccm Harn enthielten daher
55 . 1,404 = 77,22 mg N., 100 ccm = 1,544 N.

Multipliziert man den gefundenen N. mit 2,139, so erhält man den Harnstoff.

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 nur diese Methode zu Rate ziehen; aber auch in jedem kleinen Laboratorium kann man diese Bestimmung vornehmen, da man bei der Zerstörung jedes beliebige andere Gestell und zur Destillation jeden gewöhnlichen Kühler verwenden kann; man hat nur nötig, sich die Zerstörungskolben vorrätig zu halten.

2. Als Ersatz für die Kjeldahl-Bestimmung hat A. Jolles[1])

für klinische Zwecke eine Methode ausgearbeitet, 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 dann reagieren. Aus dem entwickelten und gemessenen Stickstoffvolumen läßt sich mit Hilfe der Tabelle der N leicht berechnen.

Ausführung:

Genau 5 ccm des zu untersuchenden Harnes werden mit 5 ccm destilliertem Wasser versetzt, hiervon 5 ccm zur Oxydation entnommen, mit Wasser auf ca. 150 ccm verdünnt, 2 ccm konz. Schwefelsäure (spez. Gew. 1,84) hinzugesetzt und auf dem Drahtnetz erwärmt; nun wird Permanganatlösung (ca. 4 g im Liter) in Kubikzentimetern solange zugesetzt, bis nach $^1/_4$stündigem Kochen der letzte Permanganatzusatz nicht mehr verschwunden ist. Der Überschuß an Permanganat wird mit einigen Tropfen Oxalsäure entfärbt, die Lösung auf ca. 25 ccm eingedampft und

[1]) Centralbl. inn. Medic. 1901. **22.** Nr. 30.

nach dem Abkühlen allmählich Natronlauge von 32° Bé (= 25,8%) solange hinzugesetzt (in der Regel genügen 10 ccm), bis Lackmuspapier alkalische Reaktion anzeigt, wobei nach jedesmaligem Zusatze der Lauge umgeschüttelt und gekühlt wird. Nunmehr bringt man die Flüssigkeit in das Schüttelgefäß des Azotometers (s. Harnstoffbestimmung nach A. Jolles), wobei das Gesamtvolumen inkl. 15 ccm Natriumhypobromit (400 g Ätznatron, unter Kühlung in Wasser gelöst, werden mit 100 g Brom versetzt und die Lösung mit destilliertem Wasser zum Liter aufgefüllt) ca. 100 ccm betragen soll, und bestimmt den Stickstoff volumetrisch. Es wird Temperatur und Luftdruck abgelesen und die Zahl der gefundenen Kubikzentimeter mit jener Zahl multipliziert, welche in der S. 112 u. 113 aufgeführten Tabelle dem Gewichte eines Kubikzentimeters Stickstoff unter dem abgelesenen Drucke und unter der beobachteten Temperatur entspricht. Der in der angewandten Menge des Harnes gefundene Stickstoff wird auf Prozentgehalt oder Gehalt in der 24stündigen Harnmenge berechnet.

Beispiel.

Es seien gefunden 24,76 ccm N bei 21° und 748 mm B.

1 ccm N bei 21° und 748 mm B = 1,12007 mg N.

24,76 . 1,12007 = 27,7329 mg N.

In Prozenten: 27,7329 mg N . 40 = 1,10932 g N.

Beurteilung.

Die leicht und schnell ausführbare Methode ist für klinische Zwecke vollkommen ausreichend; die Resultate fallen etwas zu niedrig aus, da Kreatinin, Glykokoll nicht in Harnstoff oder Ammoniak zersetzt werden und sich so der Bestimmung entziehen.

3. Die Liebigsche Titriermethode nach Pflüger[1]).

Prinzip.

Diese beruht auf der Eigenschaft des Harnstoffes mit salpetersaurem Quecksilberoxyd eine unlösliche Verbindung [$2CO(NH_2)_2 + Hg(NO_3)_2 + 3HgO$] zu geben. Das Ende der Fällung wird erkannt, wenn ein herausgenommener Tropfen der Mischung mit doppeltkohlensaurem Natron zusammengebracht gelb gefärbt wird. (Bildung von basischem Quecksilbernitrat.)

Beschaffenheit des Harnes für die Harnstoffbestimmung.

1. **Der Harn, welcher titriert werden soll, muß vorher von der Phosphorsäure, Schwefelsäure und der Salzsäure befreit werden, da die Phosphate und Sulfate mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gleichfalls einen Niederschlag (unlösliches Merkurophosphat und basisches Merkurisulfat) geben, und eine neutrale**

[1]) Pflügers Archiv. 1880. **21.** 248.

Dietrichs Tabelle für die Gewichte eines Kubikzentimeters Stickstoff

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

Temp. n. Celsius	Millimeter												
	720	722	724	726	728	730	732	734	736	738	740	742	744
10°	1,13380	1,13699	1,14018	1,14337	1,14656	1,14975	1,15294	1,15613	1,15932	1,16251	1,16570	1,16889	1,17208
11	1,12881	1,13199	1,13517	1,13835	1,14153	1,14471	1,14789	1,15107	1,15424	1,15742	1,16060	1,16378	1,16696
12	1,12376	1,12293	1,13010	1,13326	1,13643	1,13960	1,14277	1,14493	1,14910	1,15227	1,15543	1,15860	1,16177
13	1,11875	1,12191	1,12506	1,12822	1,13138	1,13454	1,13769	1,14085	1,14401	1,14716	1,15032	1,15348	1,15663
14	1,11360	1,11684	1,11990	1,12313	1,12628	1,12942	1,13257	1,13572	1,13886	1,14201	1,14515	1,14830	1,15145
15	1,10859	1,11172	1,11486	1,11799	1,12113	1,12426	1,12739	1,13053	1,13366	1,13680	1,13993	1,14306	1,14620
16	1,10346	1,10058	1,10971	1,11283	1,11596	1,11908	1,12220	1,12533	1,12845	1,13158	1,13470	1,13782	1,14095
17	1,09828	1,10139	1,10450	1,10761	1,11073	1,11384	1,11695	1,12006	1,12317	1,12629	1,12940	1,13251	1,13562
18	1,09304	1,09614	1,09924	1,10234	1,10544	1,10854	1,11165	1,11775	1,11785	1,12095	1,12405	1,12715	1,13025
19	1,08774	1,09083	1,09392	1,09702	1,10011	1,10320	1,10629	1,10938	1,11248	1,11757	1,11866	1,12175	1,12484
20	1,08246	1,08554	1,08862	1,09170	1,09478	1,09786	1,10024	1,10402	1,10710	1,11018	1,11327	1,11635	1,11943
21	1,07708	1,08015	1,08322	1,08629	1,08936	1,09243	1,09550	1,09857	1,10165	1,10472	1,10779	1,11086	1,11393
22	1,07166	1,07472	1,07778	1,08084	1,08390	1,08696	1,09002	1,09308	1,09614	1,09921	1,10227	1,10533	1,10839
23	1,06616	1,06921	1,07226	1,07531	1,07836	1,08141	1,08446	1,08751	1,09056	1,09361	1,09966	1,09971	1,10276
24	1,06061	1,06365	1,06669	1,06973	1,07277	1,07581	1,07858	1,08189	1,08493	1,08796	1,09100	1,09404	1,09708
25	1,05499	1,05801	1,06104	1,06407	1,06710	1,07013	1,07316	1,07619	1,07922	1,08225	1,08528	1,08831	1,09134

(Fortsetzung.)

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

chloridhaltige Harnstofflösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd erst dann einen Niederschlag gibt, wenn man soviel Quecksilbernitrat zugesetzt hat, daß alles Chlorid in Quecksilberchlorid übergeführt ist; man verbraucht also bei Gegenwart von Chloriden mehr salpetersaures Quecksilberoxyd, als der Harnstoff allein erfordert. Pflüger läßt daher die Chloride entfernen, doch darf kein Überschuß von Silbernitrat vorhanden sein, da dieses wieder die Endreaktion beeinträchtigt.

2. Der Harn darf kein Eiweiß enthalten; im Falle solches vorhanden ist, ist dasselbe nach S. 27 zu entfernen; auch Leucin und Tyrosin darf nicht zugegen sein.
3. Der Harn darf nicht in starker alkalischer Gärung sein und viel Ammoniak enthalten.
4. Die verwendete Lösung soll 2 % Harnstoff enthalten; ist der Harnstoffgehalt zu hoch, über 2 %, so verdünnt man entsprechend mit Wasser; liegt der Harnstoffgehalt unter $^1/_3$ %, so setzt man der Flüssigkeit ein abgemessenes Volumen Harnstofflösung von 2 % zu und zieht bei der Berechnung den hinzugefügten Harnstoff ab.
5. Der Harn darf keine durch Arzneien in den Harn gelangte Substanzen enthalten, die Quecksilbersalz fällen.

   Hippursäure, Benzoësäure sind erst durch salpetersaures Eisenoxyd auszufällen.

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

Erforderliche Lösungen.

1. Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd.

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

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

2. Barytmischung.

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

3. Normalsodalösung.

Man löst 53,05 g reines trockenes Natriumkarbonat (wie S. 36 hergestellt) in 1 Liter Wasser; die Lösung dient zur Neutralisation der beim Titrieren des Harnstoffs frei werdenden Salpetersäure.

4. 2% Harnstofflösung.

2 g reiner, über Schwefelsäure im Vakuum getrockneter Harnstoff wird in 100 ccm Wasser gelöst.

Titerstellung.

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

Bestimmung im Harn.

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

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

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

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

Zur Bestimmung des Harnstoffes nach der angegebenen Methode versetzt man 2 Vol. Harn (100 ccm) mit 1 Vol. der Barytmischung (50 ccm), schüttelt um und filtriert; das Filtrat prüft man, ob durch weiteren Zusatz der Barytmischung noch eine Fällung entsteht; sollte dies der Fall sein z. B. beim Harn von Fieberkranken, so mischt man gleiche Volumina Harn und Barytmischung. In 15 ccm des Filtrates (= 10 ccm Harn) bestimmt man nach dem Ansäuern mit Salpetersäure das Chlor mit $^1/_{10}$ Silberlösung und Rhodanlösung (S. 54). Ein anderer Teil des Filtrates, 60 ccm (= 40 ccm Harn), wird durch tropfenweisen Zusatz von verdünnter Salpetersäure, die aus einer Bürette zugegeben wird, neutralisiert (Prüfung mit Lackmuspapier), die zum Ausfällen des Chlors durch den Versuch ermittelte notwendige Menge Silberlösung zugesetzt (man verwendet hier aber Normalsilberlösung) und wieder filtriert. Vom Filtrate verwendet man das 10 ccm Harn enthaltende mit der Bürette oder Messpipette abgemessene Volumen zur Harnstoffbestimmung.

Beispiel.

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

0,2 ccm Salpetersäure,
9,4 ccm Normalsilberlösung,
69,6 ccm = 40 ccm Harn,
17,4 ccm = 10 ccm Harn.

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

Bei der Berechnung des Harnstoffs ist, wenn die Lösung nicht genau 2% enthält, nach Pflüger eine Korrektur anzubringen (enthält das titrierte Filtrat weniger als 2% Harnstoff, so verbraucht man bis zum Eintritt der Reaktion zuviel Quecksilberlösung, enthält es mehr, zu wenig), nach der Formel:

$C = (V_1 - V_2) . 0{,}08$,
V_1 = Volumen der Harnstofflösung und Sodalösung,
V_2 = Volumen der verbrauchten Quecksilberlösung,
C = Anzahl Kubikzentimeter, die von der verbrauchten Quecksilberlösung abzuziehen sind.

Beispiel.

Angewendete Menge des Filtrats = 17,4 ccm = 10 ccm Harn,
Nötige Menge Soda = 13,8 ccm
Summa 31,2 ccm = V_1
31,2 − 20,5 (verbrauchte Quecksilberlösung = V_2) = 10,7 . 0,08 = 0,856 = C.
20,5 − 0,856 = 19,64 = 1,964% Harnstoff, da 1 ccm Quecksilberlösung = 0,01 Harnstoff oder 0,00467 Stickstoff.

Beurteilung.

Mit dieser Methode wird ebenfalls der Gesamtstickstoff und nicht etwa der Harnstoff allein bestimmt; will man letzteren allein kennen, so müssen verschiedene Korrekturen angebracht werden.

Die Liebigsche Probe ist weder eine sichere, noch auch eine einfache oder bequeme Methode, sie ist im Gegenteil äußerst kompliziert und man muß

besonders darauf eingearbeitet sein, wenn man zufriedenstellende Resultate bekommen will. Eine häufige Anwendung wird diese Methode wohl kaum mehr finden, da alle zur Bestimmung des Harnstoffes dienenden Methoden einfacher in ihrer Ausführung sind.

J. H. Long hat gefunden, was aber schon bekannt ist, daß auch Kreatinin, Harnsäure, Ammoniak mit dem Quecksilbernitrat Verbindungen geben können und hat die für die im Harne vorhandenen normalen Mengen notwendigen Kubikzentimeter der Quecksilberlösung festgestellt; für 10 ccm Harn werden 2 ccm der Lösung für das Ammoniak, die Harnsäure und das Kreatinin verbraucht. Diese 2 ccm wären, wenn man nicht den Gesamtstickstoffgehalt, sondern den Harnstoff wissen wollte, von den verbrauchten Kubikzentimetern der Quecksilberlösung in Abzug zu bringen.

11. Karbaminsäure. $CH_3.NO_2$.

Diese kommt im freien Zustande im Harne nicht vor, sie zerfällt nach ihrer Abscheidung aus den Salzen in Ammoniak und 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 Ammoniumkarbonat, wobei intermediär karbaminsaures Ammoniak auftritt, erklärt.

Die umständliche Darstellung, 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.

12. Der Harnstoff. CON_2H_4 oder $CO\langle\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix}$.

Der Harnstoff — Karbamid — ist der am reichlichsten im Harne vorkommende organische Stoff. (S. 25). Was die Entstehung des Harnstoffes betrifft, so ist es nach den Forschungen von Schmiedeberg sehr wahrscheinlich, wenn nicht sicher, daß der Harnstoff aus Amidosäuren, Zersetzungsprodukten des Eiweißmoleküls sich bildet. Bei der Oxydation werden diese Amidosäuren in Wasser, Kohlensäure und Ammoniak umgesetzt; aus den beiden letzteren entstehen in statu nascendi das karbaminsaure Ammon, aus dem sich der Harnstoff unter Wasseraustritt oder Zersetzung in Harnstoff und Ammonkarbonat bildet.

$$CO\langle\begin{matrix}O.NH_4\\NH_2\end{matrix} - H_2O = CO\langle\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} \text{ oder}$$

$$2\,CO\langle\begin{matrix}O.NH_4\\NH_2\end{matrix} = CO\langle\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + CO\langle\begin{matrix}O.NH_4\\O.NH_4\end{matrix}.$$

Mit der im vorstehenden genannten Ansicht würde auch diejenige von E. Drechsel im Einklange stehen, der die Entstehung des Harnstoffes aus Eiweiß durch Hydrolyse ohne direkte Oxydation annimmt. Auch die Bildung von milchsaurem Ammon bei dem Eiweißzerfalle ist erwiesen und könnte auch aus diesem in der Leber kohlensaures Ammon und daraus wieder Harnstoff gebildet werden.

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

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 wesentlich verschiedene und hängt hauptsächlich von der Nahrung ab. Im allgemeinen nimmt man an, daß der gesunde Mensch in 24 Stunden 25—35 g Harnstoff ausscheidet; die Frau scheidet etwas weniger aus.

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

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

Eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung findet, was eigentlich selbstverständlich ist, statt bei allen Krankheiten (akuten fieberhaften Krankheiten, Typhus, akuten Infektionskrankheiten), durch welche ein Zerfall des Organeiweißes bedeutend gesteigert wird; die größte Vermehrung des Harnstoffes kann man bei Diabetes mellitus finden; hier kann die absolute Menge das Vier- bis Fünffache der normalen Menge betragen (bis über 100 g täglich). Medikamente (Kaffee, Koffein, Chinin, Natrium salicylicum), Dampfbäder, Elektrizität

bewirken gleichfalls eine mehr oder weniger vermehrte Ausscheidung.

Verminderung des Harnstoffes tritt ein bei der akuten gelben Leberatrophie und zwar in so auffallender Weise, daß manchmal überhaupt gar keine Ausscheidung mehr beobachtet wurde; 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 basiert, daß eine verminderte Kochsalzausscheidung, die bei Gesunden die Hälfte des Harnstoffes beträgt, und eine vermehrte Stickstoffausscheidung darauf schließen läßt, daß in diesem Falle der Stickstoff aus dem Körpereiweiß stammt.

Darstellung aus dem Harn.

Man dampft eine Menge Harn bis zum leichten Sirup auf dem Wasserbade ein, versetzt den Rückstand in der Kälte (durch Einstellen in Eiswasser) mit überschüssiger reiner, farbloser, ebenfalls abgekühlter Salpetersäure und trennt den entstandenen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff rasch von der Mutterlauge durch Absaugen auf einem Filter, Auswaschen mit Salpetersäure und Pressen zwischen Filtrierpapier. Den in etwas Wasser gelösten salpetersauren Harnstoff zerlegt man mit kohlensaurem Baryt und zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mittels absolutem Alkohol aus. Man entfärbt die alkoholische Lösung mit Tierkohle und filtriert warm. Aus dem Filtrate kristallisiert dann der Harnstoff beim Erkalten in meistens farblosen Nadeln aus, die durch Absaugen von der

Flüssigkeit befreit werden und dann durch Auflösen in Alkoholäther eventuell noch weiter gereinigt werden können.

Eigenschaften.

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

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

Mit einer Lösung von unterchlorig- oder unterbromigsaurem Salz, ebenso mit salpetriger Säure zusammengebracht, zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser.

Qualitativer Nachweis.

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

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 Kristallisation beiseite. Unter dem Mikroskope sieht man dann entweder einzelne rhombische Tafeln (Fig. 22), oft auch solche, deren stumpfe Winkel durch Flächen in hexagonale Tafeln umgewandelt werden, oder der Harn-

stoff scheidet sich in sechsseitigen Täfelchen aus, deren Ränder sich dachziegelartig decken.

2. Wird konzentrierte Harnstofflösung oder konzentrierter Harn mit gesättigter Oxalsäurelösung zusammengebracht, so scheidet sich oxalsaurer Harnstoff in Kristallen aus, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind; meist findet man in mikroskopischen Präparaten die prismatische Form (Fig. 22).

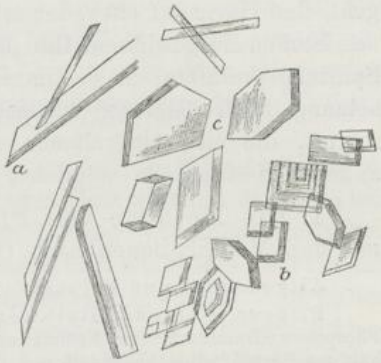


Fig. 22.

a Harnstoff.
b Salpetersaurer } Harnstoff.
c Oxalsaurer }

3. Eine charakteristische Reaktion ist die Biuretreaktion. Man erhitzt zu dieser Reaktion einige Kriställchen des wie oben angegeben hergestellten Harnstoffes in einem trockenen Reagensglas gelinde, bis sie in ihrer ganzen Masse geschmolzen sind und kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist; hierbei entsteht zunächst Ammoniak und Biuret, das Amid der Allophansäure. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, etwas 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 Zusatz des Kupfersalzes fortschreitet, rotviolett und endlich blauviolett.

4. Übergießt man in einem Porzellanschälchen eine geringe Menge Harnstoff mit einem Tropfen einer fast konzentrierten frisch bereiteten Furfurollösung und fügt sogleich einen Tropfen Salzsäure von 1,10 spezifischem Gewicht (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 (Schiff).

Beurteilung.

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

Quantitative Bestimmung des Harnstoffes.

Die zur quantitativen Bestimmung 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 mit solchen Agentien vornimmt, die eine eingreifende Änderung und Zersetzung der anderen Bestandteile möglichst vermeiden.

1. Die Methode von Pflüger, Bohland-Bleibtreu[1] mit den Modifikationen nach Gumlich[2]-Schöndorff.[3]

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 Ammonphosphat 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[4]) 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, Pfaundler[5]) ist die unvollständige Ausfällung des Harnstoffes nur in der Qualität der zur Verwendung kommenden Phosphorwolframsäurepräparate zu suchen, von denen einzelne geringe Mengen Harnstoff mit ausschieden, Ammoniak aber wieder nur unvollständig fällten. Mercksches 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) eventuell auch ein Teil des Kreatininstickstoffes vorhanden. Es wird aber wohl überhaupt unmöglich sein, den Harnstoffstickstoff so ganz für sich allein zu gewinnen.

---

[1]) Pflügers Archiv 1886. **38.** 575.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1893. **17.** 10.
[3]) Arch. ges. Physiolog. 1896. **1.** 62.
[4]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 505.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **30.** 75.

Ausführung der Bestimmung.

Erforderliche Lösungen.

Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäurelösung.

100 ccm Salzsäure von 1,124 spez. Gew. + 900 ccm Phosphorwolframsäurelösung Merck 1 : 10.

Man titriert, um die zum Ausfällen der Harnsäure u. s. w. nötige Menge des Fällungsmittels kennen zu lernen, 10 ccm Harn mit der in einer Bürette befindlichen Phosphorwolframsäuremischung solange, bis in 1 ccm der **klar** filtrierten Lösung 3 Tropfen der Phosphorwolframsäure keine Trübung mehr eintreten lassen.

Man vermischt dann in einem graduierten Meßzylinder 50 bis 100 ccm Harn (Harn über 1,017 spez. Gew. wird mit dem gleichen Vol. Wasser verdünnt) mit dem bei der Vorprobe ermittelten Volumen der Phosphorwolframsäure, füllt mit Salzsäure (1 : 10) auf 150 bezw. 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. 45). Die gleiche Menge des Filtrates (10 ccm ursprünglichen Harns entsprechend) wird zur Überführung des Harnstoffes in Ammoniak in einem Destillierkolben mit ungefähr 10 g kristallisierter Phosphorsäure oder der entsprechenden Menge konzentrierter flüssiger Phosphorsäure versetzt und nach Ch. Sallerin 7 Stunden im Trockenschranke auf 150—155° erhitzt; der Harnstoff wird hierdurch 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 Natronlauge im Überschusse hinzu und destilliert in der bei der Bestimmung nach der Kjeldahlschen Methode angegebenen Weise (S. 109). Das Destillat wird in $^1/_{10}$ Schwefelsäure aufgefangen und wie bei der Kjeldahlschen Bestimmung titriert. Von 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 = 0,001404 N.
= 0,00301 Harnstoff.

Mit Bezug auf das oben Erwähnte kann die Ammoniakbestimmung in Wegfall kommen, wenn man eine Phosphorwolframsäure wählt, die alles Ammoniak fällt. (Gumlich.)

2. Die Methode nach K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.[1])

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 Cammerer und Söldner[2]), Salaskin und Zaleski[3]) begreift der hierbei 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 nicht direkt zur Kjeldahlschen Bestimmung verwendet, sondern daß der Harnstoff ebenfalls hydrolisiert wird. Die Letztgenannten erhitzen zu dieser Zerlegung den Harnstoff im zugeschmolzenen Rohr, Braunstein[4]) verwendet Phosphorsäure, Folin[5]) Magnesiumchlorid.

Ausführung der Bestimmung.

In einem Kolben werden 5 ccm eiweißfreier Harn mit 5 ccm einer gesättigten Chlorbariumlösung, die 5% Barythydrat aufgelöst enthält, zusammengebracht; ferner werden 100 ccm einer Mischung, aus 2 Teilen 96% Weingeist und 1 Teil Äther bestehend, hinzugegeben, das Gefäß wird verschlossen und 12 Stunden stehen gelassen; nach dieser Zeit wäscht man den ausgeschiedenen und auf einem Filter gesammelten Niederschlag mit Alkoholäther eventuell mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe aus; das Filtrat engt man in einer Schale bei einer nicht über 60° betragenden Temperatur auf dem Wasserbade auf ca. 20—25 ccm ein, gibt etwas Wasser und gebrannte Magnesia zu und dampft zur Entfernung des präformierten Ammoniaks solange ein, bis die Dämpfe keine alkalische Reaktion mehr zeigen. Die eingeengte Flüssigkeit spült man mit Wasser in einen Rundkolben, wäscht die Schale wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nach und verfährt wie bei 1. angegeben.

Beurteilung.

Nach Ch. Sallerin (s. oben) genügt diese Methode zur Bestimmung des Harnstoffes im Urin allen Anforderungen in Bezug auf Genauigkeit, auch findet, entgegen den Angaben von Berthelot und André, beim Abdampfen der Harn-

[1]) Skand. Arch. Physiol. 1891. **2.** 438.
[2]) Zeitschr. Biolog. **38.** 227.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1897. **28.** 73.
[4]) Ebenda. 1900. **31.** 381.
[5]) Ebenda. 1901. **32.** 504.

stofflösung unter Zusatz geringer Mengen Magnesiumoxyds kein Verlust durch Zersetzungen statt. C. Arnold und C. Mentzel haben ebenfalls mit der Methode von Mörner-Sjöqvist vorzügliche Ergebnisse erzielt; sie verwenden aber, was auch ich nur befürworten möchte, statt der 5 ccm 10 ccm Harn.

Wie erwähnt, zersetzt Folin den Harnstoff durch Erhitzen mit salzsäurehaltigem Magnesiumchlorid. Es muß aber, da das Magnesiumchlorid des Handels nie ammoniakfrei zu erlangen ist, auch von diesem der Ammoniakgehalt gekannt und bestimmt sein. Auch sonst ist das Verfahren etwas umständlicher, als das beschriebene.

3. 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% Alkohol auf dem Wasserbade zur Trockene verdunstet, mehrmals mit wasserfreiem Alkohol unter Zerreiben des Rückstandes ausgezogen und die Lösungen 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 absitzen läßt. Die ätherische Lösung wird vorsichtig durch ein Filter abgegossen, die Kristalle im Kölbchen mit 60 bis 80 ccm Äther in mehreren Anteilen nachgewaschen und die Waschflüssigkeit 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, nachgewaschen und die Lösung nach Zusatz von Phenolphthalein als Indikator bis zur schwachen Rotfärbung titriert.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10}\,\text{KOH} = 0{,}003 \text{ g Harnstoff.}$$

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.

---

[1]) Wien. klin. Rundschau. 899. 371.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 137.
[3]) Pflügers Arch. **83.** 232.

A. Jolles[1]) hat den getrockneten oxalsauren Harnstoff in Wasser gelöst, die Lösung im Azotometer mit Bromlauge zersetzt und aus dem entwickelten N den Harnstoff berechnet (s. Tabelle S. 129).

4. Bestimmung des Harnstoffes für klinische Zwecke.

Diese Bestimmungen beruhen auf folgendem Prinzip:

Der Harnstoff zersetzt sich mit einer alkalischen Lösung von unterbromigsaurem Natron in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser, von welchen die Kohlensäure von dem im Überschuße vorhandenen Ätznatron gebunden wird, während man den entweichenden Stickstoff in geeigneten Apparaten mißt.

$$CO<\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + 3BrONa = CO_2 + 2N + 2H_2O + 3NaBr.$$

a) Am besten empfiehlt sich das Verfahren von A. Jolles.[2])

Erforderliche Lösungen.

1. Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure Merck (S. 123).
2. Natronlauge ca. 25 %.
3. Bromlauge. Man löst 100 g Natriumhydroxyd in 250 ccm Wasser und setzt zu der erkalteten Lösung 25 g Brom hinzu. Die Lösung ist im Dunkeln und an einem kühlen Orte zu verwahren; zu jeder Harnstoffbestimmung ist eine neue Probe der Lauge (keine schon verwendete) zu benutzen.

10 ccm des filtrierten Harnes werden in einem Maßkölbchen von 100 ccm Inhalt mit ca. 30 ccm destilliertem Wasser und einer zur Fällung ausreichenden Menge salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure versetzt; die zum Ausfällen der Harnsäure u. s. w. nötige Menge des Fällungsmittels hat man vorher, wie S. 123 angegeben, festgestellt. Das Kölbchen wird nunmehr auf dem Wasserbade ca. eine Viertelstunde unter öfterem Umschütteln erwärmt, 4 Stunden stehen gelassen, dann mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und die Lösung umgeschüttelt.

Dann filtriert man — das Filtrat muß klar ablaufen, ein trübes Filtrat ist wieder aufs Filter zu gießen — durch ein trockenes Filter und entnimmt vom Filtrate genau 25 ccm = 2,5 des ursprünglichen Harnes. Diese Flüssigkeitsmenge gibt man in das Schüttelgefäß c des Azotometers (Fig. 23)[3]) und setzt unter Umrühren und Kühlung solange vorsichtig

[1]) Zeitschr. anal. Chem. 1900. **39.** 140.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 143.
[3]) Das Azotometer mit Barometer und Thermometer liefert die optisch-mechanische Werkstätte von C. Reichert, Wien VIII, Bennogasse 24—26 (Preis 100 Kronen, ohne Barometer und Thermometer 60 Kronen).

Lauge hinzu, bis die Lösung alkalische Reaktion zeigt. Nunmehr bringt man in das kleine Hartgummigefäß 30 ccm der Bromlauge und stellt dieses Gefäß, am besten mittels einer Pinzette, so vorsichtig in das Schüttelgefäß hinein, daß keine Vermengung der beiden Flüssigkeiten statt hat. Man füllt die beiden Meßröhren des Azotometers mit destilliertem Wasser und setzt den mit den beiden Glasröhren versehenen Gummistopfen fest auf das Gefäß *c*, daß die Lage des Stopfens beim späteren Schütteln sich nicht ändern kann; von den Glasröhren steht die eine mit dem Azotometer durch einen Gummischlauch in Verbindung, die andere ist mit einem nach außen abzuschließenden Schlauch versehen. Sobald beide Flüssigkeitssäulen in den Röhren dasselbe Niveau zeigen, wird das freie Schlauchende *b* am Gummistopfen durch einen passenden Quetschhahn bei *a* vorsichtig geschlossen, und alsdann der Wasserstand in der Meßröhre genau abgelesen. Darauf wird das Schüttelgefäß so geneigt, daß beide Flüssigkeiten sich mischen, wobei sofort eine lebhafte Gasentwickelung eintritt. Man läßt alsdann in dem

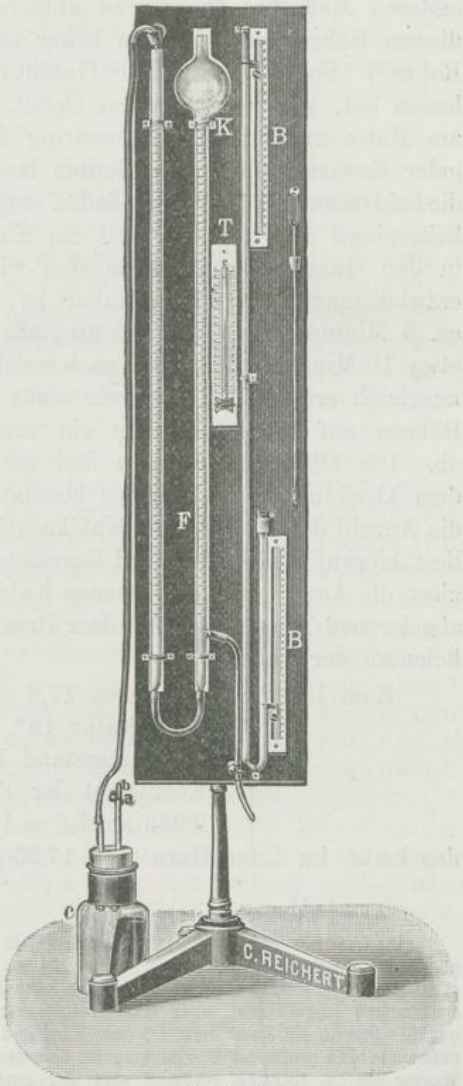


Fig. 23.

Maße, als die Flüssigkeit in dem einen Rohre steigt, durch das unten mit Quetschhahn versehene Ausflußrohr an der anderen Meßröhre Wasser so abfließen, daß das Wasser in diesem Rohre um 1—2 ccm höher steht als in dem anderen Rohre.[1]) Sobald die starke Gasentwickelung etwas nachgelassen hat, schüttelt man das Gefäß, indem man es an dem am Halse angebrachten Gummiring festhält (zur Vermeidung jeder Erwärmung), einige Minuten lang mit der Vorsicht, daß die beiden aufgebogenen Glasenden entgegengesetzt dem Flüssigkeitsspiegel sich befinden und ein Eindringen von Flüssigkeit in den Gummischlauch vermieden wird. Sobald keine Gasentwickelung mehr wahrnehmbar ist, was in der Regel nach ca. 5 Minuten der Fall ist, überläßt man das Schüttelgefäß etwa 10 Minuten der Ruhe, nach welcher Zeit der Temperaturausgleich erfolgt ist. Nunmehr stellt man das Wasser in den Röhren auf gleiches Niveau ein und liest den Wasserstand ab. Die Differenz zwischen den vor dem Beginn und nach dem Abschlusse des Versuches konstatierten Ablesungen ergibt die Anzahl der entwickelten Kubikzentimeter Stickstoffgas. Man liest hierauf Temperatur und Barometerstand ab und multipliziert die Anzahl der abgelesenen Kubikzentimeter mit dem der abgelesenen Temperatur und dem Drucke entsprechenden Koëfficienten der Tabelle.

Zum Beispiel: Abgelesen 17,6 ccm,
Temperatur 18°,
Barometerstand 758.
Koëfficient der Tabelle 0,986.
$0{,}986 \times 17{,}6 = 17{,}35$

das heißt, im Liter Harn sind 17,35 g Harnstoff enthalten.

Beurteilung.

Die Methode gibt sehr brauchbare Resultate und sollte für klinische Zwecke allgemeine Anwendung finden.

Für rasch orientierende Zwecke kann man in ca. 12—15 Minuten eine Bestimmung durchführen, wenn man in folgender Weise verfährt. Mittelst einer genauen Pipette entnimmt man 2,5 ccm Harn und bringt ihn in das kleine Schüttelgefäß. In das große Gefäß mißt man 30 ccm der Bromlauge, die mit destilliertem Wasser auf ca. 100 ccm verdünnt wird und bestimmt und berechnet den Stick-

[1]) Stellt man nach beendeter Gasentwickelung beide Flüssigkeiten auf gleiches Niveau ein, so bildet sich nach erfolgter Abkühlung im Schüttelgefässe ein etwas luftverdünnter Raum, wodurch ein Niveau-Unterschied in beiden Maßröhren eintritt.

stoff in der oben angegebenen Weise. Den Apparat, das Azotometer, kann man sich übrigens auch selbst zusammenstellen; doch sind die richtigen Größenverhältnisse des Entwickelungsgefäßes zu berücksichtigen.

Tabelle zur Harnstoffbestimmung.

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

b) Die Methode nach Knop-Hüfner.

Für die Ausführung dieser Methode sind die verschiedensten Modifikationen erfunden und eine große Anzahl von Apparaten (Ureometern, Azotometern) konstruiert worden. Eine Beschreibung dieser vielen verschiedenen Apparate kann natürlich nicht gegeben werden, dieselbe muß sich nur auf die bekanntesten und brauchbarsten beschränken; übrigens sind allen diesen Ureometern Gebrauchsanweisungen beigegeben.

Erforderliche Lösung.

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

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

Ausführung der Methode.

Bedingungen sind:

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

Das Hüfnersche Ureometer (Fig. 24).

Das ungefähr 100 ccm fassende bauchige Gefäß *B* steht mittels eines weit gebohrten Hahnes mit dem 5 ccm enthaltenden kolbenförmigen Ansatzstück *A* in Verbindung. Das Volumen des Gefäßes *A* einschließlich der Hahnbohrung muß man vorerst genau feststellen, was durch Ausmessen mit einer Meßpipette mit Wasser geschieht. Der Raum *A* inkl. der Hahnbohrung soll womöglich nicht über 6 ccm fassen.

Das obere etwas verjüngte Ende von *B* umschließt vermittelst eines Korkverschlusses der Hals einer Glasschale *C*, in welche das verjüngte Ende von *B* einige Zentimeter hoch emporragt; auf dieses verjüngte Ende *B* wird das Eudiometer *D* zum Aufsammeln des entwickelten Stickstoffes gebracht; dieses Eudiometer, in einem Halter bei der Ausführung des Versuches leicht zu befestigen, faßt 50—100 ccm und ist in $^1/_{10}$ Kubikzentimeter eingeteilt.

Mit Hilfe eines langhalsigen Trichters, dessen Spitze bis in die Hahnbohrung reicht, füllt man mit dem am zweckmäßigsten zu gleichen Teilen mit Wasser verdünnten Harne Gefäß *A* samt der Hahnbohrung genau an, schließt dann den Hahn und reinigt durch Ausspülen mit Wasser das Gefäß *B* von etwa anhängenden Harntropfen. Nun füllt man das Gefäß *B* und größtenteils die Schale *C* mit der Knopschen Bromlauge, gibt das mit der gleichen oder einer schon gebrauchten Bromlauge vollkommen angefüllte Eudiometer — man verschließt das gefüllte Meßrohr mit dem Daumen und öffnet es erst unter der Flüssigkeit in der Schale — über das verjüngte Ende von *B* und schiebt das letztere 2—3 cm in die Röhre hinein. Das Eudiometerrohr befestigt man nun im Halter. Das Gefäß *B* darf keine Luftblasen mehr enthalten; man öffnet dann den Hahn, wodurch eine Vermischung des Harnes mit der Lauge und alsbald eine lebhafte Gasentwickelung stattfindet. Ist diese Gasentwickelung zu Ende, was nach 20 bis 30 Minuten erfolgt ist, dann läßt man noch ca. $^1/_4$ Stunde stehen, zieht das

verjüngte Ende von *B* zurück, hebt das Eudiometer mittels eines Glaslöffels, oder indem man das untere Ende unter der Flüssigkeit mit dem Daumen verschließt, heraus und bringt das Rohr in einen mit luftfreiem, ausgekochtem, erkaltetem Wasser gefüllten Cylinder, stellt es so, daß das Niveau der Flüssigkeit in der Röhre mit dem Niveau des Wassers im Cylinder zusammenfällt und liest nach $^1/_2$ stündigem Stehen das Volumen des Gases ab.

Man bestimmt weiter die Lufttemperatur, notiert den Barometerstand und liest das Gewicht eines Kubikzentimeter Stickstoffs mit Hilfe der Tabelle S. 112 u. 113 ab. Man multipliziert das abgelesene Gasvolumen mit dem in der Tabelle gefundenen Gewichte von 1 ccm Stickstoff; diese Menge N mit 2,14 multipliziert gibt die entsprechende Harnstoffmenge, da man für 7 Teile (Gramm) Stickstoff 15 Teile Harnstoff zu nehmen hat oder es sind, von dem Volumen des Stickstoffs ausgehend, 370 ccm N bei 0° C. und 760 mm Barometerstand = 1 g Harnstoff.

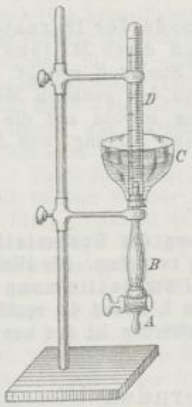


Fig. 24.

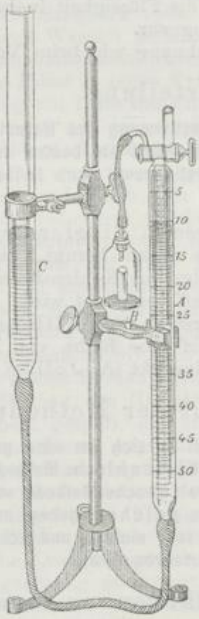


Fig. 25.

Die Vornahme in anderen Apparaten, dem Knopschen Azotometer (dem von Jolles verwendeten), in dem von Lunge konstruierten Ureometer ist eine weit genauere und angenehmere, da man bei Verwendung dieser Azotometer die Finger nicht mit der Lauge in Berührung zu bringen braucht.

Die Entwickelung des zu messenden gasförmigen Zersetzungsproduktes, des Stickstoffes, wird in dem Lungeschen Ureometer, Fig. 25, wie in dem schon S. 127 beschriebenen, von A. Jolles verwendeten, sehr bequemen Azotometer, nicht innerhalb der Meßröhre *A*, sondern außerhalb derselben, in einem besonderen Zersetzungsgefäße *B* vorgenommen. Dieses Entwickelungsgefäß ist eine kleine weithalsige Flasche, die mit einem einfach durchbohrten weichen Kautschukpfropfen verschlossen und durch ein kurzes Stück starkwandigen Schlauches mit dem seitlich angebogenen Hahnansatz dicht verbunden werden kann. Auf dem Boden des Gefäßes steht, ein für allemal

darauf festgeschmolzen, ein zylindrisches, oben offenes Hohlgefäß zur Aufnahme der Zersetzungsflüssigkeit (5 ccm des 1% Harnstoff enthaltenden Harnes), während der bleibende Hohlraum im Gefäß zur Aufnahme der stets frisch bereiteten Bromlauge dient. Man schließt nach Beschickung, wie angegeben, das Entwickelungsgefäß, verbindet es bei normaler Stellung des Hahnes mit dessen seitlich abgebogenem Rohransatz, stellt den Spiegel der in den Röhrenschenkeln enthaltenen schon gebrauchten Bromlauge auf den Nullpunkt ein und öffnet endlich den Hahn einen Augenblick nach aussen, um den Inhalt des Apparates unter atmosphärischen Druck zu bringen. Nun bewirkt man durch Neigen des Entwickelungsgefäßes das Ausfließen des Harnes zur Bromlauge und somit die Gasentwickelung; der entwickelte Stickstoff tritt in die Meßröhre ein; zuletzt veranlaßt man durch vorsichtiges Bewegen ein Eintreten der Bromlauge in das innere Gefäß, um die letzten Reste Harn gar zu zersetzen. Nach dem Aufhören einer Gasentwickelung stellt man die Flüssigkeit in beiden Röhrenschenkeln gleich hoch und nimmt die Ablesung vor.

Berechnung wie beim Versuche nach Hüfner.

Beurteilung.

Die Bestimmung des Harnstoffes nach der Hüfnerschen Methode ist nicht genau. Man nimmt am besten den, wie in a) angegeben, vorbereiteten Harn und führt die Bestimmung nach Jolles in dem Azotometer oder Lungeschen Ureometer aus.

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 des Millonschen Reagenses sowohl auf die Harnsäure, als auch auf eine Reihe von Purinbasen unter Bildung von Alloxan und Harnstoff einwirkt (A. Jolles).

Wahl der Methode.

Handelt es sich um eine genaue Bestimmung des Gesamtstickstoffes, dann ist die Kjeldahlsche Methode in Anwendung zu ziehen. Für klinische Zwecke genügt die Jollessche Methode vollkommen. Bei der Bestimmung des Harnstoffes als solchen geben uns die Methoden 1, 2 und 4a recht brauchbare Ergebnisse; sehr einfach und schnell in der Ausführung ist das von Jolles angegebene Verfahren (4a).

Verfahren zu einem annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harn.

Das von M. Pfaundler[1]) angegebene Verfahren macht es möglich, einen annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harne zu gewinnen; da die Ergebnisse in häufigen Fällen wertvolle Aufschlüsse bei verschiedenen Krankheiten ergeben können, abgesehen davon, daß wir auch über die Produkte der Eiweißzersetzung im Organismus besser orientiert werden, soll die Methode, die ich auch prüfte, im Nachstehenden eingehendere Erwähnung finden.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **30.** 75.

Das Prinzip und die Ausführung der Methode.

Der 24stündige Harn wird über Chloroform aufgefangen, alsbald nach der Entleerung mit stickstofffreier Salzsäure angesäuert und durch Verdünnung mit ungefähr einem halben Teile Wasser auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Allfallsige 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 (= ca. 24,5 %) + 800 ccm destilliertes Wasser) gefällt. Nach 24-stündigem Stehen der Proben in ammoniakfreier Atmosphäre wird durch ein aschearmes, stickstofffreies Filter in einen Erlenmeyer-Kolben klar filtriert, der Niederschlag mit Hilfe des Filtrates quantitativ übergespült und zwei bis dreimal mit der zur Fällung verwendeten Lösung gewaschen. Hierbei darf sich das Filtrat nicht mehr trüben. Filter mit Niederschlag wird hierauf gleichfalls in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht und gleich dem Filtrate mit etwa 10 g kristallisierter 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. 123 ausgeführt, verfahren und fand ein 6—7stünd. Erhitzen genügend; M. Krüger und J. Schmid erhitzten zur Zersetzung des Harnstoffes (Hydrolisierung) 3 bis 4 Stunden mit dem halben Volumen konz. H_2SO_4 auf 160—180°.)

Nach spontaner Abkühlung der beiden Proben werden dieselben mit heißem Wasser in einen Rundkolben aus Hartglas von etwa 1 Liter Kapazität (Schotten-Kolben) gespült, mit stickstofffreier Natronlauge zunächst vorsichtig annähernd neutralisiert, hierauf mit einem großen Überschuß von geglühter Magnesia bis zur deutlichen alkalischen Reaktion versetzt und in eine mit entsprechender Menge $^1/_{10}$ Säure (50—75 ccm) beschickte Vorlage wie beim Kjeldahlschen Verfahren abdestilliert. Selbstverständlich kann die Zersetzung mit Phosphorsäure 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 Säurevorlage abdestilliert, wobei in der Regel noch einige Kubikzentimeter $^1/_{10}$ 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 behufs Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt.

Die Anwesenheit von viel Phosphorsäure und Phosphorwolframsäure macht die Kjeldahlsche Bestimmung unangenehm; man muß größere Mengen Zersetzungssäure nehmen. Man kann diese Bestimmung aber umgehen. Hat man nämlich in einer zweiten Probe des Harns — 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. Zum Beispiel:

Gesamtstickstoff im Filtrate	138,516 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure u. Magnesiabehandlung leicht abspaltbar f_1 . . .	130,578 „
Festgebundener Stickstoff f_2 = ...	7,938.
Gesamtstickstoff des Filterrückstandes	25,592 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure u. 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 auch, allerdings nur in zwei Fällen, mit eigenem Harn Untersuchungen vorgenommen und fand die Angaben Pf. bestätigt.

Der Gesamtstickstoff des eiweiß- und albumosefreien Stickstoffes 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 Karbaminsäure, des Rhodans und ein Teil des Stickstoffes der Harnsäure, der Purinbasen, des Kreatinins, des Harnmucoides, der Eiweißkörper, bezw. des Nukleolalbumins des normalen Harnes.

2. Fraktion n_2. Durch Phosphorsäure nicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Körper (Niederschlag).

   Stickstoffrest jener bei 1. angeführten Substanzen, welche, wie Harnsäure, nur einen Teil des Stickstoffes festgebunden enthalten, ferner der Stickstoff der Diamine, der Diamidosäuren 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 bezw. Filtrat), d. h. der gesamte Stickstoff des Harnstoffes, des Allantoins, der Oxalursäure, eventuell ein Teil des Kreatininstickstoffes.

   Hier erscheint auch etwas mehr als die Hälfte des Oxyproteinsäurestickstoffes, 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 bezw. Filtrat), Amidosäuren und ihrer Derivate, also das Glykokoll (Hippursäure), Taurin- und Cystinabkömmlinge, Leucin, Tyrosin und Cystin im pathologischen Harn.

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.

Ein ganz ähnliches Verfahren zur Bestimmung des Amidosäurenstickstoffes geben M. Krüger und J. Schmid[1]) an; dasselbe beruht auf den schon von Pfaundler angegebenen Voraussetzungen.

Es werden 30 ccm Harn mit 3 ccm 10% Salzsäure und der, wie S. 123 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 resp. einer solchen Menge, welche 5 ccm Harn entspricht, wird

a) der Gesamtstickstoff (Harnstoffstickstoff + Amidosäurenstickstoff) nach Kjeldahl und

b) der Harnstoffstickstoff allein durch Erhitzen mit dem halben Volumen konz. Schwefelsäure während 3—4 Stunden auf 160 bis 180° und Destillation nach dem Übersättigen[2]) mit Natronlauge (für 5 ccm konz. Schwefelsäure genügen 20—22 ccm 33% Natronlauge). Differenz zwischen a) und b) gibt den Amidosäurenstickstoff.

13. Baumstarks Körper. $C_3H_8N_2O$ oder $\begin{matrix} CH_2 . NH_2 \\ | \\ CH_2 . CO . NH_2 . \end{matrix}$

Als ein Harnstoff, in dem CO durch $CO—C_2H_4$ ersetzt ist, oder als das Diamid der Fleischmilchsäure könnte der von Baumstark isolierte stickstoffhaltige Körper aufgefaßt werden.

Derselbe wurde im ikterischen und auch im normalen Harn gefunden.

Darstellung.

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

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **31.** 556.

[2]) Wenn Cystin vorhanden ist, macht man mit Lauge annähernd neutral und gibt überschüssige frisch ausgeglühte Magnesia hinzu.

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

Eigenschaften.

Baumstarks Körper kristallisiert in weißen Säulen, über 250° schmelzend; er ist leicht löslich in heißem, schwer in kaltem Wasser und in Alkohol. In absolutem Alkohol und Äther ist derselbe unlöslich. Mit Säuren bildet er leicht lösliche Salze, auch wird er durch Quecksilbernitrat, wie der Harnstoff, gefällt. Mit salpetriger Säure behandelt entsteht aus ihm eine Milchsäure.

14. Kreatin. $C_4H_9N_3O_2$ oder $\begin{matrix} CH_2—(CH_3)N\,.\,C(HN)\,.\,NH_2. \\ | \\ COOH \end{matrix}$

Kreatin — Methylguanidinessigsäure — soll sich im Harn der Säugetiere neben Kreatinin finden; nach Ansicht anderer Forscher ist jedoch im Harne kein Kreatin vorhanden; nur bei der Fäulniß des Harnes bildet sich dasselbe aus dem Kreatinin; zudem geht das Kreatin leicht in das Kreatinin über, besonders beim Erwärmen mit Mineralsäuren. Vom folgenden Kreatinin unterscheidet es sich, daß es nicht die Weylsche Reaktion und auch in der Kälte keinen Niederschlag mit Chlorzink gibt.

15. Kreatinin. $C_4H_7N_3O$ oder $\begin{matrix} CH_2—(CH_3)\,.\,N\diagdown \\ | \qquad\qquad\quad C(HN). \\ CO———HN\diagup \end{matrix}$

Glycolmethylguanidin, Methylglycocyamidin ist mit Sicherheit als konstanter Bestandteil des menschlichen Harnes und des Harnes einiger Säugetiere nachgewiesen (im Harne von 24 Stunden 0,6—1,5 g). Ob das im Harne vorhandene Kreatinin — das Anhydrit des Kreatins — aus dem Kreatin der Muskeln, welches, bevor es den Körper verläßt, in Kreatinin umgewandelt wird, allein stammt, ist nicht sicher entschieden. Kreatin und das Anhydrit lassen sich in geringen Mengen in fast allen Geweben nachweisen. In pathologischen Fällen

wurde im Fieber, bei akuten Krankheiten (Typhus, Pneumonie) eine Vermehrung, in der Rekonvalescenz bei akuten Krankheiten, bei Schwächezuständen eine Verminderung konstatiert. Die Ausscheidung des Kreatinins läuft mit der des Harnstoffes parallel.

Darstellung, zugleich quantitativer Nachweis.

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

Zu bemerken ist, daß der Harn frei von Eiweiß und Zucker sein muß; ersteres wird durch Aufkochen, 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 Meßcylinder von 1 Liter Inhalt mit Kalkmilch bis zur alkalischen Reaktion versetzt und dann genau mit Chlorcalcium ausgefällt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man füllt auf 600 ccm auf, schüttelt durch und filtriert nach 15 Minuten. Vom schwach alkalisch reagierenden Filtrate werden 500 ccm — wenn starke alkalische Reaktion vorhanden sein sollte, 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 Meßcylinder, spült mit Alkohol nach und füllt mit Alkohol auf 200 ccm auf. Man schüttelt gut um, läßt erkalten, füllt bis auf 200 ccm auf und läßt 12 Stunden 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 etwas essigsaurem Natron, wenn man das Kalkfiltrat mit einer Mineralsäure angesäuert hatte, 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

[1]) Annal. Chem. Pharm. 1861. **119.** 33.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1886. **10.** 113.

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

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 (S. 108).

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

100 Teile Zinkoxyd entsprechen 317,4 Teilen Kreatinin.

Bei der Berechnung hat man selbstverständlich die angewendete Harnmenge in Betracht zu ziehen; nach dem Neubauer-Salkowskischen Verfahren ist die in 320 ccm Harn enthaltene Kreatininmenge bestimmt worden.

2. Bestimmung nach R. Kolisch.[1])

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 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

[1]) Centrlbl. innere Mediz. 1895. Nr. 11; Zeitschr. analyt. Chem. 1896. **35.** 483.

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. 108 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.

Eigenschaften.

Das Kreatinin kristallisiert in glänzenden, farblosen, wasserfreien Prismen, die sich in 12 Teilen kalten Wassers und in 102 Teilen absoluten Alkohols mit neutraler Reaktion lösen. Das Kreatinin ist die stärkste im Tierorganismus normal vorkommende Base; es treibt Ammoniak aus seinen Salzen, vereinigt sich mit Säuren zu wohl charakterisierten Salzen und liefert mit Platinchlorid, Goldchlorid und Chlorzink Doppelsalze. Das letztere $(C_4H_7N_3O)_2 . ZnCl_2$, zur Erkennung und Bestimmung dienend, kristallisiert in feinen Nadeln oder Prismen, die konzentrisch gruppierte Rosetten bilden oder Büschel, die sich kreuzen; auch haben die Kristalle manchmal das Aussehen von ineinander übergehenden Pinseln (Fig. 26). Silbernitrat scheidet einen aus feinen Nadeln bestehenden Niederschlag aus, Phosphorwolframsäure u.s.w. erzeugen Fällungen. In Berührung mit Basen geht das Kreatinin in Kreatin über.

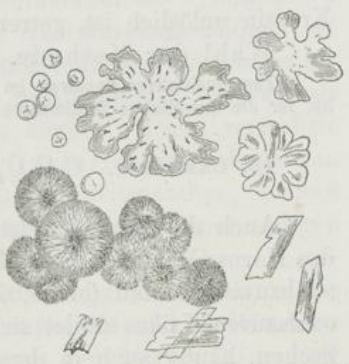


Fig. 26.
Kreatininchlorzink.
Nach Ultzmann, Hoffmann.

Qualitativer Nachweis.

1. Man löst einen Kristall der Chlorzinkverbindung in wenig heißem Wasser, läßt auf dem Objektträger verdunsten und betrachtet die Kristalle unter dem Mikroskope (Fig. 26).
2. Versetzt man eine Kreatininlösung oder Harn mit einigen Tropfen frisch bereiteter, sehr verdünnter, wässeriger Nitroprussidnatriumlösung und fügt dann tropfen-

weise 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 und erhitzt, so nimmt dieselbe zunächst eine grüne, dann eine blaue Färbung an; bei längerem Stehen bildet sich ein blauer Niederschlag von Berlinerblau (Reaktion Weyl-Salkowski). (Unterschied von Acetessigsäure, die sich durch vorheriges Kochen des Harns auch entfernen läßt.)

3. Fügt man zu einer Lösung oder zu Harn etwas wässerige Pikrinsäurelösung und einige Tropfen Natronlauge, so färbt sich die Lösung oder der Harn sofort intensiv rot (Jaffé). Die Färbung bleibt länger bestehen. (Aceton zeigt nur rötlichgelbe, Kreatin eine gelbe, erst später in Rot übergehende Färbung.) Das Aceton kocht man am besten vorher weg.

Um aus dem Kreatininchlorzink reines Kreatinin darzustellen, löst man dasselbe 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 welchem 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 eine der genannten Methoden.

16. Oxalsäure. $C_2H_2O_4$ oder $\begin{matrix} COOH \\ | \\ COOH. \end{matrix}$

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

Was die Ursache des Auftretens von Oxalsäure und oxalsaurem Kalk betrifft, so wird die Oxalsäure nach Lommel, Autenrieth und Barth zum allergrößten Teile, wenn nicht ausschließlich, im Organismus selbst gebildet. Cipollina[1]) fand

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1901. Nr. 20.

durch Versuche, daß die Milz, vielleicht auch die Leber und die Muskeln im stande sind, aus Harnsäure durch Oxydation Oxalsäure zu bilden. Das Vorkommen ist natürlich abhängig von den dem Organismus zugeführten Speisen, von denen eine große Reihe Oxalsäure oder oxalsauren Kalk fertig gebildet enthalten, welche ganz oder zum Teil als Kalkoxalat ausgeschieden werden. Solche Speisen sind Endivien, Tomaten, grüne Bohnen, Spargel, Kohl, Trauben, Äpfel, Honig u. s. w., auch oxalsäurehaltige Arzneimittel, wie Oxalsäure selbst, dann Rheum, Scilla, Senna, Baldrian u. s. w. erzeugen reichlicheres Auftreten von oxalsaurem Kalk im Harn. Ein anderer Teil der Oxalsäure wird erst im Körper aus Eiweiß oder aus Kohlehydraten gebildet, wobei dieselben zum Teil in Oxalate übergehen, statt sich vollkommen in Karbonate umzuwandeln; so wird nach dem Genusse von kohlensäurereichen Getränken (Champagner, Selterswasser), nach übermäßigem Zuckergenuß ein reichlicheres Auftreten von Oxalsäure — oxalsaurem Kalk — beobachtet.

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

Eine lange andauernde Ausscheidung des Kalkoxalates kann auch in Störungen des Harnapparates und in Störungen der übrigen Systeme zu suchen sein; die 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 Säuregrad desselben etwas Kalkoxalat beim Stehen ausscheiden;

ein nach Genuß der oben erwähnten Stoffe auftretender reichlicher Gehalt an diesen Krystallen ist ebenfalls ohne Bedeutung.

Darstellung und zugleich quantitativer Nachweis nach W. Autenrieth und H. Barth.[1])

Man versetzt die Tagesmenge Harn mit Chlorcalciumlösung im Überschuß, dann mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion, schüttelt gut durch und läßt über Nacht, d. h. 18—20 Stunden lang, 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 ca. 15%igen Säure. Die erhaltene Lösung schüttelt man in einer geräumigen mit Glasstopfen verschließbaren Flasche mit 4—5 Portionen von je 150 bis 200 ccm Äther, der 3% 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 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 absitzen und säuert mit verdünnter Essigsäure ganz schwach an. Nachdem die Flüssigkeit über Nacht gestanden hat, sammelt man das Calciumoxalat auf einem aschenfreien Filter, wäscht mit kaltem Wasser aus, verascht und glüht den Niederschlag in bekannter Weise.

Gefundenes CaO mit 1,6071 multipliziert = 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

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 330.

präformierte Oxalsäure bestimmt, da durch Vermeidung des Konzentrierens und Eindampfens des Harnes ein Übergang der Oxalsäure in die in Äther unlösliche Oxalursäure vermieden wird.

Eigenschaften der Oxalsäure.

Dieselbe kristallisiert mit 2 Mol. Kristallwasser in monoklinen Säulen, 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, kristallisiert in zwei verschiedenen Kristallsystemen (monoklin und tetragonal) je nach der Darstellung. Beim langsamen Ausscheiden aus Lösungen (Harn) bestehen die Kristalle aus zierlichen, glänzenden und das Licht stark brechenden Quadratoktaedern, die mit Briefcouverten Ähnlichkeit haben. (S. Sedimente.)

17. Bernsteinsäure. $C_4H_6O_4$ oder $\begin{matrix} CH_2 . COOH \\ | \\ CH_2 . COOH. \end{matrix}$

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

Darstellung.

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

Nachweis.

1. Erhitzt man die reine Säure oder das Natronsalz mit saurem schwefelsaurem Kali im Reagenscylinder, so sublimiert die Bernsteinsäure in weißen, zum Husten reizenden Dämpfen.
2. Eisenchlorid bewirkt in Lösungen blaßrote Niederschläge; neutrales essigsaures Blei erzeugt einen weißen in überschüssiger Bernsteinsäure, Essigsäure und neutralem Bleiacetat löslichen Niederschlag.

Eigenschaften.

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

18. 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 Ammon im Harn vor und ist als Oxalsäure aufzufassen, in welcher die eine Hydroxylgruppe durch den Harnstoffrest ersetzt ist; unter Einwirkung von Säuren zerfällt sie leicht in Oxalsäure und Harnstoff. Die Oxalursäure hat nur wissenschaftliches Interesse.

Darstellung.

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

kristallinischen Rückstand reinigt man durch mehrmaliges Waschen mit Alkohol und Umkristallisieren aus der wässerigen Lösung.

Qualitativer Nachweis.

1. Charakteristisch ist das Ammonsalz, das in seidenglänzenden, langen, an den Enden zugespitzten Prismen, in schönen Doppelbüscheln oder Rosetten angeordnet, kristallisiert, ferner das oxalursaure Silber, aus zierlichen, aus haarfeinen Nadeln zusammengesetzten Sternen und Rosetten bestehend und das oxalursaure Blei, in wohl ausgebildeten, vierseitigen Prismen mit sechs Endflächen kristallisierend.
2. Beim Vermischen einer verdünnten wässerigen Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak entsteht erst nach dem Erwärmen der Mischung, wobei die Oxalursäure in Harnstoff und Oxalsäure sich zersetzt, eine Fällung von oxalsaurem Kalk; unter dem Mikroskope findet man dann die bekannten Quadratoktaeder des oxalsauren Kalkes, der allerdings nur aus verdünnten Lösungen schön kristallisiert erhalten wird. Aus konzentrierten Lösungen scheidet sich oxalsaurer Kalk amorph aus.

Eigenschaften.

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

19. Allantoïn. $C_4H_6N_4O_3$ oder $CO\langle \begin{matrix} NH-CH-NH \\ | \\ NH-CO \quad NH_2 \end{matrix} \rangle CO$.

Allantoïn, das Diureïd der Glyoxylsäure, ein oxydatives Spaltungsprodukt der Harnsäure, findet sich im Harne noch säugender Kälber, im menschlichen Harne nach dem Genusse großer Mengen Gerbsäure, im leukämischen Blute, in der Allantoïsflüssigkeit der Kühe, im Harne der neugeborenen Kinder, im Kindswasser. Im normalen menschlichen Harne soll es in geringen Mengen vorkommen, reichlicher im Harne der Schwangeren.

Darstellung und quantitative Bestimmung.

Nach O. Loewi[1]) wird die Fällbarkeit des Allantoïns mit Silberlösung benutzt.

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 Silbernitratlösung 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 Allantoïns 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 gewogen.

1 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure nach Kjeldahl = 0,0039 gr Allantoïn.

Beurteilung.

Swain[2]) empfiehlt das angegebene Verfahren neuerdings als ganz brauchbar.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Das Allantoïn kristallisiert in wasserhellen, in kaltem Wasser wenig löslichen glänzenden Prismen, in unreinem Zustande in Warzen und Körnern; es verbindet sich mit Säuren und Basen zu Salzen, von denen namentlich die mit Quecksilberoxyd und Silberoxyd wichtig sind. Durch Bleiacetat und Phosphorwolframsäure wird es nicht gefällt.

Das Allantoïn 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

[1]) Arch. exp. Path. u. Pharm. 1900. **44.** 19.
[2]) Amer. Journ. of Physiol. 1902. **6.** 88.

Anwesenheit von Allantoïn entsteht ein weißer glitzernder, oder flockiger Niederschlag. Der gesammelte gewaschene Niederschlag enthält nach dem Glühen 40,75 % Ag.

2. Mit einigen Kriställchen stellt man die Schiffsche Reaktion an (S. 121).
3. Salpetersaures Quecksilberoxyd bewirkt eine Fällung.

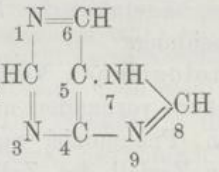
20. Purinkörper.

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 nun 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, Nukleïnbasen bekannt waren, die man nun aber zweckmäßig als Purinbasen bezeichnen wird.

Die Muttersubstanz, das Purin

$C_5H_4N_4$ oder

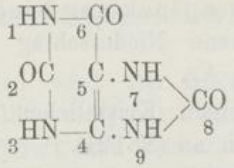


ist eine neungliedrige Kohlenstickstoff-Wasserstoffverbindung, von der sich durch Substitution der Wasserstoffatome die Harnsäure sowohl, wie auch die sämtlichen Purinbasen ableiten und erklären lassen. Das Purin ist gleichzeitig Säure und starke Base, schmilzt bei 216—217°, ist sehr leicht löslich in Wasser und beständig gegen oxydierende Agentien; bemerkenswert ist die Unlöslichkeit seines Zinksalzes.

[1]) Berl. Ber. 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.

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

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt von der Menge der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen verläuft die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchnitt 1 : 45; nach Salkowski ist 1 : 40 die Grenze des Normalen. Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden nur bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnukleins 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. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natron) wird eine Ver-

Zur Bestimmung der Harnsäure hatte im vorigen Jahre (s. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 65) Pizzorno ein Verfahren angegeben, das auf Oxydation der Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff mittels Jod beruhte. 150 ccm Harn werden behufs Lösung der Harnsäure und Urate erwärmt, erkalten gelassen und mit Tierkohle geschüttelt, worauf 100 ccm des Filtrats mit 50 ccm $^1/_{20}$ n.-Jodlösung versetzt werden und der Überschuß mit Thiosulfat zurücktitriert wird. Bezeichnet man das Volumen der angewandten Hyposulfitlösung mit n, so drückt 50—n die Zahl der zur Oxydation der Harnsäure verbrauchten Kubikzentimeter Jodlösung aus. Diese ergibt, mit 0,042 multipliziert, die Menge der in 1 l Harn enthaltenen Harnsäure.

In Nr. 2 (1912) des Rép. de Pharm. wird dieses Verfahren durch H. Caron einer Kritik unterzogen. Bei der Nachprüfung bedient der Verfasser sich einer kleinen Modifikation, indem er zuerst 50 ccm Thiosulfatlösung und dann bei Gegenwart von Stärke allmählich die Jodlösung hinzugibt, um die Endreaktion auf solche Weise zweckmäßiger durch Färbung, als durch Entfärbung festzustellen. Das wesentliche seiner Prüfung aber besteht in dem Befunde, daß die Tierkohle dem Harn eine erhebliche Menge oxydabler Stoffe, besonders aber Harnsäure entzieht, die sowohl von der Quantität der angewandten Tierkohle wie von der Dauer der Einwirkung abhängig ist. Außerdem ist auch die Dauer der Einwirkung des Jods von großem Einfluß. Bei einem und demselben Harn erhielt man Harnsäuremengen von 1,008 bis 0,2352 g.

Nach allem empfiehlt Caron, die Harnsäure vor ihrer Bestimmung nach dem Pizzornoschen Verfahren in möglichst reinem Zustande zu isolieren, indem man sie beispielsweise nach den Angaben von Ronchèse (s. Pharm. Ztg. 1906, Nr. 29) als Ammoniumurat fällt.

mehru … säureausscheid … schiedener Medik … lei. Nach den r … ebildung nicht, … u werden, es sch … e größere Beder … rte Harnsäurel … weben zu suche…

I…

…der beim quant … kowski-Ludv…

H…

I… …s Pulver, aus r … end; aus saurer … it Säuren krista … gefärbten Form … en Säure im Ha … g in den meiste … r sauren Alkali … alien, indem … übergeht und d … les harnsauren … det; daß andere Vorgänge (saure Gärung) diese Abscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß eben über diese Vorgänge noch zu wenig. Die Grundform 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 findet sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 27); s. auch Sedimente.

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. Als zweibasische

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900/1901. **31.** 41.

Zur Bestimmung der Harnsäure hatte im vorigen Jahre (s. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 65) Pizzorno ein Verfahren angegeben, das auf Oxydation der Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff mittels Jod beruhte. 150 ccm Harn werden behufs Lösung der Harnsäure und Urate erwärmt, erkalten gelassen und mit Tierkohle geschüttelt, worauf 100 ccm des Filtrats mit 50 ccm $^1/_{20}$ n.-Jodlösung versetzt werden und der Überschuß mit Thiosulfat zurücktitriert wird. Bezeichnet man das Volumen der angewandten Hyposulfitlösung mit n, so drückt 50—n die Zahl der zur Oxydation der Harnsäure verbrauchten Kubikzentimeter Jodlösung aus. Diese ergibt, mit 0,042 multipliziert, die Menge der in 1 l Harn enthaltenen Harnsäure.

In Nr. 2 (1912) des Rép. de Pharm. wird dieses Verfahren durch H. Caron einer Kritik unterzogen. Bei der Nachprüfung bedient der Verfasser sich einer kleinen Modifikation, indem er zuerst 50 ccm Thiosulfatlösung und dann bei Gegenwart von Stärke allmählich die Jodlösung hinzugibt, um die Endreaktion auf solche Weise zweckmäßiger durch Färbung, als durch Entfärbung festzustellen. Das wesentliche seiner Prüfung aber besteht in dem Befunde, daß die Tierkohle dem Harn eine erhebliche Menge oxydabler Stoffe, besonders aber Harnsäure entzieht, die sowohl von der Quantität der angewandten Tierkohle wie von der Dauer der Einwirkung abhängig ist. Außerdem ist auch die Dauer der Einwirkung des Jods von großem Einfluß. Bei einem und demselben Harn erhielt man Harnsäuremengen von 1,008 bis 0,2352 g.

Nach allem empfiehlt Caron, die Harnsäure vor ihrer Bestimmung nach dem Pizzornoschen Verfahren in möglichst reinem Zustande zu isolieren, indem man sie beispielsweise nach den Angaben von Ronchèse (s. Pharm. Ztg. 1906, Nr. 29) als Ammoniumurat fällt.

nach dieser Zeit weder Blätterbildung, n
Wandbeschlag, noch Bodensatz zeigen.
müssen leicht aus der Feder fließen und dür
selbst unmittelbar nach dem Trocknen ni
klebrig sein. Blauholz- und Farbstoffschreibtin
unterliegen nicht der amtlichen Prüfung.

Pharmazeutischer Fragekasten.

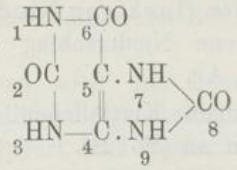
(Alle eingehenden Fragen werden entweder an die
Stelle oder im Briefwechsel erledigt, und zwar die
Mittwoch früh eingehenden im Fragekasten der lauf
den Woche. Eine schriftliche Beantwo
tung kann in der Regel nicht erfolge

Nr. 974. ***Blumen konservieren.*** Bitte
Mitteilung eines Verfahrens, nach welch
Blumen in ihrer natürlichen Beschaffenheit
halten werden können.

Antwort. Zum Konservieren frischer Blum
wird u. a. folgendes Verfahren als brauchbar em
fohlen: Die Blumen werden aufrecht in ein ger
miges Gefäß gestellt und vorsichtig mit feine
trocknem Sande übergossen. Nach 8—10 Tagen w
der Sand vorsichtig ausgegossen, bei sehr saftig
Blumen event. erneuert. Die Blumen behal
vollständig Farbe und Form. Ein anderes V
fahren beruht nach Wimmer (vergl. Pharm. Z
1911, Nr. 38) auf der Imprägnierung a
Pflanzenteile mit einer gesättigten Naphtha
lösung, der man, um ihr die alkalische Reakt
gegenüber violetten und roten Farbstoffen
nehmen, 1—2 Tropfen einer konzentrierten Lösu
von Salicylsäure in absolutem Alkohol auf
100 g zusetzt. Meist genügt einfaches Eintauc
der Pflanze. Zartere Pflanzen benetzt man mit
einer Tropfflasche. Fleischige Pflanzen bedür
natürlich einer größeren Menge Lösung, ehe a
mit Naphthalinkristallen genügend gedeckt

A. Die Harnsäure.

$C_5H_4N_4O_3$ oder



Diese ist aufzufassen als ein Trioxypurin und zwar 2, 6, 8 Trioxypurin.

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

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt von der Menge der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen verläuft die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchnitt 1:45; nach Salkowski ist 1:40 die Grenze des Normalen. Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden nur bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnukleins 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. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natron) wird eine Ver-

mehrung beobachtet. Vermindert wird die Harnsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, nach Genuß verschiedener Medikamente, wie Chinin, Koffein, Antipyrin, Eisen, Blei. Nach den neuen Beobachtungen scheint die Harnsäurebildung nicht, wie angenommen, durch die Milz betätigt zu werden, es scheint vielmehr der Leber für diese Bildung eine größere Bedeutung zuzukommen; jedenfalls ist aber vermehrte Harnsäurebildung in dem Zerfall von nukleinhaltigen Geweben zu suchen.

Darstellung.

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

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die reine Harnsäure bildet ein weißes, leichtes Pulver, aus rhombischen, durchsichtigen Täfelchen bestehend; aus saurem Harne, ebenso beim Stehenlassen von Harn mit Säuren kristallisiert sie in den verschiedensten, fast stets gelbgefärbten Formen aus (Fig. 27). Dieses Ausscheiden der freien Säure im Harn nach dem Abkühlen findet seine Erklärung in den meisten Fällen in der stattgehabten Umsetzung der sauren Alkalisalze (saure Urate) mit den phosphorsauren 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 (saure Gährung) diese Abscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß eben über diese Vorgänge noch zu wenig. Die Grundform 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 findet sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 27); s. auch Sedimente.

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. Als zweibasische

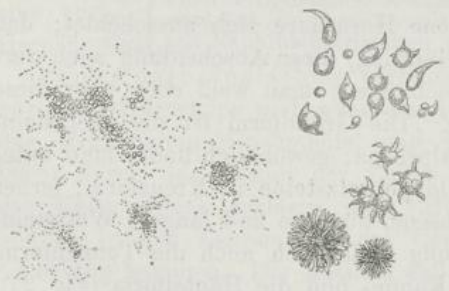
[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900/1901. **31.** 41.

Säure bildet sie neutrale und saure Salze; erstere sind in Wasser leicht, letztere besonders in der Kälte schwer löslich. Die Salze der alkalischen Erden und der meisten Schwermetalle sind sehr schwer löslich; durch salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure, auch konzentrierte alkoholische Pikrinsäurelösung wird die Harnsäure vollkommen gefällt. Im normalen Harne ist die Harnsäure stets an Basen gebunden (Natrium, Ammonium) in Form der beiden Salze (neutrale u. saure). Unlöslich ist die Harnsäure ferner in kaltem und heißem Alkohol, auch in Äther; reichlicher löst sie sich in Glycerin und in Salzlösungen (Borax, kohlensaure, phosphorsaure und essigsaure Alkalien, Lithiumsalze, Gegenwart von Harnstoff).



Fig. 27. Harnsäure in verschiedenen Formen (250—300fache Vergr.).

Erhitzt zersetzt sich die Harnsäure unter Bildung von Harnstoff, Cyanursäure, kohlensaurem Ammon und Blausäure; mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure; in neutraler oder alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat behandelt wird die Harnsäure in Kohlensäure und Allantoïn übergeführt; Fehlingsche Lösung wird aus dem gleichen Grunde reduziert (s. Nachweis).



Harnsaures Natron (ca. 200fache Vergr.). Harnsaures Ammon (ca. 350fach Vergr.).

Fig. 28.

Aus saurem Harne sondern sich beim Stehen gerne saure harnsaure Sedimente ab; saures harnsaures Kali oder

Natron finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch das Uroerythrin noch ziegelrot gefärbt erscheinen (Fieberharn — sedimentum lateritium), manchmal [illegible] den unter dem [illegible] phe Körnchen [illegible]. 28). Sedimente lösen [illegible] aber beim Erkalten [illegible] findet sich im [illegible] ogefärbter kugelige [illegible] eses Salz kommt [illegible] r (Fig. 28). Aus [illegible] nicht auf eine [illegible] n.

Zur Harnsäurebestimmung nach Aufrecht mittels der Zentrifuge (vergl. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 37) bemerkt Dr. A. Stephan, daß bei dieser Methode nicht berücksichtigt worden ist, daß in manchen Harnen Mucoidsubstanzen vorkommen, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein können. Diese Mucoidsubstanzen werden durch Ammoniumchlorid gefällt, sie sind in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich und geben die Biuretreaktion. Da diese Substanzen Kaliumpermanganat reduzieren, so ist es bei der Bestimmung der Harnsäure durch Kaliumpermanganat notwendig, sie zu entfernen. Hierzu empfiehlt sich eine Ausfällung mit Ammoniumsulfat in Verbindung mit Uranacetat, und man modifiziert nach dem Verfasser die Aufrechtsche Methode vorteilhaft wie folgt: 25 ccm einer sauren Ammonsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10 prozentige Essigsäure werden in 650 ccm Wasser gelöst) werden mit 100 ccm Harn gemischt, 5 Minuten stehen gelassen und durch ein Faltenfilter filtriert. 25 ccm Filtrat = 20 ccm Harn versetzt man mit 1 ccm Ammoniak 10 p. c., dampft auf etwa $^1/_5$ des ursprünglichen Volumens ein und verfährt weiter nach den Angaben Aufrechts.

und sehr

char [illegible] oder von [illegible] mit etwas [illegible]t — am [illegible]älchen — [illegible] meistens [illegible] usatz von [illegible] mmoniak-

dämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, welche auf Zusatz von Natron- oder Kalilauge in violett umschlägt. Beim Erwärmen verschwindet die violette Farbe rasch — Unterschied von Xanthinkörpern. Der purpurfarbene Körper ist Murexid oder purpursaures Ammonium, der durch Kalilauge erzeugte Körper ist purpursaures Kali.

2. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn dieselbe nicht im Überschuß vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschuß von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoïn oxydiert wird.

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.

Zur Harnsäurebestimmung nach Aufrecht mittels der Zentrifuge (vergl. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 37) bemerkt Dr. A. Stephan, daß bei dieser Methode nicht berücksichtigt worden ist, daß in manchen Harnen Mucoidsubstanzen vorkommen, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein können. Diese Mucoidsubstanzen werden durch Ammoniumchlorid gefällt, sie sind in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich und geben die Biuretreaktion. Da diese Substanzen Kaliumpermanganat reduzieren, so ist es bei der Bestimmung der Harnsäure durch Kaliumpermanganat notwendig, sie zu entfernen. Hierzu empfiehlt sich eine Ausfällung mit Ammoniumsulfat in Verbindung mit Uranacetat, und man modifiziert nach dem Verfasser die Aufrechtsche Methode vorteilhaft wie folgt: 25 ccm einer sauren Ammonsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10 prozentige Essigsäure werden in 650 ccm Wasser gelöst) werden mit 100 ccm Harn gemischt, 5 Minuten stehen gelassen und durch ein Faltenfilter filtriert. 25 ccm Filtrat = 20 ccm Harn versetzt man mit 1 ccm Ammoniak 10 p. c., dampft auf etwa $^1/_5$ des ursprünglichen Volumens ein und verfährt weiter nach den Angaben Aufrechts.

klärt werden. Trübt sich der Harn bei Zusatz der Essigsäure schon in der Kälte (Gehalt an einem gewöhnlich als Nukleoalbumin bezeichneten Körper), so wird er dann ebenfalls filtriert. Ist der zu prüfende Urin alkalisch, so muß der Harn mit der verdünnten Essigsäure auf eben schwachsaure Reaktion gebracht und dann noch mit der angegebenen Essigsäuremenge versetzt werden. Zur Sicherung empfiehlt es sich. nach dem Kochen noch einige weitere Tropfen Essigsäure zuzusetzen, um event. ausgefällte Phosphate zu lösen. Bereits ausgefälltes Eiweiß, auch wenn es sich nur um Spuren handelt, wird durch einen geringen Mehrzusatz von Essigsäure dagegen nicht wieder gelöst, falls nicht von neuem gekocht wird."

Es handelt sich bei der vorstehenden Methode im wesentlichen nur um eine Kochprobe mit vorherigem Säurezusatz, die von anderer Seite wieder als wenig empfehlenswert hingestellt wird (vergl. Pharm. Ztg. 1909, Nr. 98), die aber nach den Versuchen des Verfassers als eine sehr empfindliche und zuverlässige gelten kann. (M. med. Wschr. 1911, Nr. 21.)

Eine quantitative Bestimmung gelöster Eiweißstoffe im Mageninhalt, die eine Orientierung der Verdauungsarbeit ermöglicht, wird von Dr. W. Wolff und Dr. P. Junghans beschrieben. Die Methode, die zwar keine absoluten

Natron finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch das Uroerythrin noch ziegelrot 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. 28).

Die aus den harnsauren Salzen bestehenden Sedimente lösen sich beim schwachen Erwärmen leicht, fallen aber beim Erkalten wieder aus. Das harnsaure Ammon findet sich im Sediment von alkalischem Harn in Form gelbgefärbter kugeliger, auch mit Stacheln besetzter Massen; dieses Salz kommt in Phosphatsteinen und Blasenkonkrementen vor (Fig. 28). 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 eintrocknen, so bleibt meistens schon ein rotgefärbter Rückstand, der auf Zusatz von wenig Ammoniak — man bläst am besten Ammoniakdämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, welche auf Zusatz von Natron- oder Kalilauge in violett umschlägt. Beim Erwärmen verschwindet die violette Farbe rasch — Unterschied von Xanthinkörpern. Der purpurfarbene Körper ist Murexid oder purpursaures Ammonium, der durch Kalilauge erzeugte Körper ist purpursaures Kali.
2. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn dieselbe nicht im Überschuß vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschuß von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoïn oxydiert wird.

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 Natron, so entsteht ein schwarzer Fleck) ist mit Vorsicht aufzunehmen, da diese Reaktion durch eine Reihe anderer Stoffe ebenfalls hervorgebracht werden kann.

3. Prüfung unter dem Mikroskope (Fig. 27 u. Sedimente).

Die quantitatve Bestimmung der Harnsäure.

Diese Bestimmung ist wohl nur von Wert, wenn sie in einem Teile der sorgfältig gesammelten 24stündigen Harnmenge vorgenommen wird, falls nicht von Seite des Arztes anders gewünscht wird. Etwaige 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 von diesem befreit werden (s. S. 27), ebenso kann auch diabetischer Harn keine Verwendung finden, da sich die Harnsäure hier nur unvollkommen abscheidet.

Von sehr verdünntem Harne verwendet man 400 ccm und dampft denselben auf die Hälfte ein; von Harn mit einem spez. Gew. von 1.020 genügen 200 ccm, von noch konzentrierterem 100 ccm. Hat sich im Harne, worauf vom Beginne jeder Bestimmung besonders zu achten ist, ein Harnsäure enthaltendes Sediment (Urate) abgesetzt, so ist dieses durch Einstellen der Flasche u. s. w. 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 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt, 36—48 Stunden an einem kühlen Orte stehen gelassen und die ausgeschiedenen Kristalle auf einem bei 100° getrockneten und gewogenen Filter oder zweckmäßiger im Goochschen Tiegel gesammelt; nach 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.

[1]) Annal. Chem. Pharm. **130.** 189.

Ueber eine einfache und schnelle Methode zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure im Harne, im Blute und in anderen serösen Flüssigkeiten.

Von Dr. Aufrecht-Berlin.

Das vom Verfasser zur Harnsäurebestimmung empfohlene Verfahren beruht auf der Abscheidung der Säure als Ammoniumurat und Titration mit Permanganat. Die Ausführung geschieht in folgender Weise:

25 ccm des zu untersuchenden Harns werden in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbade bis auf etwa ein Fünftel seines ursprünglichen Volumens eingedampft, der Rückstand wird in ein zylindrisches, unten abgerundetes, mit zwei Marken versehenes Zentrifugenröhrchen von Goedecke & Co.-Berlin gefüllt und mit destilliertem Wasser bis zur Marke *U* nachgespült, dann wird eine gesättigte Lösung von Chlorammonium (35 : 100) bis zur Marke *R* hinzugefügt. Nachdem der gut abgekühlte Inhalt des Röhrchens durchgemischt worden ist, bringt man dasselbe in die Metallhülse einer Zentrifuge und zentrifugiert je nach der Umlaufsgeschwindigkeit der Zentrifuge 3—5 Minuten. Die über dem bräunlichgelben amorphen Bodensatze befindliche klare Flüssigkeit wird abgegossen (filtrieren ist dabei nicht erforderlich), der Bodensatz mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals scharf zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird nochmals abgegossen und neue Ammoniumsulfatlösung hinzugefügt. Hierauf wird wieder einige Minuten scharf zentrifugiert. Um den Niederschlag völlig chlorfrei zu bekommen, empfiehlt es sich, dieses Waschen noch einmal zu wiederholen. Nunmehr wird der aus Ammoniumurat bestehende Bodensatz in etwa 10 ccm einer 1%igen Natriumkarbonatlösung gelöst, die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen des Röhrchens in ein Becherglas gebracht, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und rasch mit $^n/_{100}$ Kaliumpermanganatlösung bis zur Rotfärbung titriert. Jedes verbrauchte Kubikzentimeter $^n/_{100}$ Permanganatlösung entspricht 0,74 mg Harnsäure.

Enthält der Harn gerinnbares Eiweiß, so wird derselbe vorher mit so viel Essigsäure angesäuert, als zur vollständigen Abscheidung des Eiweißes beim Kochen erforderlich ist. Von dem filtrierten und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllten Harn werden alsdann 25 ccm abgemessen und in der angegebenen Weise weiter behandelt.

Zur Bestimmung der Harnsäure im Blute, in der Lymphe und in Transsudaten verfährt man in ähnlicher Weise: 10 ccm der Flüssigkeit werden mit der 10fachen Menge Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt und die abgeschiedenen Eiweißmassen abfiltriert. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volumen eingedampft, in das Zentrifugenröhrchen gefüllt, mit konzentrierter Chlorammoniumlösung bis zur Marke *R* aufgefüllt und nach dem vollständigen Erkalten der Mischung zentrifugiert. Der am Boden des Röhrchens befindliche braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Ammonium wird in heißem alkalischen Wasser gelöst und wie oben angegeben weiter behandelt.

(Berl. klin. Wochenschr. 1911, S. 627.)

[illegible] mit einer Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, die man vorher in einem Becherglase gemischt und mit soviel 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% ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man

[1]) Wien. med. Jahrb. 1884. 597.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

Ueber eine einfache und schnelle Methode zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure im Harne, im Blute und in anderen serösen Flüssigkeiten.

Von Dr. Aufrecht-Berlin.

Das vom Verfasser zur Harnsäurebestimmung empfohlene Verfahren beruht auf der Abscheidung der Säure als Ammoniumurat und Titration mit Permanganat. Die Ausführung geschieht in folgender Weise:

25 ccm des zu untersuchenden Harns werden in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbade bis auf etwa ein Fünftel seines ursprünglichen Volumens eingedampft, der Rückstand wird in ein zylindrisches, unten abgerundetes, mit zwei Marken versehenes Zentrifugenröhrchen von Goedecke & Co.-Berlin gefüllt und mit destilliertem Wasser bis zur Marke *U* nachgespült, dann wird eine gesättigte Lösung von Chlorammonium (35 : 100) bis zur Marke *R* hinzugefügt. Nachdem der gut abgekühlte Inhalt des Röhrchens durchgemischt worden ist, bringt man dasselbe in die Metallhülse einer Zentrifuge und zentrifugiert je nach der Umlaufsgeschwindigkeit der Zentrifuge 3—5 Minuten. Die über dem bräunlichgelben amorphen Bodensatze befindliche klare Flüssigkeit wird abgegossen (filtrieren ist dabei nicht erforderlich), der Bodensatz mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals scharf zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird nochmals abgegossen und neue Ammoniumsulfatlösung hinzugefügt. Hierauf wird wieder einige Minuten scharf zentrifugiert. Um den Niederschlag völlig chlorfrei zu bekommen, empfiehlt es sich, dieses Waschen noch einmal zu wiederholen. Nunmehr wird der aus Ammoniumurat bestehende Bodensatz in etwa 10 ccm einer 1%igen Natriumkarbonatlösung gelöst, die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen des Röhrchens in ein Becherglas gebracht, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und rasch mit $^n/_{100}$ Kaliumpermanganatlösung bis zur Rotfärbung titriert. Jedes verbrauchte Kubikzentimeter $^n/_{100}$ Permanganatlösung entspricht 0,74 mg Harnsäure.

Enthält der Harn gerinnbares Eiweiß, so wird derselbe vorher mit so viel Essigsäure angesäuert, als zur vollständigen Abscheidung des Eiweißes beim Kochen erforderlich ist. Von dem filtrierten und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllten Harn werden alsdann 25 ccm abgemessen und in der angegebenen Weise weiter behandelt.

Zur Bestimmung der Harnsäure im Blute, in der Lymphe und in Transsudaten verfährt man in ähnlicher Weise: 10 ccm der Flüssigkeit werden mit der 10fachen Menge Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt und die abgeschiedenen Eiweißmassen abfiltriert. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volumen eingedampft, in das Zentrifugenröhrchen gefüllt, mit konzentrierter Chlorammoniumlösung bis zur Marke *R* aufgefüllt und nach dem vollständigen Erkalten der Mischung zentrifugiert. Der am Boden des Röhrchens befindliche braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Ammonium wird in heißem alkalischen Wasser gelöst und wie oben angegeben weiter behandelt.

(Berl. klin. Wochenschr. 1911, S. 627.)

verdünnt man mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm Phosphorsäure und nach dem Umschwenken 1 g Jodkalium hinzu und titriert sogleich mit $^1/_{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung. Zur Bindung des ausgeschiedenen Jods dürfen nicht weniger als 15,8 und nicht mehr als 16,2 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung verbraucht werden, was einem Gehalte von 4,01—4,11% Jod entspricht.

Sirupus Ferri oxydati ist nicht verändert.

Wie schon erwähnt, wird *Sirupus Ipecacuanhae* durch Mischung von 1 Teil Brechwurzeltinktur mit 9 Teilen Zuckersirup bereitet.

Sirupus Liquiritiae, *Sirupus Mannae*, *Sirupus Menthae piperitae* und *Sirupus Rhamni catharticae* werden wie bisher bereitet, nur werden statt grob zerschnittenen Süßholzes und mittelfein zerschnittener Pfefferminzblätter jetzt grob gepulverte Drogen verwandt.

Sirupus Rhei wird nunmehr aus mittelfein zerschnittenem Rhabarber und nur mit Kaliumkarbonat (früher noch Natriumborat) bereitet.

Sirupus Rubi Idaei ist wie Sirupus Cerasorum auf Salicylsäure, Stärkesirup und Teerfarbstoffe zu prüfen.

Sirupus Senegae und *Sirupus Sennae* sind unverändert übernommen, statt mittelfein zerschnittener Senegawurzel ist nur grobes Pulver zu verwenden.

Sirupus simplex ist nunmehr auf Stärkesirup zu prüfen.

Solutio Natrii chlorati physiologica ist neu aufgenommen. Durch die Forderung, daß physiologische Kochsalzlösung nur keimfrei abgegeben werden darf, ergibt sich die Notwendigkeit, entweder die Lösung stets frisch zu bereiten und zu sterilisieren oder aber für eine in jeder Beziehung einwandfreie sterile Aufbewahrung Sorge zu tragen. Das Arzneibuch hätte nun meines Erachtens angeben sollen, in welcher Weise die Kochsalzlösung aufbewahrt werden soll, um der obigen Forderung gerecht zu werden, denn diese Lösung wird nicht selten eilig verlangt, so daß ein Vorrätighalten notwendig ist. Leider hat das Arzneibuch auch jetzt wieder von einem besonderen Abschnitt über Sterilisation abgesehen, in vier dürftigen Zeilen wird in der Vorrede von Sterilisation gesprochen! Um so mehr hätte doch dieser Abschnitt über physiologische Kochsalzlösung das Notwendigste über Aufbewahrung usw. enthalten sollen.

(Fortsetzung folgt.)

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.

2. Methode von Salkowski-Ludwig[1]) mit den von O. Folin und Ph. A. Shaffer[2]) angegebenen Modifikationen.

Prinzip.

Es wird die Harnsäure als Silbermagnesiasalz ausgefällt und die aus der Silberfällung freigemachte Säure entweder gewogen, nach Kjeldahl bestimmt oder titriert.

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 kristallisiertes Chlormagnesium löst man in einem Literkolben in der genügenden Menge Wasser, setzt Ammoniak hinzu, daß die Mischung stark darnach riecht, und dann soviel kalt gesättigte Chlorammoniumlösung, bis der entstandene Niederschlag von Magnesiahydrat wieder gelöst wird; man füllt endlich bis zur Marke auf. Die Lösung muß klar sein.

3. Schwefelalkalilösung nach Ludwig.

15 g Ätzkali oder 10 g Ätznatron, welche 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 Modifikationen sind an den betreffenden Stellen angefügt.

Ausführung.

Der bis zum spezifischen Gewicht 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 soviel 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 % ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man

[1]) Wien. med. Jahrb. 1884. 597.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 552.

sich nach dem Absetzen des Niederschlages überzeugt, daß die Flüssigkeit überschüssiges Silber enthält. Folin und Shaffer fanden, daß das wie eingangs 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 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, wobei man das Filter nicht verletzt. Nun säuert man nach Salkowski mit Salzsäure an und leitet in die ungefähr 200 bis 250 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlag der harnsauren Silbermagnesia bis zur Sättigung Schwefelwasserstoff ein und zwar, nachdem man vorher (nach Shaffer und Folin) 5—10 ccm einer 1 % 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, zum Sieden erhitzt und diese Lösung durch das bereits benützte Filter in das Becherglas mit dem Niederschlag filtriert. Man wäscht mit heißem Wasser nach, erwärmt dann das Becherglas mit Inhalt auf dem Wasserbade — zu langes und starkes Erhitzen ist zu vermeiden, da die Harnsäure in alkalischer Lösung bei Zutritt von Luft teilweise zu Uroxansäure oxydiert wird — und filtriert nach dem Erkalten durch das gleiche Filter in eine Krystallisier- 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 Kristallisierschale (auch Becherglas) bis auf wenige Kubikzentimeter (ca. 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, indem man das Filtrat benutzt, um die letzten Teile der ausgeschiedenen Harnsäure aufs Filter zu bringen. Man wäscht schließlich mit kleinen Mengen Wassers nach, bis das Filtrat

keine Chlorreaktion mehr gibt und mißt die Menge des Filtrates und des Waschwassers, die zusammen ungefähr 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 dann 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. 160).

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 waschen, sondern kann diese direkt in das Becherglas spülen, mit Hilfe von ein wenig Natronlauge (man verwende kein durch Alkohol gereinigtes NaOH) lösen und nach Schwefelsäurezusatz mit Permanganat titrieren (S. 159).

Beurteilung.

Die Methode liefert, in der angegebenen Weise vorgenommen, recht gute Resultate. Xanthin wird auch als Silberverbindung ausgefällt, auch ist dasselbe in Wasser schwer löslich, so daß ein Teil als Harnsäure gewogen wird; doch ist dieser Fehler bei den geringen vorhandenen Mengen an Xanthin im Harn nicht von Belang.

3. Bestimmung nach Jolles.[2])

Prinzip.

Die isolierte Harnsäure wird durch Behandlung mit Schwefelsäure und Permanganat in solche Verbindungen quantitativ zerlegt, die ihren Stickstoff durch unterbromigsaures Natron quantitativ in Gasform abgeben. Aus dem Stickstoffvolumen berechnet man die Harnsäure.

Erforderliche Lösungen.

1. Schwefelsäure 1,40 spez. Gew. (ca. 51 g konz. H_2SO_4 und ca. 49 g destilliertes Wasser).
2. Permanganatlösung. 8 g $KMnO_4$: 1 Liter.
3. Bromlauge. 80 g Ätznatron löst man unter Kühlen in destilliertem Wasser und setzt 25 g Brom hinzu; man füllt mit destilliertem Wasser auf 1 Liter auf.

Ausführung der Bestimmung.

Von eiweiß- und zuckerfreien Harnen bis zu einem spezifischen Gewichte von 1,028 g werden 100 ccm, von konzen-

[1]) Thèse de Lille 1901; Zeitschr. analyt. Chem. 1902. **41.** 392.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **29.** 222; Chem. Ztg. 1902. **26.** 1015; Wien. mediz. Wochenschr. 1903. **41.** Nr. 10.

trierteren Harnen 50 ccm entnommen und in einem etwa 500 bis 600 ccm fassenden Becherglase mit ca. 10 g festem Ammoniumacetat versetzt; man rührt mit einem Glasstabe um und fügt soviel konzentriertes Ammoniak tropfenweise zu, bis die Flüssigkeit deutlich nach Ammoniak riecht.[1]) In der Regel genügen etwa 3—5 ccm Ammoniak. Nach circa 4stündigem ruhigen Stehen wird durch ein Schleichersches Filter filtriert, der im Becherglase verbleibende Rückstand mit 10%iger Ammoniumkarbonatlösung gewaschen und die Lösung ebenfalls filtriert. Der auf dem Filter befindliche Niederschlag wird hierauf mit der Ammoniumkarbonatlösung in Portionen von etwa 10 ccm so oft ausgewaschen, bis das Waschwasserfiltrat keine Chlorreaktion mehr zeigt, was in der Regel nach etwa 9—10maligem Auswaschen erreicht wird. Hierauf wird das Filter samt dem Niederschlage in noch feuchtem Zustande auf ein entsprechend großes Uhrglas ausgebreitet und der Niederschlag mit heißem destilliertem Wasser quantitativ in das zur Fällung benutzte Becherglas abgespritzt. Man bringt hierauf in das Becherglas 0,1—0,2 g chemisch reine Magnesia und kocht den Inhalt des Becherglases solange, bis angefeuchtetes rotes Lackmuspapier von den entweichenden Dämpfen nicht mehr gebläut wird, was nach circa $^1/_2$ —$^3/_4$stündigem Kochen erreicht ist. Hierauf wird der Inhalt des Becherglases unter Abspritzen des Glasrandes auf ungefähr 250 bis 300 ccm gebracht, 10 ccm einer Schwefelsäurelösung vom spezifischen Gewichte 1,40 hinzugegeben, zum Kochen erhitzt und dann aus einer Bürette von der Permanganatlösung — und zwar nur je 1 ccm auf einmal — zugesetzt. Die ersten Permanganatzusätze werden von der Harnsäure sofort reduziert, etwa bis zu dem Momente, wo der Endpunkt der Folinschen Titration erreicht ist. Dann folgt eine Periode, wo die jeweilig zugesetzten Kubikzentimeter Permanganat erst nach mehreren Minuten Kochdauer verschwinden. Gegen das Ende der Oxydation — und dies ist gewissermaßen der dritte Abschnitt — tritt Abscheidung von Mangansuperoxyd ein, welches aber bei weiterem Erhitzen in Lösung geht. Erst wenn die durch den letzten Permanganatzusatz erfolgte Abscheidung von

[1]) Die Fällung kann auch mit 10 g Ammoniumsulfat erfolgen, in welchem Falle der Ammoniakzusatz überflüssig ist.

Mangansuperoxyd bei ca. 20—25 Minuten langem Kochen nicht mehr verschwindet, dann ist die Oxydation als beendet anzusehen Sobald der Inhalt des Becherglases ca. 50 ccm beträgt, verdünnt man neuerdings mit destilliertem Wasser auf etwa 200 ccm, erhitzt zum Kochen und setzt die Oxydation in der oben beschriebenen Weise bis zum Endpunkte fort. Nach beendigter Oxydation wird der Inhalt des Becherglases auf ca. 25 ccm eingedampft, die geringe Braunsteinabscheidung mit etwas Oxalsäure ($^1/_{10}$ Säure) entfernt, die Wände des Becherglases mit ca. 25—30 ccm destilliertem Wasser abgespült und hierauf das Becherglas — am besten unter dem Strahle der Wasserleitung — gut gekühlt. Nunmehr bringt man ein Stückchen Lackmuspapier in das Becherglas und setzt von einer Lauge von 32° Bé. (= 25,8%) je 1 ccm unter Umrühren auf einmal zu, wobei nach jedesmaligem Laugenzusatze das Becherglas gekühlt wird. Wenn die Wände des Becherglases von dem Strahle der Wasserleitung umspült werden, erlangt die Flüssigkeit nach jedesmaligem Laugenzusatze in wenigen Minuten die erforderliche Normaltemperatur. Sobald das Lackmuspapier eben alkalische Reaktion anzeigt, ist die Neutralisation beendet. Man bringt hierauf den Inhalt des Becherglases, dessen Volumen in der Regel ca. 60 ccm beträgt, quantitativ in das ca. 450—500 ccm fassende Schüttelgefäß des Azotometers und spült das Becherglas 2—3mal mit je 8—10 ccm destilliertem Wasser nach, so daß die Gesamtflüssigkeit in dem Schüttelgefäße etwa 90—100 ccm beträgt. In das zweite kleinere, ca. 60 ccm fassende Gefäß — am besten aus Guttapercha — bringt man 25 ccm der frisch bereiteten Bromlauge und führt hierauf die volumetrische Stickstoffbestimmung sofort nach der Neutralisation in der bereits S. 127 beschriebenen Weise durch.

Die Zahl der abgelesenen Kubikzentimeter Stickstoff wird mit dem Faktor der Tabelle, welcher dem beobachteten Drucke und der Temperatur entspricht, multipliziert; man erhält dann direkt die Milligramme Harnsäure im Liter Harn (S. 158).

Beurteilung.

Die Methode gibt — korrekt ausgeführt —, wie Makowka, Richter, Wogrinz und ich bestätigen konnten, sehr gute und zuverläßliche Resultate und hat den großen Vorzug der Einfachheit, da Wägungen und eingestellte Lösungen entbehrlich gemacht sind; den Apparat kann man sich auch selbst zusammenstellen; man muß aber die Größenverhältnisse des Zersetzungsgefäßes und des kleinen Gefäßes berücksichtigen. Bei einem Harnsäuregehalt von 0,03 — 0,08 g erhält man die exaktesten Ergebnisse.

Tabelle zur Harnsäurebestimmung.

1 ccm Stickstoff entspricht Grammen Harnsäure im Liter.

Bei Entnahme von 50 oder 200 ccm sind die Zahlen mit 2 resp. $^1/_2$ zu multiplizieren.

Barometerstand	10°	12°	14°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	25°
700	0,0330	0,0327	0,0324	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0313	0,0312	0,0310	0,0307
2	0,0331	0,0328	0,0325	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0313	0,0311	0,0308
4	0,0332	0,0329	0,0326	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0314	0,0312	0,0309
6	0,0333	0,0330	0,0327	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0318	0,0316	0,0315	0,0313	0,0310
8	0,0334	0,0331	0,0328	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0311
710	0,0335	0,0332	0,0329	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0311
12	0,0336	0,0333	0,0330	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0312
14	0,0337	0,0334	0,0331	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0313
16	0,0338	0,0335	0,0332	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0317	0,0314
18	0,0339	0,0336	0,0333	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0318	0,0315
720	0,0340	0,0337	0,0334	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0319	0,0316
22	0,0341	0,0338	0,0335	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0317
24	0,0342	0,0338	0,0335	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0318
26	0,0342	0,0339	0,0336	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0319
28	0,0343	0,0340	0,0337	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0320
730	0,0344	0,0341	0,0338	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0320
32	0,0345	0,0342	0,0339	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0321
34	0,0346	0,0343	0,0340	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0322
36	0,0347	0,0344	0,0341	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0323
38	0,0348	0,0345	0,0342	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0324
740	0,0349	0,0346	0,0343	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0325
42	0,0350	0,0347	0,0344	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0326
44	0,0351	0,0348	0,0345	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0327
46	0,0352	0,0349	0,0346	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0328
48	0,0353	0,0350	0,0347	0,0344	0,0342	0,0340	0,0339	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0329
750	0,0354	0,0351	0,0348	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0330
52	0,0355	0,0352	0,0349	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0331
54	0,0356	0,0353	0,0350	0,0347	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0332
56	0,0357	0,0354	0,0350	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0332
58	0,0358	0,0355	0,0351	0,0348	0,0347	0,0345	0,0343	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0333
760	0,0359	0,0356	0,0352	0,0349	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0334
62	0,0360	0,0356	0,0353	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0338	0,0335
64	0,0361	0,0357	0,0554	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0336
66	0,0362	0,0358	0,0355	0,0352	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0337
68	0,0363	0,0359	0,0356	0,0353	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0345	0,0343	0,0341	0,0338
770	0,0364	0,0360	0,0357	0,0354	0,0352	0,0351	0,0349	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0339

Ähnlich verfährt J. F. Tocher[1]); er oxydiert die Harnsäure mit CrO_3 zu Harnstoff und bestimmt diesen mit unterbromigsaurem Natron.

[1]) Pharm. Journ. 1902. [4] **15.** 161.

4. Titrimetrische Bestimmung nach Hopkins, modifiziert von O. Folin und Ph. A. Shaffer.[1])

Prinzip.

Die Harnsäure wird als Ammonurat abgeschieden und dieses nach Zusatz von Schwefelsäure mit Permanganat titriert.

Allgemeines über die Methode.

Folin und Shaffer haben die Hopkinsche Ammonsulfatmethode 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 Ammonsalzfällungen zu erhalten; der Grund war der, daß ein in manchen Harnen vorkommender Körper — die Verf. nehmen an, daß es sich um die von K. Mörner erwähnte Mucoidsubstanz handelt, die auch in ganz klaren Harnen in colloidaler Lösung vorhanden sein kann — durch geringe Mengen Ammonsalze gefällt wird und auch Kaliumpermanganat reduziert. Sie haben durch Versuche mit diesem isolierten Körper gefunden, daß er durch Ammonchlorid quantitativ gefällt wird, daß er in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich ist und die Biuretreaktion gibt; in saurer Lösung wird er durch Ammonsulfat 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 Ammonsulfatmethode gestaltet sich nun in folgender Weise.

Erforderliche Lösungen.

500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10% Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm Wasser gelöst. Das Volumen der so erhaltenen Lösung ist fast genau 1 Liter.

Ausführung.

75 ccm dieser Lösung werden mit 300 ccm Harn gemischt und in einem nicht zu weiten Cylinder 5 Minuten stehen gelassen, worauf man durch 2 Faltenfilter filtriert und je 125 ccm vom Filtrate in 2 Bechergläser abmißt. Diesen Filtraten werden nun 5 ccm konzentrierten Ammoniaks zugesetzt und die Lösungen nach Umrühren bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Von dem nun am Boden des Becherglases abgesetzten Ammonurat wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig auf ein Filter (Schleicher u. Schüll Nr. 597) gegossen, zuletzt die Fällung mittels 10% Ammonsulfatlösung 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

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

zuerst aus dem Trichter zu nehmen und zu öffnen, anstatt dasselbe nur mit dem Glasstabe zu durchstoßen. Dem Ammonurat, in annähernd 100 ccm Wasser aufgeschlemmt, wird 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt und die erhaltene Lösung sogleich mit $^1/_{20}$ Permanganatlösung (1,6 : 1 Liter) titriert. Gegen das Ende der Titration ist es zweckmäßig, die Kaliumpermanganatlösung in Portionen von je 2 Tropfen hineinfließen zu lassen, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist.

1 ccm $^1/_{20}$ Permanganatlösung = 0,00375 g Harnsäure.

Die Permanganatlösung kontrolliert man mit Oxalsäure. Eine Korrektur von 3 mg Harnsäure pro je 100 ccm des angewendeten Harnes ist wegen Löslichkeit des Ammonurates hinzuzufügen.

Beurteilung.

Die von den Autoren erhaltenen Zahlen stimmen mit den nach Salkowski-Ludwig erhaltenen überein. Ich habe ebenfalls gute Resultate mit dieser Methode erzielt.

Ikterische Harne — überhaupt stark gefärbte Harne — müßen zuerst durch Zusatz von etwas Eiweißlösung und Aufkochen entfärbt werden. Daß man statt zu titrieren den Stickstoff und somit die Harnsäure nach Kjeldahl bestimmen kann, ist selbstverständlich.

5. Bestimmung nach E. Wörner.[1])

Prinzip.

Das abgeschiedene Ammoniumurat wird in Natronlauge gelöst, das Ammoniak vertrieben und in der alkalischen Harnlösung nach Kjeldahl der Stickstoff bestimmt.

Ausführung.

150 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Ammonchlorid aufgelöst. Nach $^1/_2$ bis 1stündigem Stehen wird der Niederschlag von dem Ammoniumurat abfiltriert, mit 10% Ammonsulfatlösung 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 solange 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. 108).

1 ccm $^1/_{10}$ Schwefelsäure = 0,0042 g Harnsäure.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 29. 70.

Beurteilung.

Größere Mengen Eiweiß sind zu entfernen. Mit Recht bemerkt M. Lewandowsky, daß die Methode dadurch versagen kann, daß das Ammoniumurat nicht ausfällt; die Ursache ist eine übergroße Acidität des Harnes. Man reguliert die Acidität deshalb in der Weise, daß nur schwach saure Reaktion vorhanden ist.

F. Mallet[1]) 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 kristallisiertes 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.

Haykraft, Herrmann fällen die Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung in Gegenwart von Magnesiasalz, wie bei 1 angegeben, aus. In der salpetersauren Lösung des Niederschlages bestimmt man das Silber nach der Volhardschen Methode; man titriert dann mit $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ Normalrhodanammon, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

1 ccm $^1/_{50}$ Rhodanammon = 0,00336 Harnsäure.

Wahl der Methode.

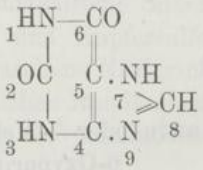
Methode 2 und 3 geben sehr gute Resultate; auch der unter 4 und 5 angeführten Methoden kann man sich bedienen. Wie aus der angegebenen Ausführungsweise zu ersehen ist, erfordert die Methode 2 längeren Zeitaufwand; genaues Arbeiten ist bei allen Methoden unerläßlich. Die Methode 1 hat als älteste Methode mehr historisches Interesse.

B. Purinbasen (Xanthinbasen, Nukleinbasen, Alloxurbasen).

Seitdem experimentell durch die Synthesen nachgewiesen ist, daß die Harnsäure und die Xanthinkörper Abkömmlinge der gleichen Grundform sind und die Xanthinkörper, deren Entstehung und Bildung zum Teil aus den für die gesamten Vorgänge im lebenden Organismus wichtigen Nukleinen erfolgt, als die Vorstufe der Harnsäure gelten, hat man dem Vorkommen dieser Basen im Harn eine größere physiologische Bedeutung beigemessen. Die Xanthinbasen sind in den Nukleinen an die Nukleinsäure gebunden und werden aus diesen durch hydrolytische Spaltung leicht abgeschieden.

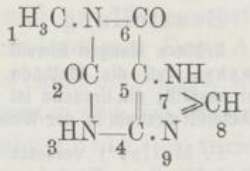
Im Harne kommen vor:

Xanthin oder 2,6-Dioxypurin

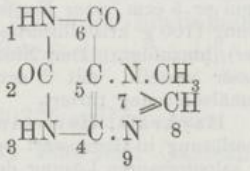


[1]) Rep. Pharm. 1899. **55**. 100.

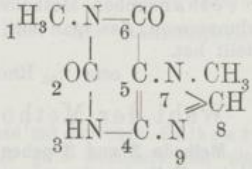
1-Methylxanthin oder 1-Methyldioxypurin 2,6



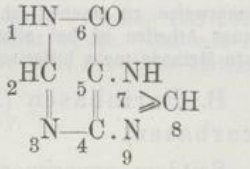
Heteroxanthin oder 7-Methyldioxypurin 2,6



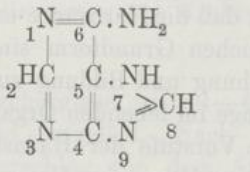
Paraxanthin oder 1,7 Dimethyldioxypurin 2,6



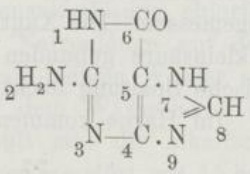
Hypoxanthin oder 6-Oxypurin



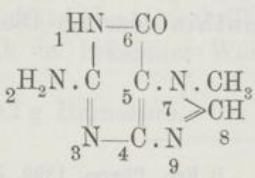
Adenin oder 6-Aminopurin



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.

Was die Herkunft betrifft, so werden Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin aus den Nukleinen gebildet, soweit diese nicht in Harnsäure übergehen, während die methylierten, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Methylxanthin aus den Nahrungs- und Genußmitteln stammen; merkwürdig ist, daß im Organismus eine Entmethylierung stattfindet, indem aus dem Koffein ein Dimethylxanthin entsteht.

Die genannten Basen kommen im Harn 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,
Hypoxanthin 8,50 g,
Adenin 3,54 g,
Epiguanin 3,40 g.

Vermehrt finden sich die Xanthinbasen im Harne Nephritischer und Leukämischer, und zwar kann der Gehalt um das Zehnfache gesteigert werden; bei akuter Leberatrophie tritt ebenfalls Vermehrung ein; bei starker Vermehrung der Xanthinbasen sehen wir gewöhnlich eine Verminderung der Harnsäure und umgekehrt bei starker Harnsäureausscheidung eine Verminderung der Xanthinbasen, 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 Silber-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898/99. **26.** 367.
[2]) Ebenda. 1898/99. **26.** 351.

verbindungen 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-Natriumbisulfitfällung gleichfalls im Rundkolben mit Wasser erwärmt, durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, dann mit Salzsäure bis zur stark 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 beträchtiche 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 % Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Dieselbe 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 % 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. Hierbei wird der Rest der Harnsäure, welcher mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war, zerstört; innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dasselbe 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 Kristallpulver 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 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 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 % 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 überschüssiger 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 konz. Sal-

petersäure) gelöst; beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrate von diesen Körpern werden die noch in demselben vorhandenen Basen und zwar geringe Mengen Hypoxanthin, der Rest von Heteroxanthin und 1-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 1-Methylxanthin, welche durch 3,3 % 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, isoliert und der Rückstand ihrer wässerigen Lösung aus wenig verdünnter Salpetersäure (Konzentration wie angegeben) umkristallisiert. Salpetersaures Hypoxanthin scheidet sich aus, das Paraxanthin kann aus der Mutterlauge als Natriumsalz oder als freie Base gewonnen werden.

Falls Guanin sich noch als Harnbestandteil finden sollte, so wäre dies 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 letzteren durch Behandeln mit heißem Wasser oder heißem verdünntem Ammoniak getrennt werden.

Nach neueren Versuchen der Verf.[1]) wird zur Abscheidung des Paraxanthins der Rückstand der säurefreien Basenlösung in 15 Teilen 10 % Natronlauge gelöst und im Eisschrank stehen lassen; es scheidet sich Paraxanthinnatrium aus, aus dem durch Neutralisieren der Lösung mit Essigsäure freies Paraxanthin gewonnen werden kann.

Allgemeine Eigenschaften der Purinbasen.

Sie werden amorph, meist aus unreinen Lösungen, doch auch in recht charakteristischen Kristallformen erhalten. In Wasser sind sie alle sehr schwer, einige fast gar nicht löslich, dagegen lösen sie sich alle in Alkalihydraten, manche in Am-

[1]) H. Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. Berlin 1903.

moniak. Mit Mineralsäuren, in denen sie sich leichter oder schwerer lösen, bilden sie kristallisierende Salze. Sehr charakteristisch ist, daß alle Purinbasen in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Auch durch Quecksilberchlorid, besonders aber durch ammoniakalische Silberlösung werden sie abgeschieden. Mit Pikrinsäure geben sie, ausgenommen Xanthin, Methylxanthin, Heteroxanthin, kristallisirende 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.	
Dasselbe ist entweder ein amorphes weißes Pulver, beim Reiben wachsglänzend, oder es kristallisiert 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 Horbaczewski erst bei ca. 130° entweicht. Beim raschen Auskristallisieren, namentlich aus unreinen Lösungen, kommen der Harnsäure ähnliche Kristalle zum Vorschein.	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).
In kaltem Wasser ist es sehr schwer (1 : 14151 nach Almén), in heißem 1 : 1300—1400 löslich, in Alkohol, Äther ist es unlöslich, leicht löslich dagegen in Alkalilauge, Ammoniak, schwer in Säuren.	Beurteilung. Harnsäure gibt diese Probe auch.
Chlorzink und Chlorcalcium fällen es aus ammoniakalischer Lösung.	II. Xanthinprobe. Man löst eine kleine Menge in heißer Salpetersäure und verdampft im Wasserbad zu Trockne, wobei ein zitronengelber 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 erkennen (Unterschied von Harnsäure).
Charakteristisch ist das Silbersalz, das aus einer Lösung von Xanthin in Ammoniak durch Silbernitrat gefällt wird ($C_5H_4N_4O_2 \cdot Ag_2O$); in heißer	III. Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge Xanthin in Substanz, so bildet sich

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
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.	um dieses ein dunkelgrüner Hof, der sich braun färbt und dann verschwindet.
s-Methylxanthin.	
Kristallisiert aus Wasser in farblosen kleinen Kristallen (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 hierbei wie Xanthin.	Gibt die Xanthinreaktionen.
Heteroxanthin.	
Aus heißem Wasser kristallisiert 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 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.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch: Löst man salzsaures Heteroxanthin in verdünnter erwärmter Natronlauge, so scheiden sich beim Erkalten glänzende Kristalle, schiefwinklige Tafeln, Prismen, meist Zwillinge von Heteroxanthinnatrium aus. (Unter dem Mikroskop beobachten!)
Paraxanthin.	
Glänzende, sechsseitige Tafeln in Büscheln und Rosetten (seidenglänzend); schmilzt bei 295°.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
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.	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 Natronsalz des Heteroxanthins.
Hypoxanthin (Sarkin).	
Farblose Kristalle, 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.
Adenin.	
Lange nadelförmige Kristalle, aus verdünnten Lösungen wasserfrei in wetzsteinförmigen kleinen Kristallen sich ausscheidend, die beim Liegen an der Luft undurchsichtig, trüb werden, besonders beim Erwärmen der Kristalle in wenig Wasser bei 53°. In etwa 1080 Teilen kalten, 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 Kristalle beim Erwärmen (Trübwerden) und das Golddoppelsalz. Eine Lösung von salzsaurem Adenin gibt mit Goldchlorid einen charakteristischen aus würfelförmigen, prismatischen, auch blattförmigen Kristallen bestehenden Niederschlag (Mikroskop). III. Mit Zink und Salzsäure reduziert ($^1/_2$ Stunde im Wasserbad) nimmt eine Lösung von Adenin (ebenso Hypoxanthin) eine vorübergehende Rotfärbung an; die filtrierte Lösung wird auf Zusatz überschüssiger Natronlauge an der Luft rubinrot, dann braunrot (Azulminsäure) (Kossel u. Fischer).
Guanin.	
Aus konzentr. Lösungen amorph sich ausscheidend erhält man dasselbe aus einer sehr verdünnten warmen Lösung in Lauge nach Zusatz von $^1/_3$ Volumen Alkohol und überschüssiger Essigsäure in großen Kristallen (ähn-	I. Gibt die Xanthinprobe mit braunroter, beim Erhitzen blauvioletter Farbe. II. Charakteristisch: 1. Das Pikrat, das in goldgelben, in kaltem Wasser fast

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
lich 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, kristallisiert aber beim Erkalten in feinen Nadeln aus.	unlöslichen Kristallen kristallisiert (Xanthin und Hypxanthin 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, zitronengelben Niederschlag. 2. Konz. Ferricyankaliumlösung gibt mit verdünnter Guaninlösung gelbbraune prismatische Kristalle in warmem Wasser löslich. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag. 3. Das salzsaure Salz kristallisiert in langen, büschelförmigen oder strahlenförmig angeordneten Kristallen (Mikroskop).
Epiguanin. Kristallisiert 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 Natriumkarbonatlösung, sehr leicht in verdünnter Natronlauge und in Säuren (auch Schwefelsäure). Aus der Lösung in heißer 33 % Natronlauge erhält man die Natriumverbindung in stark glänzenden breiten Nadeln. Ammoniakalische Silberlösung fällt Guanin, nicht aber Bleiacetat oder Bleiacetat und Ammoniak.	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 Harn 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 nachdem die Purinbasen durch verdünnte Schwefelsäure von der Harnsäure getrennt sind.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung, wie S. 153 oder 3 % Silbernitratlösung.
2. Magnesiamischung (S. 153).
3. Verdünnte Schwefelsäure (10 ccm : 550 ccm Wasser).
4. $^1/_{50}$ Normalrhodanammonlösung, eingestellt mit einer $^1/_{50}$ N. Silberlösung (3,4 g Silbernitrat im Liter) S. 54.

Ausführung:

500 ccm eiweißfreier Harn 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 ammoniakalischen oder mit ca. 35 ccm der 3 % wässerigen Silbernitratlösung. Nach einstündigem Stehen wird der Niederschlag, der durchscheinend und gallertig, nicht weiß aussehen muß — im letzteren Falle enthielte er Chlorsilber, das durch Ammoniakzusatz in Lösung zu bringen wäre — auf einem dem Trichter anliegenden Filter gesammelt und silberfrei gewaschen.

Man spritzt denselben 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 Niederschlag zur vollständigen Zerlegung desselben Schwefelwasserstoff ein; man kann auch, wie S. 154 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 er-

[1]) Pflügers Archiv 1898. **69.** 280.
[2]) Analyse des Harnes 1898. 829.

hitzt, 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 behufs 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 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 Seite 55 angegeben nach Volhard mit der $^1/_{50}$ Normalrhodanlösung titriert.

1 ccm $^1/_{50}$ Rhodanammonlösung = 0,00152 Xanthin.

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 niemals gefunden werden können.

2. Zweckmäßig kann man nach Malfatti[1]) die Bestimmung der Purinbasen an die Bestimmung der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig anschließen, indem man die im sauren Filtrate von der gesammelten Harnsäure 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).

[1]) Bericht des III. internat. Chemiker-Kongresses. Wien 1898. II. 243.

3. Nach M. Krüger und J. Schmid.[1])

Prinzip.

Durch Kupfersulfat mit Natriumbisulfit werden Harnsäure und Purinbasen als Kupferoxydulverbindungen gefällt. Die Harnsäure wird aus der wässerigen Lösung durch Salzsäure entfernt; aus dem Filtrate werden die Purinbasen wieder als Silber- oder Kupferoxydulverbindung abgeschieden. Man ermittelt endlich den Stickstoff der Harnsäure, wie den der Purinbasen.

Erforderliche Lösungen:

1. Käufliche Natriumbisulfitlösung (Kahlbaum).
2. 10% Kupfersulfatlösung.
3. Natriumsulfidlösung (S. 153).
4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heiße 0,5% Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.
5. 10% Salzsäure.
6. 10% Essigsäure.

Für die Bestimmung der Purinbasen nach der Silberfällung noch

7. Ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamischung (S. 153).
8. 6% Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung:

Der vierte oder fünfte Teil der auf 1600 oder 2000 ccm verdünnten Tagesmenge des von Eiweiß befreiten Harnes, 400 ccm, werden 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 Menge der vorhandenen Purinkörper) mindestens drei Minuten lang noch 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 ca. 200 ccm heißem Wasser in den beim Fällen benutzten Kolben zurück; man erhitzt wieder zum Sieden und zersetzt die Kupferverbindung mit 30 ccm Natriumsulfidlösung. (Ein Tropfen der Flüssigkeit muß auf Bleipapier Braunfärbung hervorrufen, es muß Natriumsulfid im Überschuß 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 fil-

[1]) Nach Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. Berlin 1903. (Noch nicht publizierte, von Herrn M. Krüger Herrn Prof. Thierfelder mitgeteilte Methode.)

triert und den Filterrückstand gut mit heißem Wasser auswäscht. Das Filtrat wird nach Zusatz von 10 ccm 10 % Salzsäure in einer Porzellanschale auf ca. 10 ccm eingedampft, die abgeschiedene Harnsäure durch ein kleines Filter abfiltriert, mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen (Filtrat und Waschwasser betragen 75 ccm) und der Filterrückstand mit Filter nach Kjeldahl behandelt (S. 108). 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 % 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 und 5—10 ccm der 10 % Kupfersulfatlösung hinzufügt. Man lässt die Flüssigkeit ca. drei Minuten lang kochen, filtriert den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter aus schwedischem Papier, wäscht mit heißem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff 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 Absitzen, 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 und dann die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen.

Beurteilung.

Es gilt hier das bei der Salkowskischen Methode Gesagte. Die Ausführung dieser Methode ist eine wesentlich einfachere, besonders bei Anwendung der Kupferfällung, und scheint die Methode wirklich recht brauchbar zu sein.

4. Als weitere empfohlene Bestimmungsmethoden sind noch folgende zu erwähnen:

a) Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Eine abgemessene Menge eiweißfreier Harn wird nach Hoffmeister[1]) abwechselnd mit soviel Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert, mit verdünnter Schwefelsäure (5 : 100) ausgewaschen, dann mit überschüssigem Bariumhydroxyd in der Wärme zersetzt und das Filtrat durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschuß von Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, die nun frei von Harnsäure ist, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der alle Xanthinbasen enthaltende Niederschlag gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und im Porzellantiegel verascht und geglüht. Das gewonnene Silber wird gewogen; daraus werden die Xanthinbasen und zwar als Xanthin berechnet. Faktor: 0,7037.

b) Haycraft[2]), Herrmann[3]), Denigès[4]) 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 modifizierten 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 dasselbe. 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—30 % ganz reiner Salpetersäure gelöst. Man wäscht das Filter mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrate vom gelösten Filterrückstande die Menge des Silbers in der S. 54 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 Denigès.

Erforderliche Lösungen.

1. $^1/_{50}$ N. Silberlösung.
2. Silbermagnesiamischung; 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium löst man in ungefähr 750 ccm 20 % Ammoniak, füllt

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1881. **5.** 67.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1885. **25.** 165.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12.** 496.
[4]) Compt. rend. 1893. **117.** 1078.

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 % Jodkaliumlösung mit 2 % Ammoniak.
4. $^1/_{20}$ N. Cyankaliumlösung; 10 g reines Cyankalium löst man in ca. 1 Liter Wasser und setzt zur größeren Haltbarkeit 10 ccm 20 % 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 % 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 ca. 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 $^1/_{50}$ 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 $^1/_{50}$ $AgNO_3 = 0{,}00336$ Harnsäure.

Die auf die gefundene Harnsäure treffenden, leicht zu berechnenden Kubikzentimeter Silberlösung zieht man von den bei der obigen allgemeinen Bestimmung verbrauchten ab; der Rest kommt den vorhandenen Xanthinbasen zu.

1 ccm = 0,00152 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.

d) Camerer[1]), Arnstein[2]) fällen den Harn mit Magnesiamischung, das Filtrat mit Silberlösung und bestimmen im Silberniederschlag 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 % Ammoniak zu 300 ccm aufgefüllt. Vom Filtrate werden 125 ccm (= 100 ccm Harn) mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung (S. 153) 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 (ca. 250—500 ccm).

---

[1]) Zeitschr. Biol. 1890. **26.** 104; 1891. **28.** 72.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1897. **23.** 426.

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 $^1/_{10}$ Schwefelsäure = 0,0042 Harnsäure.
100 Teile Harnsäure = 33,3 N.
100 „ Xanthin = 36,84 N.

5. Bestimmung der Xanthinbasen für klinische Zwecke.

a) Nach A. Jolles.[1])

Prinzip.

In dem eiweißfreien Harn bestimmt man einerseits den Harnsäurestickstoff, andererseits den Harnsäure- und Purinbasenstickstoff nach vorhergegangener Oxydation volumetrisch. Die Differenz beider Ablesungen bezeichnet den Purinbasenstickstoff.

Ausführung.

100 ccm eiweißfreier Harn wird wie bei der Harnsäurebestimmung nach Ludwig-Salkowski angegeben (S. 153) mit 10 ccm der Silberlösung und 10 ccm der Magnesiamischung versetzt. Man filtriert nach 15—20 Minuten, wäscht auf der Saugflasche mit schwach ammoniakalischem Wasser chlorfrei, breitet das Filter auf ein Uhrglas aus und spült den Niederschlag in ein Becherglas mit heißem destilliertem Wasser. Hierauf bringt man in das Becherglas einen Löffel (ca. 0,1 bis 0,2 g) gebrannte Magnesia und erwärmt so lange, bis den Dämpfen ausgesetztes feuchtes rotes Lackmuspapier nicht mehr gebläut wird, was ca. eine Stunde dauert. Am zweckmäßigsten zersetzt man den Niederschlag mit Schwefelalkali, noch besser mit Schwefelwasserstoff in der S. 154 angegebenen Weise, filtriert, wäscht mit heißem Wasser aus und säuert dann das Filtrat mit 20—30 ccm Schwefelsäure an. Man erwärmt das mit Uhrglas bedeckte Becherglas auf einem Drahtnetze mit schwacher Flamme und setzt so lange partienweise Permanganatlösung (im Liter 8 g) hinzu, bis der letzte Permanganatzusatz nach $^1/_2$stündigem Kochen nicht mehr verschwindet (S. 156). Nach beendigter Oxydation wird neutralisiert und überhaupt so verfahren, wie es bei der Harnsäurebestimmung S. 155 genau angegeben ist.

Man berechnet aus der abgelesenen Stickstoffmenge mit Hilfe der Tabelle S. 112 und 113 den den Purinkörpern zu-

[1]) Centralbl. innere Mediz. 1900. **21.** Nr. 36.

kommenden Stickstoff, also Harnsäurestickstoff + Purinbasenstickstoff.

In einer anderen Harnprobe hat man nach der S. 155 angegebenen Methode die Harnsäure, den Harnsäurestickstoff allein bestimmt. Purinkörperstickstoff — Harnsäurestickstoff = Purinbasenstickstoff.

Beurteilung.

Gibt für klinische Zwecke hinreichend genaue Resultate; zudem ist die Methode sehr einfach in der Ausführung, so daß dem Mangel einer für klinische Zwecke dienenden Methode der Purinbasenbestimmung wohl abgeholfen ist.

b) Die beiden Methoden der Xanthinkörperbestimmung nach L. Niemilowicz.[1])

α) 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 Indikatoren Körper mit genügend großen Unterschieden in der Reaktionsgeschwindigkeit quantitativ voneinander getrennt werden können. Man kann also die Reduktionsfähigkeit der Harnsäurestufe und die in Bezug auf die Reduktionsfähigkeit die Harnsäure ersetzenden Mengen anderer Körper bestimmen.

Erforderliche Reagentien.

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 % wässerige Indigokarminlösung (1 g Indigokarmin 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 Natron gepulvert oder frisch bereitete 10 % Lösung.
6. 20 % Ammoniak und
7. Käufliche 4 % Waserstoffsuperoxydlösung.

II. Reagentien für Purinkörper-Bestimmung nach Denigès (S. 175).

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 % Phosphorsäure hinzu,

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 264.

bis eine Reaktion auf Kongo zum Vorschein kommt und dann darüber hinaus noch 1,5 ccm derselben Säure.

Ist die Reaktion alkalisch, so versetzt man den Harn mit verdünnter Salzsäure bis zur sauren Reaktion auf Lackmus und verfährt wie angegeben.

Dann gibt man 1 ccm Indigokarminlösung hinzu und versetzt unter fortwährendem Umschwenken tropfenweise und möglichst annähernd einen 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 Indigokarminlösung hinzu und titriert mit Chamäleon wieder bis zum rötlichen Stich, aber viel langsamer als das erste Mal; dasselbe wiederholt man zum dritten Male. Jetzt wartet man etwa zwei Minuten ab, bis die Flüssigkeit wieder grünlich geworden ist und, falls 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 Kongo muß stark bleiben) 1 ccm 10 % frischer Natriumsulfitlösung oder einige Stäubchen des gepulverten Salzes hinzu, um den eventuellen Überschuß von Permanganat auf die Oxydul- oder Oxydstufe zu bringen und urorosëinartige 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, bringt dann genau 75 ccm Silbermagnesiamischung nach Denigès hinzu und füllt unter Zusatz von 2 ccm Wasserstoffsuperoxydwasser 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 dann den Niederschlag auf das (doppelte) Faltenfilter und filtriert das Filtrat, im Falle es nicht ganz klar sein sollte, nochmals. Von dem 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 ca. 12 oder man muß die Nettooxydationszahl (S. 181) berechnen, die berechnete Menge der N. Chamäleonlösung dem ursprünglichen entsprechend angesäuerten Harne ohne Indigokarmin 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 geaicht 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-Meßkolben 100 ccm Wasser, 4 ccm 16.66 % Orthophosphorsäure, 4 ccm Normalätzsoda, 1 ccm 10 % Natriumsulfit und darauf 2 ccm 20 % 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 % 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.

β) Die Oxydations-Niederschlagmethode 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 Reagentien.

1. Orthophosphorsaure Lösung, wie bei *α*.
2. $^1/_{10}$ N. Chamäleonlösung.
3. Schwefligsaures Natron.
4. 20 % Ammoniak.
5. Ammoniakalische Silberlösung nach E. Ludwig (S. 153).
6. $^1/_{50}$ Rhodanammoniumlösung.

7. 2,5 % Eisensulfatlösung.
8. Reine konz. Salpetersäure.
9. Käufliches 4 % 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 α 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 Indigokarmin) die Menge in Kubikzentimetern der $^1/_{10}$ N. Chamäleonlösung, verbraucht für die verwendeten Kubikzentimeter Indigokarmin 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 Harn die eigentliche Nettooxydationszahl sonst zu niedrig ausfällt. Die notwendige Verdünnungsformel gibt die Gleichung

$$\frac{\text{Nettooxydationszahl}}{7} = v.$$

In dem nach dieser Formel verdünnten Harn bestimmt man die Bruttooxydationszahl (*BtO* verd.), welche nach Abzug der für das Indigokarmin 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. 178 ermittelt) und dann 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 mittels eines Wasserstrahlgebläses 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 dann mit 1 ccm 10 % Natriumsulfits und läßt die saure Lösung entsprechend und zwar im Verhältnisse zum spezif. Gewicht des ursprünglichen Harnes eindampfen. Man dampft auf dasjenige Volumen oder Gewicht ein, welches durch die vier Dezimalen des spezif. Gewichtes des ursprünglichen Harnes angezeigt wird + 20 ccm; man macht sich zu diesem Zweck schon von vorn-

herein am Eindampfgefäß eine Marke. Das Eindampfen geschieht zuerst über freiem Feuer und zwar so lange, 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 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 Wasserstoffhyperoxydwasser 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 %) auf, um durch Dekantieren den Niederschlag zu waschen. Während sich der letztere absetzt, wäscht man das Filter mit Ammoniakwasser durch dreimaliges Aufgießen aus. Dann dekantiert man die Flüssigkeit vom Niederschlage ab, auf den man wieder frisches Wasser aufgießt, wäscht das Filter wieder 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 Natriumbikarbonat 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 % Eisensulfatlösung hinzugegeben und mit $^1/_{50}$ N. Rhodanammonium titriert.

1 ccm $^1/_{50}$ N. Rhodanammon = 1,68 mg Xanthinkörper als Xanthin berechnet.

Beurteilung.

Nach G. Gittelmacher-Wilenko[1]) gibt dieses Verfahren brauchbare Zahlen. Bei Rheumharn ist die Farbe etwas störend. Ich habe die Methode noch nicht geprüft.

Wahl der Methode.

Die brauchbaren Methoden und die einschlägige Literatur wurden hier absichtlich alle erwähnt und besprochen, nachdem man dem Vorkommen und Nachweise der Purinbasen gegenwärtig erhöhtes Interesse zuwendet.

Die unter 1 angeführte Methode gilt als die beste; es geben auch die übrigen brauchbare Zahlen.

Für klinische Zwecke verwendet man wohl am besten das Jollessche Verfahren.

Ein neuerdings angegebenes klinisches Verfahren der Bestimmung des Gesamtgehaltes von Purin im Harn mittels des „Purinometers“ kann für eine nur einigermaßen genaue Prüfung nicht empfohlen werden.

21. Oxyproteinsäure. Uroprotsäure.

22. Alloxyproteinsäure.

Die Oxyproteinsäure, eine stickstoff- und schwefelhaltige Säure, wurde von St. Bondzynski und R. Gottlieb[2]) gleichzeitig mit M. Cloëtta[3]) im Harne aufgefunden. Neben dieser Säure fanden St. Bondzynski und K. Planck[4]) noch eine solche stickstoff- und schwefelhaltige Säure, die mit der ersten große Ähnlichkeit zeigt. Beide Säuren sind konstante Bestandteile des Harnes und nahe Abkömmlinge des Eiweißmoleküls; die Bildung derselben ist aufs innigste mit dem Eiweißumsatz verknüpft. Von der Alloxyproteinsäure werden in 24 Stunden ca. 1,2 g von einem Gesunden ausgeschieden, so daß also 0,68 % des Gesamtstickstoffes auf diese Säure entfallen.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36.** 20.
[2]) Centralbl. med. Wissensch. 1897. 577.
[3]) Arch. exp. Path. Pharmakolog. 1897. **40.** 29.
[4]) Berl. Ber. 1902. **35.** 2959.

Darstellung.

20 Liter Harn werden mit Barythydrat zur Entfernung der Schwefelsäure und dann mit Kalkhydrat versetzt; das Filtrat wird zur Ausfällung der Erdalkalien mit Kohlensäure gesättigt und zu einem dünnen Sirup eingeengt; es wird filtriert, der größere Teil des Kochsalzes durch wiederholtes Einengen und Auskristallisierenlassen in der Kälte entfernt und der Sirup mit Alkoholäther (2:1) ausgeschüttelt. Nach 12—24stündigem Stehen wird die alkoholätherische Lösung von dem Sirup abgegossen, der letztere bis zur früheren Konsistenz verdünnt und wieder mit Alkoholäther ausgezogen. Der in Alkoholäther unlösliche Rückstand wird in 300—400 ccm Wasser gelöst, die Lösung schwach mit Essigsäure angesäuert und mit Quecksilberacetat gefällt; der ausfallende Niederschlag besteht aus den Quecksilberverbindungen der Oxyproteinsäure und der Alloxyproteinsäure; er wird ausgewaschen, in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; der Schwefelwasserstoff wird durch Durchsaugen von Luft entfernt, das Filtrat mit Kalkhydrat im geringen Überschuß versetzt und der Überschuß mit Kohlensäure beseitigt; das auf ca. 20 ccm eingeengte Filtrat wird mit Alkohol gefällt.

Aus dem Gemenge der Calciumsalze der beiden Säuren wird die Alloxyproteinsäure mit Bleiessig gefällt — Oxyproteinsäure bleibt in Lösung — diese Fällung abfiltriert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Säure an Baryt gebunden und diese Verbindung wieder mit Quecksilberacetat gefällt. Nach Zerlegen des Quecksilbersalzes mit Schwefelwasserstoff wird die Säure wieder an Baryt gebunden und aus der eingeengten Lösung mit Alkohol das Baryumsalz in einem einigermaßen reinen Zustande gewonnen; durch wiederholtes Fällen mit Alkohol und Trocknen bei 90° im Vakuum wird das Salz noch weiter gereinigt. Im Filtrate von der Bleifällung entfernt man das Blei durch Schwefelsäure, den Überschuß dieser durch Baryt. Nach Einleiten von Kohlensäure ins Filtrat dampft man nach dem Filtrieren ein und fällt durch Alkohol aus der konzentrierten Lösung das Barytsalz der Oxyproteinsäure aus, das wie das der Alloxyproteinsäure noch weiter gereinigt wird.

Eigenschaften.

Die Baryumsalze der beiden Säuren sind in Wasser sehr

leicht löslich, das der Alloxyproteinsäure zerfließt aber nicht an der Luft, wie das oxyproteinsaure Baryum; die Lösungen reagieren alkalisch. Wie die Oxyproteinsäure gibt auch die Alloxyproteinsäure die bekannten Eiweißreaktionen nicht; sie werden beide durch Phosphorwolframsäure, Tannin, Ferrocyankalium in essigsaurer Lösung nicht gefällt, auch die Biuretreaktion tritt nicht ein; dagegen werden sie mit Quecksilberacetat und Quecksilbernitrat gefällt. Durch alkalische Permanganatlösung erfolgt Oxydation.

Von der Oxyproteinsäure unterscheidet sich die Alloxyproteinsäure außer durch die Fällbarkeit mit Bleiessig durch das Verhalten gegenüber der Diazoreaktion; diese Reaktion gibt nur die Oxyproteinsäure; man nimmt das Natriumsalz dieser; eine Lösung davon gibt beim Zusatz von Sulfanilsäure und Natriumnitrit mit Ammoniak eine scharlachrote Färbung. Die Oxyproteinsäure ist demnach wohl mit dem bisher unbekannt gewesenen Körper identisch, welcher die Ehrlichsche Diazoreaktion gibt; auch der sog. „neutrale Schwefel" des Harnes ist dem Vorkommen dieser beiden Säuren zuzuschreiben.

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

Die Glykuronsäure, eine Tetraoxyaldehydsäure, kommt als solche im Harn nicht oder nur vielleicht in Spuren vor; infolge der Einverleibung verschiedener Arzneimittel, als welche besonders Chloral, Chloroform, Phenol, Kresol, Thymol, Guajacol, Hydrochinon, Resorzin, Brenzkatechin, Orzin, Terpentinöl, Menthol, Naphtol, Kampfer, Acetanilid, überhaupt die Aniline, Kairin, Morphin u. s. w. zu nennen sind, ferner infolge der Entstehung gewisser aromatischer Körper durch Fäulnis im Darmkanal (Phenole, Indol) können im Harne Produkte auftreten, welche als äther- oder 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 unschädlich zu machen. Diese erwähnten Verbindungen werden bei der Behandlung mit verdünnten Säuren unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glykuronsäure und in die zugehörigen Alkohole gespalten.

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 Harn, ebenso wie nach Thymoleingabe Thymolschwefelsäure neben Thymolglykuronsäure entsteht. Terpentinöl gibt Terpenglykuronsäure. Die gepaarten Glykuronsäuren, die im normalen Harn zunächst vorhanden sein können, sind die Indoxyl-, Skatoxyl- und Phenolglykuronsäure. Eine vermehrte Bildung der Glykuronsäure findet sich bei den Vorgängen im Organismus, bei denen eine Vermehrung dieser Phenole (z. B. bei Darmfäulnis) statt hat.

Zur Darstellung gepaarter Glykuronsäuren kann man in folgender Weise verfahren:

Man dampft den Tagesharn, eventuell 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, mit neutralem Bleiacetat gefällt und filtriert. Aus dem Filtrate fällt man die Glykuronsäureverbindungen mit Bleiessig; der Bleiniederschlag wird nach dem Abfiltrieren in Wasser verteilt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag nach dem Entfernen des Schwefelwasserstoffes (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 Baryumsulfat auf dem Wasserbade, zuletzt im Vakuum, ein. Die gepaarten Glykuronsäuren, die meist schön kristallisieren, scheiden sich beim Eindampfen aus.

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

Was die Bildung und Entstehung anbelangt, so ist die Glykuronsäure in erster Linie als ein Entgiftungsprodukt anzusehen (F. Blumenthal) und vielleicht — wenn auch nicht ausschließlich — als ein Oxydationsprodukt des Traubenzuckers

aufzufassen und zwar als ein Produkt unvollständiger Zuckeroxydation, wobei die Glykuronsäure infolge der Unfähigkeit des Organismus nicht weiter zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird. Ausgeschlossen ist auch nicht, daß die Säure nicht nur aus den Kohlehydraten, auch aus Glykogen, sondern auch aus Eiweißstoffen entstehen kann. 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 resultiert.

Bial und Huber fanden, daß die Säure im Darm gebildet wird, P. Mayer und Lépine fanden sie im Blut und in der Leber.

Eigenschaften und Erkennung (Nachweis) glykuronsäurehaltiger Harne.

Solche Harne drehen, obwohl die reine Säure rechts dreht, fast immer links, da ja die gepaarte Säure vorliegt; eine Linksdrehung über 0,05% läßt schon auf Glykuronsäure schließen, zumal wenn nach dem Kochen des Harnes mit Säure diese Linksdrehung in Rechtsdrehung verwandelt wird und wenn auch noch der Nachweis von Phenol, Indoxyl neben Ätherschwefelsäure zu erbringen ist. 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 hier und da Rechtsdrehung zeigen kann. Am zweckmäßigsten wird man das Filtrat vom Schwefelbleiniederschlag 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 schon in der Kälte. Nach vorausgegangener Spaltung durch Erhitzen mit Säuren reduzieren alle. 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 Harn diese Probe negativ ausfällt. Man kann auch ca. 3 ccm Harn nach Zugabe von etwas Orcin mit 5 ccm konzentrierter Salzsäure zum Sieden erhitzen und ca. $^1/_2$ 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. Weiters 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. Kampfer, Menthol u. s. w.) und daß der Harn ferner infolge der Säurebehandlung dunklere Färbung annehmen kann, die man durch Behandeln mit Tierkohle wegen Aufnahme der Glykuronsäure von dieser 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 Schwefelbleiniederschlag (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 Schwefelbleiniederschlag nach der Behandlung mit Bleiessig (s. Darstellung) die vorhandene gepaarte Glykuronsäure durch ca. 2stündiges Kochen mit Schwefelsäure (die Flüssigkeit muß 1—2% Schwefelsäure enthalten), neutralisiert genau mit Natriumkarbonat und versetzt die eventuell filtrierte Flüssigkeit mit einer Lösung von ca. 5 g salzsaurem Bromphenylhydrazin und 6 g Natriumacetat; man erwärmt das Becherglas, das mit einer Glasschale bedeckt ist, im Wasserbade ca. 10 Minuten lang und filtriert. Beim Erkalten erfolgt reichliche Bildung von Kristallen, die abgesaugt werden; die Mutterlauge wird von neuem erhitzt und die sich abscheidenden Kristalle wieder gesammelt. Die

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **29.** 256.

Hydrazinverbindung wäscht man mit heißem Wasser und absolutem Alkohol und kristallisiert sie mehrmals aus 60% Alkohol um; durch Lösen in Pyridin und Ausfällen mit Ligroin können die Kristalle 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 Kristalle schmelzen bei 236°.

Eigenschaften der Glykuronsäure.

Die reine Glykuronsäure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Sirup und gibt gut kristallisierende Alkalisalze; sie dreht rechts (8—14% Lösung des Laktons $[\alpha]\ D = + 19{,}25°$ b. 18°, mit der Verdünnung und erhöhter Temperatur nimmt die Drehung zu) und geht beim Kochen mit Wasser in das Laktonglykuron über, das in farblosen bei 169° schmelzenden Tafeln kristallisiert; mit Hefe gärt sie nicht. Glykuronsäure bildet mit Barythydrat ein schwer lösliches Salz, durch Bleiessig, nicht durch Bleizucker, wird sie gefällt. Gegen Fehlingsche Lösung ist das Reduktionsvermögen des Anhydrits ebenso groß, wie das der Dextrose. Alkalische Kupfer- und Wismutoxydlösungen werden 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. Charakteristisch ist die p-Bromphenylhydrazinverbindung (s. o.), die sich von p-Bromphenylosazon der Kohlehydrate durch ihre Unlöslichkeit in Alkohol und ihr oben erwähntes polarimetrisches Verhalten unterscheidet.

24. Die Kohlehydrate.

Unter Kohlehydraten verstehen wir im Pflanzenreiche, in geringer Menge im Tierreiche, vorkommende stickstofffreie Körper, die neben dem Kohlenstoff Wasserstoff und Sauer-

stoff in dem Verhältnisse enthalten, in welchem diese Wasser bilden.

Die Kohlehydrate 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, Hexosen, Aldohexosen (Glykose, Dextrose), Ketohexose (Lävulose).

B. Disaccharide, Biosen (Rohrzucker, Milchzucker, Maltose, Isomaltose).

C. Trisaccharide, Triosen.

D. Polysaccharide $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Stärke, Gummiarten, Glykogen).

Auch unter normalen Verhältnissen enthält jeder Harn kleine Mengen von Kohlehydraten; nach den Resultaten der eingehend und sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen sind im normalen Harne Spuren von Traubenzucker nachweisbar. Th. Lohnstein[1]) hat gefunden, daß 0,02 % als der mittlere Traubenzuckergehalt des normalen Harnes anzusprechen ist. Die Menge der Gesamtkohlehydrate im normalen Harn 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 Kohlehydratgruppe, das Mucin, die Mukoide, die beim Behandeln mit Säuren sich spalten. Ebenso kann auch Pentose im normalen Harn vorkommen. Unter gewissen Verhältnissen — pathologischen — können auch andere Zuckerarten im Harne gefunden werden, wie Milchzucker, Inosit, Glykogen. Nach K. Baisch und A. Lemaire[2]) findet sich außer Spuren von Glykose und von Harndextrin (tierischem Gummi) ein drittes Kohlehydrat, das durch seine Nichtvergärbarkeit mit Hefe, seine Kristallform, durch den Schmelzpunkt seines Osazons u. s. w. jedenfalls identisch mit Isomaltose ist, die auch v. Alfthan gefunden haben will.

[1]) Allgem. med. Central-Ztg. 1900. Nr. 30.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1896. **22.** 450.

Zum Nachweise der Kohlehydrate kann man sich der allgemeinen Kohlehydratreaktionen bedienen. Die den einzelnen Kohlehydraten 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 Benzoylchlorid und 40—50 ccm einer 10 %igen Natronlauge hinzu, worauf man kräftig schüttelt (1 Stunde lang), bis der Geruch 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. (K. Baisch und F. A. Lemaire.)

2. Furfurolreaktion.

Werden Kohlehydrate (Zucker u. s. w.) mit Schwefelsäure vermischt, so bildet sich Furfurol, das durch α-Naphtol, oder Thymol, oder Xylidin nachgewiesen werden kann. Man wendet am besten die von Molisch-Udranszky 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 α-Naphtol in 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 wieder 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 karminrot.

3. Normaler Harn reduziert Fehlingsche und Knappsche Lösung; das Reduktionsvermögen des Harnes beträgt, auf Traubenzucker bezogen, so viel, als einer Traubenzuckerlösung von 0,08—0,4% entspricht. An der Reduktion beteiligen sich Harnsäure, Kreatinin, gepaarte Glykuronsäuren (S. 187).

Zur Bestimmung der Gesamtkohlehydrate im Harn kann man sich nach v. Udranszky der angegebenen Furfurolreaktion im Vergleiche mit einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalte bedienen; die Bestimmung ist eine kolorimetrische.

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 angewendete Natronlauge Zucker leicht zerstören kann. Auf 10 g Ester (aus 10 Liter Harn gewonnen) werden 7,5 g metallisches Natrium, welche 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 3mal mit der gleichen Menge Äther (tritt Emulsion ein, so hilft man sich mit Alkoholzusatz), die Ätherlösung wieder mit

Wasser geschüttelt, um in wasserhaltigen Äther übergegangene Kohlehydrate 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 auf dem Wasserbade bei ganz schwach saurer Reaktion zur Entfernung des Alkohols konzentriert, die konzentrierte Flüssigkeit nochmals mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt, abfiltriert und das Filtrat vorsichtig eingedampft. Die ziemlich braungefärbte Lösung behandelt man mit neutralem, dann 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 Phenylhydrazin, 20,0 25 % Natriumacetatlösung, 50,0 Essigsäure und erhitzt das Ganze auf dem Wasserbade. In der Siedehitze scheidet sich ein in großen Pfeilbündeln oder Kornähren ähnlichen Figuren kristallisierendes Osazon aus, dessen Schmelzpunkt nach Reinigung der Substanz mittels wiederholter Lösung in Alkohol und Fällung mit Wasser bei 203—204° gefunden wird. Durch diese Reaktion wird das Vorkommen von geringen Traubenzuckermengen auch im normalen Harn bewiesen. In dem Benzoylniederschlage und in der Lösung der freien Kohlehydrate fanden die genannten Forscher noch weitere Kohlehydrate, Isomaltose und eine dextrinartige Substanz (Harndextrin, tierisches Gummi). S. d.

Allgemeine Eigenschaften der Kohlehydrate.

Die Kohlehydrate 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-Naphtol, Thymol u. s. w. und Schwefelsäure entstehenden Farbenreaktionen aus dem gebildeten Furfurol.

Die Aldosen vereinigen sich in starker Salzsäure mit mehratomigen aromatischen Alkoholen (Resorcin, Pyrogallol) zu Verbindungen, die mit Oxydationsmitteln (Metalloxyden in

alkalischer Lösung, Fehlingscher Lösung, Quecksilberlösung) schön 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 $C_6H_{11}O_5 . NH_2$ bilden, das auch aus der Chondroitinschwefelsäure, einem in Wasser löslichen stickstofffreien Kohlehydratabkömmling, gewonnen wird, indem durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren aus dem Chondroitin Chondrosin gebildet wird, das durch Kochen mit Barythydrat Glykoronsäure und Glykosamin bildet. Aus den Zuckern 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 derselben 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 $C_6H_{10}O_5$.

Eine von E. Salkowski und Jastrowitz im Menschenharn bei einem Morphinisten beobachtete neue Zuckerart hat sich bei weiterer Untersuchung als eine Pentose erwiesen. Nach E. Külz, J. Vogel und F. Blumenthal sind Pentosen im Harn 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.

In minimalen Mengen finden sich im normalen Harne Pentosen vor nach dem Genusse von Kirschen, gedörrten Pflaumen, Heidelbeeren und Früchten, die fünfwertigen Zucker oder deren Muttersubstanzen (Pektinstoffe, Pflanzengummi, die sog. Pentosane) enthalten (alimentäre Pentosurie). Die im Harne dann zu beobachtende Pentose ist die rechtsdrehende l-Arabinose. Bei der eigentlichen chroni-

schen Pentosurie ist aber nach C. Neubergs[1]) Untersuchungen die völlig inaktive racemische Arabinose zu finden. Die Menge kann 0,3—1 % betragen. Was die Ursache des Vorkommens der letzteren Pentose betrifft, so hat sich die Ansicht gegen früher besonders durch die Forschungen C. Neubergs[2]) geändert bezw. geklärt.

Es ist wohl bekannt, daß Pentosen bei der Zersetzung der Nukleoglykoproteide 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. Nach Bials und Blumenthals Untersuchungen dürfte die Pentose aber auch 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 Kohlehydraten neben Glykose und Fruktose im Magendarmkanal entsteht, gebildet werden. F. Blumenthal und C. Neuberg nehmen deshalb eine synthetische Entstehung der inaktiven Arabinose im Organismus an.

Die Pentosurie wurde zuerst von Jaksch als besondere Krankheit erkannt.

Nachweis.

1. Allgemeines.

Pentosehaltige Harne zeigen die Trommersche Probe nach einiger Zeit (erst nach dem Kochen, aber plötzlich); die Nylandersche Probe wird braunschwarz bis schwarz; die Gärung verläuft negativ, die Phenylhydrazinprobe zeigt sich erst beim Abkühlen positiv. Doch sind diese allgemeinen Reaktionen nicht stichhaltig, wenn auch Dextrose vorhanden ist.

2. Die Tollens-Salkowskische Reaktion.

Man löst etwas Phloroglucin (eine kleine Messerspitze voll) unter Erwärmen in 5—6 ccm rauchender Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,12, so daß ein

[1]) Berl. Ber. 1900. **33**. 2243.
[2]) Ebend. 1902. **35**. 1467.

kleiner Überschuß ungelöst bleibt, teilt in zwei annähernd gleiche Teile und setzt nach dem Erkalten der einen Hälfte $^1/_2$ ccm des zu prüfenden Harnes, der anderen ebensoviel eines ungefähr gleich konzentrierten normalen Harnes zu, nachdem man die Harne zweckmäßig mit etwas Tierkohle entfärbt hat. Taucht man beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser, so zeigt der pentosehaltige Harn in wenigen Augenblicken einen intensiv roten oberen Schaum, von dem sich die Färbung allmählich nach unten ausbreitet, während der normale Harn seine Farbe nicht merklich oder nur unbedeutend verändert.

Der pentosehaltige rotgefärbte Harn zeigt dann bei der aber sofort vorzunehmenden spektroskopischen Prüfung einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*. Wird die Probe mit dem gleichen Volumen Wasser und dem doppelten Volumen Amylalkohol versetzt und geschüttelt, so geht der Farbstoff in Amylalkohol über.

Beurteilung.

Glykuronsäurehaltige oder diabetische Harne zeigen zwar auch den Streifen, aber eine mehr braunschwarze Färbung. Die Probe ist nicht einwandfrei, da sie bei den meisten normalen Harnen auch positiv ausfällt.

3. Die Orcinreaktion nach Tollens-Salkowski-Blumenthal.

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 mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff 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 eindeutiger; glykuronsäurehaltige Harne zeigen den Streifen, geben aber violette Färbung, die in Amylalkohol übergeht.

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 (E. Krafft).

4. Die Bialsche Probe.

Erforderliches Reagens.

1 g Orcin wird in 500 ccm konz. Salzsäure gelöst; hiezu werden 20—30 Tropfen 10 % Eisenchloridlösung zugesetzt.

Ausführung.

Man erwärmt 3—5 ccm Harn mit 6—10 ccm des Reagenses bis zum beginnenden Sieden; es entsteht grünblaue Färbung; weitere Behandlung mit Amylalkohol, wie angegeben. Am besten verfährt man nach E. Krafft[1]), indem man das Reagens einmal kräftig aufkocht und den Harn dann sofort zusetzt. Man mischt durch schwaches Schütteln.

Beurteilung.

In dieser Ausführung ist die Orcinreaktion sehr empfindlich und eine Spaltung der gepaarten Glykuronsäuren wird vermieden.

5. Pentosehaltiger Harn mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure zum Sieden erhitzt, entwickelt Furfurol, welches einen mit Anilinacetat getränkten Papierstreifen sehr schnell lebhaft kirschrot färbt.

Beurteilung.

Außer freier Glykuronsäure zeigen andere Kohlehydrate diese Reaktion nicht merklich.

6. Nach K. v. Alfthan.[2])

Durch Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 191) gehen sowohl Pentosen wie Glykuronsäuren in Benzoylester über. Werden diese durch Natriumäthylat verseift, so scheiden sich die Glykuronsäuren 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.

In Bezug auf die Anstellung der Pentosereaktion in filtrierten Flüssigkeiten macht F. Umber darauf aufmerksam, daß sich aus allen Filtrierpapieren durch normalen Harn Substanzen extrahieren lassen, die die Tollens-

[1]) Pharm. Ztg. 1902. **47**. 522.
[2]) Arch. exp. Patholog. 1902. **47**. 417.

sche 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.

7. Phenylhydrazinprobe.

Durch Darstellung des Osazons (Pentosazon, Arabinosazon, wie beim Harnzuckernachweis angegeben und zwar nach der Methode mit längerem Stehenlassen) wird aller Zweifel, ob Pentosen vorhanden sind, zerstreut. Das Osazon wird aus heißem, stark verdünntem Alkohol mehrmals umkristallisiert. Schmelzpunkt 166—168°.

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 gelingt auch auf Grund der ungleichen Löslichkeit der Osazone; das Pentosazon löst sich schon bei 60°, während bei dieser Temperatur das Glykosazon so gut wie unlöslich ist. Man zieht daher den mit Phenylhydrazin aus Harn nach $1^1/_2$ stündigem Erhitzen erhaltenen kristallisierten Niederschlag mit Wasser von 60° aus; das in Lösung gegangene Pentosazon wird durch Umkristallisieren leicht auf den richtigen Schmelzpunkt gebracht. Die nadelförmigen Kristalle der Osazone der Arabinose schmelzen bei 166 bis 168°.

Wahl der Methode.

Man sei mit dem Nachweis recht vorsichtig und beschränke sich nicht auf eine Methode; auch 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 der Ausführung von E. Krafft möchte ich ganz besonders empfehlen.

Zur quantitativen Bestimmung der Arabinose verfährt man nach C. Neuberg und J. Wohlgemuth.[1])

Bei Anwendung dieser Methode ist Voraussetzung, daß der Harn nicht weniger als etwa 1 % Arabinose enthält. Verdünntere Lösungen, wie genuiner Pentoseharn bei Pentosurie, müssen zuvor im Vakuum konzentriert werden.

Prinzip.

Die Bestimmung beruht auf der Abscheidung der Arabinose als Diphenylhydrazon.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 35. 41.

Ausführung.

100 ccm Harn, eventuell größere Mengen, die zu konzentrieren sind, werden mit 2 Tropfen 30 % Essigsäure angesäuert, auf dem Wasserbade auf ca. 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 Filtrat setzt man 1,4 g reines Diphenylhydrazin und erwärmt in einem nicht zu kleinen Becherglase $^1/_2$ Stunde in siedendem Wasserbad, wobei man durch Ersatz des verdampfenden Alkohols einer Entmischung der Flüssigkeit vorbeugt. Nach 24 Stunden filtriert man die ausgeschiedene Kristallmasse 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 Trockenschrank zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei das Hydrazon höchstens einen schwach violetten Schimmer annehmen darf.

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.

Eigenschaften.

Aus dem Diphenylhydrazon (Schmelzpunkt 206°) kann durch Spaltung mit Formaldehyd die i-Arabinose als solche gewonnen werden, die nach der Abscheidung erst als süßer Sirup, durch Behandeln im Vakuum kristallinisch und durch weiteres Umkristallisieren kristallisiert erhalten wird; sie schmilzt bei 163—164° und schmeckt süß. Die i-Arabinose, die nur hier in Betracht kommt, da ja die Xylose, wie schon erwähnt, nicht im Harne zu finden ist, ist optisch völlig inaktiv und gärt nicht. Die weiteren Eigenschaften beruhen in den beim Nachweise angegebenen Reaktionserscheinungen und in der Bildung von charakteristischen Verbindungen.

B. *Harnzucker* (Traubenzucker, 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. Der im Harn vorkommende Zucker ist Traubenzucker und zwar d-Glykose, wie Le Goff und dann G. Patéine und E. Dufau mit Sicherheit nachgewiesen haben; die von Landolph ausgesprochene Ansicht, daß der im Harne bei Diabetes vorkommende oder erscheinende Zucker in mindestens drei verschiedenen Formen vorkomme, ist irrig. Neben der Glykose sind im diabetischen Harne auch geringe Mengen Pentosen (S. 194) nachgewiesen worden, in selteneren Fällen auch Traubenzucker, Lävulose (s. d.).

Eine reichliche Zufuhr von zuckerhaltiger oder zuckererzeugender Nahrung, besonders wenn solche in größerer Menge nüchtern genommen wird, auch der Genuß reichlicher Mengen süßer alkoholischer Getränke (süßer Wein, Sekt) kann eine rascher oder langsamer vorübergehende Zuckerausscheidung (Glykosurie, Meliturie, physiologische oder alimentäre Glykosurie) hervorrufen. 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). Solche Zuckerausscheidung hat mit der Diabetes nichts zu tun, da diese Glykosurie von der Menge des eingeführten Zuckers, von der Durchlässigkeit der Nieren, nicht aber von einer Verminderung der zuckerzerstörenden Kraft abhängig ist. Tritt nur nach dem Genusse von zuckergebenden Stoffen Glykose auf, dann spricht man auch von einer leichten oder hepathogenen Form. Die vorübergehende Glykosurie kann auch eine Folge sein von Milchzuckerausscheidungen bei Milchstauung der Schwangeren und Säugenden (Laktosurie), ferner von gewissen operativen Eingriffen; sie wird 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; ferner treten nach Intoxikationen mit

Theobromin, Chloral, Chloro-

Eine empfehlenswerte Ausführung des Zuckernachweises im Harn.

Im nachstehenden möchte ich auf eine interessante Modifikation des Zuckernachweises mittels Fehling'scher Lösung hinweisen, die mir in jahrelanger Praxis vorzügliche Dienste geleistet hat. Das Verfahren ist so denkbar einfach wie

Zur Bestimmung der Saccharose im Harn schlägt A. Jolles ein Verfahren vor, das auf der Tatsache beruht, daß durch Einwirkung von Alkali mit Ausnahme des Rohrzuckers alle Mono- und Disaccharide (Dextrose, Lävulose, Invertzucker, Maltose, Galaktose, Arabinose, Laktose und Rhamnose) inaktiv werden, und das für wässerige Lösungen vom Verfasser bereits früher empfohlen wurde. Für Harn gestaltet sich die Methode wie folgt:

Harne bis zu 5 p. c. Dextrose werden im Verhältnis 1:1, Harne mit mehr als 5 p. c. Dextrose im Verhältnis 1:2 mit destilliertem Wasser verdünnt.

100 ccm der Lösung werden mit 2,5 ccm einer $^{4n}/_{1}$-Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäß im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen. Hierauf wird abgekühlt, mit Essigsäure schwach angesäuert, 50 ccm mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1:10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Resultiert eine geringe negative Enddrehung, so ist Saccharose nicht vorhanden. Ergibt sich eine positive Polarisation, so ist Saccharose im Harn vorhanden, und zwar entspricht 1° V. = 0,278 p. c. Saccharose, wobei dann noch Rücksicht auf die Verdünnung zu nehmen ist.

Die Methode gestattet, noch 0,2 p. c. Saccharose im Harn 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 Ammonsalzen aufweisen, gibt die Methode jedoch keine zuverlässigen Resultate. (Biochem. Zeitschr. 1912, Bd. 43, H. 1 u. 2.)

Nr. 344. ***Kaffeeflecke.*** Wie entfernt man Kaffeeflecke aus wollenen Kleiderstoffen?

Nr. 345. ***Longlife.*** Woraus besteht die Flüssigkeit und das Salz des „Longlife"-Apparates, um eine

vermehrte Bildung derselben

Ansicht, daß diese Substanzen Produkte unvollständiger Oxydation sind, nicht im Widerspruch zu stehen braucht.

Zur Bestimmung der Saccharose im Harn schlägt A. Jolles ein Verfahren vor, das auf der Tatsache beruht, daß durch Einwirkung von Alkali mit Ausnahme des Rohrzuckers alle Mono- und Disaccharide (Dextrose, Lävulose, Invertzucker, Maltose, Galaktose, Arabinose, Laktose und Rhamnose) inaktiv werden, und das für wässerige Lösungen vom Verfasser bereits früher empfohlen wurde. Für Harn gestaltet sich die Methode wie folgt:

Harne bis zu 5 p. c. Dextrose werden im Verhältnis 1:1, Harne mit mehr als 5 p. c. Dextrose im Verhältnis 1:2 mit destilliertem Wasser verdünnt.

100 ccm der Lösung werden mit 2,5 ccm einer $^{4n}/_{1}$-Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäß im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen. Hierauf wird abgekühlt, mit Essigsäure schwach angesäuert, 50 ccm mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1:10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Resultiert eine geringe negative Enddrehung, so ist Saccharose nicht vorhanden. Ergibt sich eine positive Polarisation, so ist Saccharose im Harn vorhanden, und zwar entspricht 1° V. = 0,278 p. c. Saccharose, wobei dann noch Rücksicht auf die Verdünnung zu nehmen ist.

Die Methode gestattet, noch 0,2 p. c. Saccharose im Harn 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 Ammonsalzen aufweisen, gibt die Methode jedoch keine zuverlässigen Resultate. (Biochem. Zeitschr. 1912, Bd. 43, H. 1 u. 2.)

hohle Pflanzenteile (z. B. glockenförmige Blum
kronen) deckt man zuerst innen, dann auf
Außenseite usw. Die Farben sollen bei dies
Verfahren völlig erhalten bleiben.

Nr. 975. *Cachets des Dr. Faivre.* Ersu
um Angabe der Bestandteile der Cachets des
Faivre mit Oxyquinothein Basset.

Antwort. Die Cachets des Dr. Faivre
halten nach den Ermittlungen von C. Manni
und L. Schwedes (Pharm. Ztg. 1912, Nr.
Phenacetin 0,3, Coffein 0,1, Pyramidon 0,15, Chi
sulfat 0,135 und Magnesia usta 0,04 pro dosi.

Nr. 976. *Demodin.* Was ist Demodin?

Nr. 977. *Eau dentifrice du Dr. Pier*
Um Mitteilung einer Vorschrift zur Herstellu
von Eau dentifrice des Dr. Pierre wird gebet

Antwort. Eau dentifrice du Dr. Pier
soll nach einer früheren Mitteilung in der Pha
Ztg. nach folgender Vorschrift bereitet werd
Fruct. Anis. stellat. 15,0, Spiritus Vini (90 pr
200,0 läßt man drei Tage stehen, filtriert und fä
schwach rosa mit Alkannin; dann fügt man
Ol. Menth. pip., Ol. Anis. stellat. aa gtts. 60. H
zu bemerkt ein Einsender, daß diese Vorsch
der Originalvorschrift wohl nahe komme, letzt
jedoch nicht genau bekannt sei. Sie ähnele
dessen derjenigen des Eau dentifrice du
Forell, zu welchem die Vorschrift laut
Fruct. Anisi stell., Caryophylli, Cort. Cinnam
aa 18,0, Spiritus 800,0, Aqu. dest. 400,0 wer
acht Tage mazeriert. Nach dem Filtrieren f
man hinzu: Ol. Menth. pip., Tinct. Benz
aa 12,0, Spiritus Cochleariae 70,0. Zuletzt w
filtriert.

Nr. 978. *Emolline.* Bitte um Vorschrift
Herstellung von Emolline à la Bengen.

Antwort. Emolline besteht nach den
gaben in Gehes Codex aus 1,0 Traganth,
dest. Wasser, 10,0 Glycerin, 5,0 Spiritus, 1,0 S

Den qualitativen Nachweis von Zucker im Harn nach W. S. Haines, der in Deutschland wenig gebräuchlich ist, empfiehlt Strasburger besonderer Beachtung, zumal dabei mit einer haltbaren Kupferlösung und stark verdünntem Harn gearbeitet wird, wodurch andere reduzierende Substanzen als Zucker in der Regel unschädlich gemacht werden. Die Zusammensetzung der Lösung ist folgende: Man löst 2 g reinen Kupfersulfats in 15 ccm destilliertem Wasser, fügt 15 ccm reines Glycerin hinzu und mischt das Ganze mit 150 ccm 5 proz. Kalilauge. Zum Gebrauch erhitzt man 4 ccm der Lösung zum Kochen, fügt einige Tropfen des zu untersuchenden Urins hinzu und kocht wieder. Bei Anwesenheit von viel Zucker tritt rasch der bekannte rote oder gelbe Niederschlag ein. Ist wenig Zucker vorhanden, so kann man bis zu 10 Tropfen Urin anwenden und bis zu zwei Minuten kochen. Die Probe ist sehr bequem und nach Verfasser namentlich bei konzentrierten Urinen etwas empfindlicher als die Trommersche Probe. (D. Med. Wschr. 1905, Nr. 15.)

Chinaelixir [illegible]
Eisenpräparat setzt Dung dem Chinaelixir zu?

Nr. 337. ***Depilatorium.*** Womit können Haare von der Haut dauernd entfernt werden?[2]

Nr. 338. ***Eigelb.*** Ist eine Vorschrift zur Herstellung von künstlichem Eigelb bekannt?

Nr. 339. ***Electra.*** Woraus besteht das Putzpulver Electra von Roch in Hamburg?

Nr. 340. ***Gelatinekapseln.*** Um Anleitung und Ratschläge zur Gelatinekapselfabrikation wird gebeten.[3]

Nr. 341. ***Gichtmittel.*** Woraus besteht das Gichtmittel, das von einem Kloster bei Florenz in den Handel kommt? Dasselbe soll aus Enzian und indischen Hölzern bestehen.

Nr. 342. ***Hensels Salze.*** Ist die Zusammensetzung von Hensels Nährsalzen bekannt?[4]

Nr. 343. ***Jodoform-Chlorphenolpasta.*** Wie lautet die Vorschrift zu Prof. Dr. O. Walkhoffs Jodoform-Chlorphenolpaste (dargestellt im chem. Laboratorium von Gebr. Lozzé, Berlin, Markgrafen-Str. 16)?

Nr. 344. ***Kaffeeflecke.*** Wie entfernt man Kaffeeflecke aus wollenen Kleiderstoffen?

Nr. 345. ***Longlife.*** Woraus besteht die Flüssigkeit und das Salz des „Longlife"-Apparates

Eine empfehlenswerte Ausführung des Zuckernachweises im Harn.

Im nachstehenden möchte ich auf eine interessante Modifikation des Zuckernachweises mittels F e h l i n g'scher Lösung hinweisen, die mir in jahrelanger Praxis vorzügliche Dienste geleistet hat. Das Verfahren ist so denkbar einfach wie zuverlässig, daß ich es einer allgemeinen Anwendung anempfehlen möchte. Ganz besonders im Laboratorium des Drogisten, in dem nicht alltäglich Harnuntersuchungen vorgenommen werden, sollte das weiter unten beschriebene Reagens einen festen Platz finden. Die eigentliche Fehlingsche Lösung besteht bekanntlich aus zwei Lösungen: Lösung I eine Kupfersulfatlösung und Lösung II eine alkalische Seignettesalzlösung von bestimmtem Gehalt. Erst unmittelbar vor dem Gebrauch dürfen die Lösungen gemischt und dann verwendet werden. Bei der nun zu beschreibenden Modifikation wird nur e i n e Lösung gebraucht. Die zur Herstellung dieser Lösung nötigen Reagenzien sind in jeder Drogerie ohne weiteres zur Hand. Das bei Fehling angewandte Kaliumnatriumtartrat ist hier durch Glyzerin ersetzt. Die Herstellung des Reagens geschieht folgendermaßen:

2 g Kupfersulfat werden in 15 g destilliertem Wasser gelöst, daraufhin 15 g Glyzerin hinzugefügt und das ganze mit einer fünfprozentigen Kalilauge auf 150 g aufgefüllt.

Das Reagens wird in einer braunen, mit einem Gummistopfen gut verschlossenen Flasche aufbewahrt. Es ist außerordentlich lange Zeit haltbar und stets gebrauchsbereit.

Mit diesem Reagens läßt sich nun eine Zuckerprüfung überaus schnell und einfach wie folgt ausführen:

Man füllt ein Reagenzglas mit 5 ccm dieser Lösung, erhitzt zum Kochen und setzt der kochendheißen Lösung 10 bis 15 Tropfen des zu prüfenden klaren Harnes hinzu. Die Anwesenheit von Zucker gibt sich durch eine Rotgelbfärbung der Mischung zu erkennen, der später ein gleichfarbiger Niederschlag folgt. Die Ausführung ist so einfach und zuverlässig, daß sie keiner weiteren Hinweise bedarf. Schon im Felde hat sich diese Methode sehr bewährt, so daß ich sie für sehr beachtenswert in vorkommenden Fällen empfehlen möchte.

T s c h i r c h.

hitzung genau wiegt, kann man auch den prozentualen Wasserzusatz errechnen.

Schädlich wirkende Zusätze von Harzen erkennt man ohne chemische Prüfung daran, daß weiße Farben, wie Zinkweiß und Lithopone, beim Anrühren oder nach kürzerer Zeit gelb werden und Neigung zum Eindicken zeigen. Auch diese Prüfung ist leicht auszuführen. Man verrührt in einer Schale, Untertasse oder dergleichen gleiche Teile Firnis und eine der genannten weißen Farben gründlich miteinander und läßt die Mischung bis zum nächsten Morgen stehen. Auf Grund eines Parallelversuchs mit einem als einwandfrei bekannten Firnis kann man dann leicht feststellen, ob die versuchsweise angerührte Masse nachgibt oder käsig wird, was bei reinem Leinölfirnis ausgeschlossen ist.

Die wichtigste Eigenschaft vom Leinölfirnis ist seine Trockenkraft. Uebrigens bedingen Reinheit und Trockenkraft einander. Hat ein Firnis z. B. Zusätze von Harzen, Soja- oder Leindotteröl erhalten, um drei der besonders im östlichen Auslande beliebtesten Zusatzmittel zu nennen, so bleibt der Anstrich klebrig. Von einem reinen Leinölfirnis verlangt man mit Recht eine gute Trockenfähigkeit. „Gut" und „schnell" trocknen ist nicht das gleiche. In den Lieferbedingungen für Leinölfirnis des Reichsausschusses für Lieferbedingungen (RAL), die heute

---

Die neue Eisenbah

Die bisher für den Betrieb der Deutschen Reichsbahn gültigen alten Eisenbahnverkehrsbestimmungen aus dem Jahre 1908 treten am 1. Oktober d. J. außer Kraft. Die neue vom gleichen Zeitpunkt gültige Eisenbahnverkehrsordnung spricht zunächst von Fahrkarten nicht mehr. Die Verkehrsordnung kennt vielmehr lediglich Fahrausweise, und zwar müssen die von den Reisenden zu zahlenden Fahrpreise aus dem Tarifauszug der Reichsbahn unmittelbar hervorgehen und auf die Fahrkarte wieder aufgedruckt werden.

Aenderungen im Fahrplan sind durch entsprechende Bekannt- [illegible] Bahnhöfen auszuhängen. Außer-

Opiumalkaloiden, Curare, Coffein, Theobromin, Chloral, Chloroform, Amylnitrit, Blei, Kohlenoxyd, Zuckerausscheidungen auf, so daß wir in solchen Fällen auch von einer toxischen Glykosurie sprechen. Eine dauernde, anfangs meist spärliche, später reichlicher werdende Ausscheidung von Zucker im Harn, die meist mit einer Anzahl Störungen im Gesamtorganismus verbunden ist, bezeichnet man im Gegensatz zu der zeitweiligen Ausscheidung, der transitorischen Glykosurie, als Zuckerharnruhr, Diabetes mellitus. Diese Zuckerausscheidung ist dann eine bleibende Erscheinung bei gemischter Nahrung, nimmt ab oder verschwindet bei Fleischkost und nimmt zu nach kohlehydratreicher Nahrung. Diese Krankheit ist in jedem Lebensalter beobachtet worden; es können oft ganz bedeutende Mengen Zucker, mitunter über 1 Kilogramm in 24 Stunden mit dem Harne ausgeschieden werden; 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 im Morgenharne keinen Zucker findet, sondern erst im Mittag- oder Abendharn nach den größeren Mahlzeiten oder nach dem Genusse von Kohlehydraten. Es muß deshalb diese Tatsache bei Untersuchungen wohl berücksichtigt werden. Zu bemerken dürfte sein, daß die Menge des vorhandenen Zuckers kein Urteil über die Schwere oder die Leichtigkeit des Falles erlaubt. Diese Unterscheidung ist neuerdings von Traube und Seegen von der Wirkung einer zuckerfreien Diät abhängig gemacht; leichte Fälle wären solche, bei denen keine Zuckerausscheidung mehr zu beobachten ist, schwere Fälle, in denen das Gegenteil der Fall ist.

Weiter kommt bei schweren Fällen noch die Bildung und das Vorhandensein von Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure in Betracht, die nach den jetzt bestehenden Ansichten aus dem Eiweiß, den Fetten, auch Kohlehydraten entstehen und zwar soll es sich beim Auftreten dieser Stoffe nicht um eine verminderte Oxydationsfähigkeit, sondern um eine vermehrte Bildung derselben handeln (Zechuisen), womit die Ansicht, daß diese Substanzen Produkte unvollständiger Oxydation sind, nicht im Widerspruch zu stehen braucht.

Ebenso wie der Gehalt des Zuckers, ist bei der Zuckerharnruhr auch die Menge des Harnwassers sehr verschieden; man findet oft eine ganz bedeutende Steigerung des Harnwassers (öfters bis 15 Liter und noch mehr im Tag, Diabetes insipidus). Die Kenntnis der Menge des Harnes ist von großer Wichtigkeit. Abhängig ist der Gehalt des Zuckers im Harn von der Art der Nahrung; kohlehydrathaltige Nahrung hat eine Vermehrung, eiweißhaltige 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.

Man findet in der Literatur noch die Bezeichnungen Pankreasdiabetes, Phloridzindiabetes, Nierendiabetes.

Pankreasdiabetes. Nach Entfernung der Pankreas tritt Diabetes ein; auch bei Pankreaserkrankungen wurde Diabetes beobachtet.

Phloridzindiabetes. Nach Einnehmen oder subkutaner Einspritzung von Phloridzin, einem Glykosid der Wurzelrinde des Apfelbaumes wurde bei Menschen und Tieren eine reichliche Zuckerausscheidung nachgewiesen.

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 (Koffein, Theobromin, Cantharidin) zu beobachten, hier auch mit Hyperglykämie.

Eigenschaften eines Zuckerharnes.

Die Farbe des diabetischen Harnes ist fast durchgehends abnorm blaß; das spezifische Gewicht ist bei größeren Zuckermengen ein hohes — 1,04—1,060 sogar — doch auch wieder normal, so daß aus dem spezifischen Gewichte auf die vorhandene Menge an Zucker im allgemeinen nicht geschlossen werden kann; 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, Indikan, 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. In schweren Diabetesfällen enthält der Harn viel Aceton, bei schweren nervösen Störungen (Coma, Asthma) auch Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure, Fettsäuren.

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 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. Im Magendarmkanal werden die Kohlehydrate in d-Glykose, in l-Fruktose und Galaktose umgewandelt und diese zunächst als Reservestoffe in Form von Glykogen, einem hochmolekularen Kohlehydrate, in Leber und Muskeln, oder als Fett aufgespeichert. Das Auftreten des Zuckers im Harn ist nun bedingt durch eine Anreicherung des Zuckers im Blut und eine verminderte Zerstörung und Spaltung desselben in Kohlensäure und Wasser. Die Spaltung des Zuckers obliegt in der Hauptsache den Muskeln; eine unvollständige Spaltung des Zuckers deutet deshalb auf eine Störung der chemischen Vorgänge in den Muskeln und diese Störung ist 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 kann aber der Zucker nicht verbrannt werden; er erzeugt Hyperglykämie und tritt aus dem Blut in den Harn über. Sehr gut 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). Bekannt ist, daß nach Degeneration und Exstirpation des Pankreas Diabetes eintritt. Vielleicht ist auch diese Erscheinung mit den angegebenen Störungen in den Funktionen des Nervensystems in Einklang zu bringen und findet hierdurch ihre Erklärung.

F. Blumenthal[1]) und F. Umber[2]) 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 u. s. w. spräche. Bei dem schweren Diabetes wird Zucker auch aus Eiweiß gebildet.

Darstellung des Harnzuckers aus dem Harn.

Ein oder mehrere Liter Harn werden mit essigsaurem Blei gefällt; das Filtrat wird durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von überschüssigem 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 Kristallisation. Die ausgeschiedenen Kristalle werden nach dem Zerreiben mit absolutem Alkohol, auch reinem wasserfreiem Methylalkohol, ausgewaschen und am besten aus Methylalkohol umkristallisiert. Oder man bedient sich, besonders bei Anwesenheit nur geringer Zuckermengen, der Fällbarkeit des Harnzuckers durch essigsaures Blei und Ammoniak; den Niederschlag verteilt man in Alkohol, leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtriert und dampft zum Sirup ein. Man löst den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilauge hinzu, bis ein Niederschlag entsteht. Man filtriert, löst den aus Traubenzuckerkali 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.

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902.
[2]) Therap. d. Gegenwart 1900.

Eigenschaften des Harnzuckers.

Derselbe kristallisiert aus Wasser in weißen körnigkristallinischen oder warzenförmigen Massen; wasserfrei kristallisiert er in kleinen durchsichtigen Prismen, aus Methylalkohol in monoklinen Zwillingskristallen. 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 Umkristallisieren und Reinigen eignet.

Aus seinen Lösungen wird er vollständig durch basisches Bleiacetat und Ammoniak als basisches Bleisalz gefällt. Man benutzt diese Eigenschaft zur Isolierung kleiner Zuckermengen aus Harn. Mit Chlornatrium liefert er verschiedene Verbindungen; eine solche $2(C_6H_{12}O_6) . NaCl + H_2O$ scheidet sich aus diabetischem Harne in schönen sechsseitigen Doppelpyramiden oder in Rhomboëdern aus; auch Kalk und Baryt geben Verbindungen mit Traubenzucker. Traubenzuckerlösungen reduzieren in der Wärme alkalische Kupferoxyd-, Silberoxyd-, 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 Anhydrit + 52,74°. 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 kristallisierendes bei 204° 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° vor sich.

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

Qualitativer Nachweis des Zuckers.

Der Nachweis des Zuckers im Harne gehört zu denjenigen Operationen in der Harnanalyse, die am häufigsten auszuführen sind; dieser Nachweis erfordert jedoch, so einfach derselbe zu sein scheint, Geduld und Vorsicht, wenn nur kleine

Mengen Zucker vorhanden sind. 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 Kohlehydraten. Vor allem muß schon vor Anführung der wichtigsten Methoden betont werden, daß man sich nie mit dem positiven Ausfall einer Probe begnügen darf, sondern daß man stets noch weitere Proben ausführen muß, bevor ein endgültiges Urteil gefällt wird, was um so notwendiger erscheint, wenn man daran erinnert, daß einige der im Nachstehenden aufgeführten Reaktionen nicht allein dem Harnzucker, sondern auch anderen Körpern, Arzneistoffen oder Umwandlungsprodukten dieser im Organismus eigen sind und infolge davon Täuschungen vorkommen können; es wird bei Besprechung der Methoden und Reaktionen auf diese Tatsachen aufmerksam gemacht werden.

Vorbereitung des Harnes zum qualitativen Nachweis des Zuckers.

Vor der weiteren Prüfung auf Traubenzucker muß man zunächst die Abwesenheit von Eiweiß und Schwefelwasserstoff konstatieren; das Eiweiß 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.

Bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff (S. 65) 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 Bleiessig (neuerdings wurde auch Bleinitratlösung empfohlen), 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 einige Tropfen Essigsäure zu. Aus alkalischem Harn wird durch Blei Zucker gefällt.

Noch besser nimmt man das Filtrat des Harnes, wie er für die Zwecke der polarimetrischen Prüfung (s. d.) vorbereitet wurde (mit Quecksilbernitratlösung).

Auf die eine oder die andere Weise entfernt man Farbstoffe und weitere die Reduktion beeinflussende oder selbst reduzierende Stoffe, soweit als möglich.

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.

Nimmt man den Harn direkt, so vergesse man nicht, wenn er konzentriert ist, denselben zwei- bis dreifach zu verdünnen.

1. Methode Trommer. (Älteste Probe 1841.)

Prinzip.

Diese Probe beruht auf der Reduktion einer alkalischen Kupferlösung zu Kupferoxydul event. Kupferoxydulhydrat durch Traubenzucker.

Man versetzt in einem Reagensglase 5 ccm Harn mit der gleichen Menge 10%iger Natronlauge, schüttelt und fügt unter Umschütteln von einer 5% Kupfersulfatlösung so lange hinzu, bis eine kleine Menge von Kupferhydroxyd ungelöst bleibt und die Flüssigkeit etwas blaugrün oder trüb wird. (Eine anfangs bei Alkalizusatz etwa entstehende Trübung rührt von Erdphosphaten her. Zucker hat wie Glyzerin

die Eigenschaft, Kupferhydroxyd zu lösen, so daß eine anfangs entstehende schöne Blaufärbung auf Zucker schließen läßt.) Nun erwärmt man die Mischung langsam höchstens bis zum **beginnenden** Sieden, am besten bloß an einer Stelle an der Oberfläche der Flüssigkeit. Bei zuckerhaltigem Harn bemerkt man dann schon vor dem Kochen an der erwärmten Stelle gelbe oder orangerote Streifen oder eine ebensolche wolkige Trübung, die sich ohne weiteres Erwärmen über die ganze Flüssigkeit erstreckt und sich, allerdings gewöhnlich sehr langsam, als rötlich feinkörniger Niederschlag von Kupferoxydul absetzt. Meistens bleibt das letztere suspendiert.

Beurteilung.

Die Probe ist bei Anwendung des Harnes direkt unsicher, ungenau, sie ist eben eine Reduktionsprobe überhaupt.

In der angegebenen Weise verläuft dieselbe nur in ausgesprochenem diabetischem Harn. Ferner kommen im normalen Harn, wie im Fieberharn Substanzen vor (Harnsäure, Kreatinin, Harn- und Gallenfarbstoffe, Mucin, Glycuronsäureverbindungen), die einerseits eine Reduktion veranlassen, andererseits Kupferoxydul in Lösung zu halten vermögen (besonders Kreatinin), so daß dasselbe nicht zur Abscheidung gelangt; es können im Harn sogar 0,5 % Zucker übersehen werden, wenn sich die reduzierenden und Kupferoxydul lösenden Substanzen gerade decken. Man sei deshalb mit dem Zusatz von Alkali nicht ängstlich, da dadurch das Kreatinin in Kreatin umgewandelt wird, welches den regulären Verlauf der Reaktion nicht beeinträchtigt. Mit der Quecksilbernitratlösung vorbereiteter Harn beseitigt die erwähnten Störungen sehr wesentlich. Auch nach Einnehmen von Arzneimitteln (Salizylsäure, Chloralhydrat, Thallin, Salol, Benzosol, Saccharin, Copaiva, Arbutin besonders) treten Fällungen auf. Bettmann[1]) beobachtete, daß eine bestehende Ausscheidung von Zucker durch Copaivabalsam erheblich gesteigert wird; auch kann dieses Arzneimittel alimentäre Glykosurie bewirken.

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; deswegen ist auch weiteres Kochen fehlerhaft, da sich Kupferoxyd und Kupfer abscheiden. Die alte Trommersche Probe sollte man nur in der viel verbesserten Form von

2. Worm-Müller[2]) in Anwendung bringen.

Erforderliche Lösungen.

1. 2,5 % Kupfersulfatlösung.
2. Eine Lösung von 10 Teilen weinsaurem Kalinatron (Seignettesalz) in 100 Teilen 4 % Natronlauge.

Man mischt von diesen Lösungen 1,5 ccm Kupfersulfat- mit 2,5 ccm der Seignettesalzlösung un-

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1899. 479.
[2]) Pflügers Archiv **27.** 107.

mittelbar vor dem Gebrauche und erhitzt bis auf 70—80° (nicht ganz zum Kochen); auf die gleiche Temperatur erwärmt man 5 ccm des eventuell verdünnten Harnes und bringt den letzteren in kleinen Portionen ohne Schütteln zur Kupferlösung. (Man kann auch den Inhalt der beiden Reagensgläser zum Kochen erhitzen, dieses gleichzeitig unterbrechen, die Gläser $^1/_2$—1 Minute stehen lassen und dann vermischen.) Eine rasch eintretende gelbliche, bald rötlich werdende Trübung oder Fällung von Kupferoxydul deutet auf Zuckergehalt. Erhält man keine Reaktion, so muß, da bei geringem Zuckergehalt die Reaktion oft nur bei ganz bestimmter Menge stattfindet, die Probe mit steigenden Mengen von der Kupfersulfatlösung (2,5, 3,0, 3,5, 4,0 ccm) wiederholt werden, bis die Reaktion eintritt, oder bis die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, 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 Kupferlösung und Seignettesalzlösung zusammengemischte Flüssigkeit zum Kochen, wobei absolut keine Veränderung der Lösung (Trübung oder Reduktion) eintreten darf; dann gibt man den eventuell verdünnten und erhitzten Harn (bei stark konzentrierten, harnsäurereichen Harnen verdünnt man mit der gleichen Menge Wasser), noch sicherer aber das Filtrat des mit Quecksilbernitratlösung behandelten Harnes, das man gleichfalls erhitzt hat, zur Fehlingschen Lösung. Eine eintretende gelbliche bis gelblich-rötliche Färbung zeigt die Anwesenheit von Zucker an.

Beurteilung.

Diese Probe ist viel empfindlicher wie 1., ferner kommen auch bei den angegebenen Temperaturen die das Kupferoxyd bei Siedetemperatur reduzierenden Substanzen nur in ganz geringem Grade zur Wirkung.

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

Man denke auch noch daran, daß Chloroform oder Formalin ebenfalls nicht ohne Einwirkung auf Fehling sind. Für den Zuckernachweis bestimmter Harn soll nie mit den genannten Mitteln konserviert werden; es eignet sich hierzu der Zusatz von 1 % Kupfersulfat.

3. Die Böttger[1])-Almén-Nylandersche[2]) Wismutprobe.

Prinzip.

Diese 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 weit genauere Resultate gebenden Modifikation von Nylander vorgenommen.

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 % Natronlauge bei gelinder Wärme gelöst werden; die Lösung wird filtriert. Das Reagens hält sich in einem dunklen Glase und im Dunkeln aufbewahrt längere Zeit unverändert.

Man erhält 5—10 ccm des selbstverständlich eiweißfreien Harnes nach Zugabe von $^1/_2$—1 ccm des Reagenses mindestens 3 Minuten im Kochen. Bei Anwesenheit von Zucker tritt Braunschwarzfärbung des anfänglich rein weißen Erdphosphatniederschlages sowie der Flüssigkeit auf. Das Reagens wird stets vor dem Gebrauche nach 10facher Verdünnung mit Wasser auf seine normale Beschaffenheit geprüft — gekocht; es darf keine bräunliche oder schwarze Abscheidung stattfinden. Ein sehr geringer Zuckergehalt ist durch die grauweiße Färbung des Phosphatniederschlages erkennbar (s. unten).

Beim Kochen der Mischung bemerkt man häufig ein recht lästiges Stoßen; man kann dieses durch Zugeben einer kleinen Platinspirale und dadurch vermeiden, daß man nach dem erfolgten Aufkochen das Reagensglas neben der Flamme des Brenners kochen läßt.

G. Buchner empfiehlt hierzu die wirklich zu empfehlenden Reagensröhren nach Hoare, die in ihrem oberen Teile eine kugelförmige Erweiterung haben, wodurch das unangenehme Überkochen ausgeschlossen wird.

Beurteilung.

Harnsäure und Kreatinin wirken nicht ein; dagegen Glykuronsäuren und weiter vermehrte Anwesenheit von Ammonkarbonat, 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.

[1]) Journ. prakt. Chem. **70.** 432.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1884. **8.** 175.

Antipyrin, Senna, Rheum, Salol, Terpentinöl, Sulfonal, Trional, Arbutin wirken auch ein; der Arzt wird deshalb eine Medikation vor der Anstellung der Probe vermeiden; auch der Genuß von Gewürzen dürfte zweckmäßig zu unterlassen sein. Sonst ist diese Probe besonders als bequeme und sichere für den Arzt zu empfehlen; sie ist viel schärfer und sicherer als die vorhergehenden. Im übrigen kann man sich auch durch einige Reaktionen von dem Fehlen oder der Anwesenheit der genannten Stoffe leicht überzeugen. Besonders rheumhaltiger Harn wirkt störend und Zucker vortäuschend ein.

Man halte genau das Verhältnis zwischen Harn und Reagens ein. G. Buchner macht noch darauf aufmerksam, daß hier 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 und mit Alkalien schwarz wird.

Man soll deshalb beim Erhalten einer solchen grauen Färbung nur dann auf Zucker schließen, wenn eine Probe Harn, mit Kalilauge erwärmt, nach dem Absetzen einen weißen Niederschlag liefert.

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[1]) zusammengestellte Übersicht zeigen. Wir werden in wichtigen Fällen den Ausfall einer dieser Proben immer noch durch die Gär- oder Phenylhydrazinprobe kontrollieren.

Übersicht:

I. Normale Harnbestandteile, welche je nach der vorhandenen Menge mehr oder weniger reduzieren bezw. die Farbe des Erdphosphatniederschlages verändern.

Fehling	Nylander:
Brenzkatechin.	Uroërythrin.
Gallenfarbstoffe.	(Harnfarbstoffe, insbesondere auch Urobilin, wenn diese stark vermehrt sind, verursachen Braunfärbung des Phosphatniederschlages).
Harnfarbstoffe.	
Harnsäure.	
Indican.	
Kreatinin.	
Urobilin.	
Urobilinogen.	

Spuren von Kohlehydraten als: Glykose, Isomaltose, Pentosen, Milchzucker und tierisches Gummi, dann Glykuronsäureverbindungen (geringe Mengen).

Vermehrte Reduktion zeigen die konzentrierten und sogen. hochgestellten Harne, auch Harne, welche mäßige oder reichliche Mengen von Formelementen (Leukocyten, Blutkörperchen, Epithelien) enthalten.

II. Stoffe des anormalen Stoffwechsels, welche reduzieren.

Fehling:	Nylander:
—	Blutfarbstoffe.
—	Vermehrtes Hämatoporphyrin.
Homogentisinsäure, Uroleucinsäure } stark.	Homogentisinsäure, Uroleucinsäure, (Alkaptonharn) } schwach.
Pentosen.	Pentosen (schwach).

Hexosen (Glykose, Lävulose, Isomaltose, Milchzucker), Erythrodextrin, Glykogen, Glykuronsäureverbindungen.

[1]) Ärztliche Rundschau 1899. Nr. 42—44. Separatabdruck.

III. Stoffe, welche die Zuckerreaktionen beeinflussen.

Fehling:	Nylander:
Ammoniumkarbonat.	Ammoniumkarbonat.
Eiweiß (Biuretreaktion).	Eiweiß in größerer Menge.

IV. Reduzierende Stoffe, welche dem Harne zur Konservierung zugesetzt werden.

Fehling:	Nylander:
Formaldehyd.	—
Chloroform in größerer Menge.	—

V. Medikamente bezw. deren durch den Stoffwechsel gebildete Produkte.

Fehling:	Nylander:
Acetphenetidin.	Antipyrin.
Antifebrin.	Arbutin.
Arbutin.	Benzoesäure.
Benzoesäure.	Benzosol.
Benzosol.	Chinin (größere Dosen).
Copaiva.	Chloral.
Chloral.	Indican.
Glykuronsäureverbindungen.	Eucalyptus.
Morphium.	Glykuronsäureverbindungen.
Phenacetin.	Kaïrin.
Saccharin.	Rheum (auch Faulbaum und Cascara sagrada).
Salicylsäure.	Salol.
Salol.	Senna.
Sulfonal.	Sulfonal.
Terpentin.	Terpentin.
Thallin.	Trional.
Urethan.	

Überhaupt auch alle Arzneikörper, die in Form von Glykuronsäureverbindungen ausgeschieden werden.

4. Das Verhalten des Harnes bei der Polarisation. S. 219 und 223.

5. Die Gärprobe.

Prinzip.

Der im Harn 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 auch die vorhandene Traubenzuckermenge bestimmt. $C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_6O + 2\,CO_2$.

Ausführung.

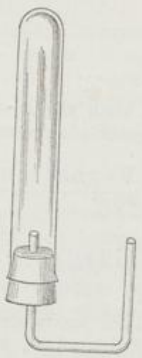
Am zweckmäßigsten verfährt man unter Verwendung des Lohnsteinschen Apparates in der bei der quantitativen Bestimmung angegebenen Weise (S. 227), da die Instandsetzung dieses Apparates nicht mehr Zeit erfordert, wie die der anderen nur für qualitative Proben tauglichen Gärungssaccharometer, Gärungsröhrchen.

Im übrigen kann man die 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, 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 Harn füllt man das nachstehend abgebildete Gärgläschen (Fig. 29) (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 sicherheitshalber — es ist übrigens nicht nötig — durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden. Nun stellt man den Apparat an einen 25—30° warmen Ort 12—24 Stunden 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 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 wieder angesäuerten ca. 0,5—1 % Traubenzuckerlösung und Hefe. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen, wenn im zweiten Gärungsröhrchen sich kein Gas (Kohlensäure), im dritten aber solches in reichlicher Menge ansammelt.



Fig. 29.


Fig. 30.

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 Prozedur nochmals. Man gibt schließlich den Hefenbrei auf ein Filterchen, wäscht mit Wasser etwas aus, läßt letzteres abtropfen und trocknet durch Pressen zwischen Fließpapier die Hefe, die nun zum Gebrauche geeignet ist.

In Ermangelung dieser Apparate kann man sich der von E. Moritz angegebenen Form (Fig. 30) eines Apparates bedienen, den man sich leicht selbst herstellen kann.

Das etwa 1 cm weite Reagensglas füllt man mit Harn-Hefengemisch (50 ccm Harn und 1 g zuckerfreie Hefe) vollständig an und verschließt das Reagensglas mit einem 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 % Traubenzuckerlösung und 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 vollkommen, wenn sie aus Kohlensäure bestanden.

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

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

Beurteilung.

Die 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 irgend einem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandteil nicht gestattet. Höchstens könnte die äußerst selten vorkommende Lävulose in Betracht kommen, die aber durch ihre Linksdrehung sich unterscheidet.

Die früher als einziger Nachteil dieser Probe angeführte längere Dauer des Versuches kann bei Benutzung eines auf 30—35° gehaltenen Brutschrankes nun wesentlich abgekürzt werden; mit dem Lohnsteinschen Apparate ist nach 5—6stündigem Stehen bei dieser Temperatur der Zuckergehalt abzulesen.

6. Die Phenylhydrazinprobe nach E. Fischer.[1])

Prinzip.

Ein bezw. zwei Moleküle Phenylhydrazin verbinden sich mit einem Molekül Hexose zu einem Osazon.

Ausführung.

a) Nach v. Jacksch-Jolles.

50 ccm (eventuell größere Mengen) eiweißfreien Harnes werden mit 2 g reinem, salzsaurem Phenylhydrazin und 4 g essigsaurem Natron $^1/_2$—1 Stunde lang in einem Becherglase in einem kochenden Wasserbade erwärmt, dann in kaltes Wasser gestellt und einige Stunden stehen lassen, wobei sich das Phenylglykosazon kristallinisch oder in amorphen Massen abscheidet. Man untersucht diesen Niederschlag mikroskopisch bei 200—300facher Vergrößerung; es sind die charakte-

[1]) Berl. Ber. **17.** 579 und **22.** 50.

ristischen Kristalle leicht zu erkennen (Fig. 31; Nadeln, Sterne, auch garbenförmige Kristalle). 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 Alkohol, versetzt das Filtrat mit Wasser, entfernt den Alkohol durch Erhitzen, wobei man das Phenylglykosazon in den charakteristischen intensiv gelben, bei 204—205° schmelzenden, oft büschelförmig vereinigten Nadeln gewinnen kann, die noch bei 0,05% Zucker im Harn entstehen.

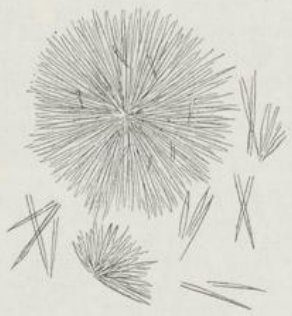


Fig. 31.

b) Nach A. Neumann-Cipollina.[1])

Neumann verwendet ein besonderes graduiertes Reagensrohr.[2]) 5 ccm Harn werden mit 2 ccm Essigsäuremischung (Eisessig mit 50% Natriumacetat vermischt) und 2 Tropfen reinem Phenylhydrazin versetzt und das Ganze bei möglichst horizontaler Lage und Haltung in 1 Minute bis auf 3 ccm eingedampft. Ist die Probe negativ ausgefallen, so verdünne man mit Wasser, das mit Natronlauge versetzt ist, bis auf 5 ccm; es fällt hier 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%-Essigsäure und 4 ccm Harn werden in einem gewöhnlichen Reagensglas über kleiner Flamme 1 Minute kochen gelassen, wobei man beständig schüttelt. Dann fügt man 4—5 Tropfen Natronlauge (1,16 spezifisches Gewicht) hinzu und läßt erkalten. Die Schnelligkeit der Kristallbildung hängt von der Dichte des Harnes ab.

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27.** 334.
[2]) Zu haben bei P. Altmann, Berlin, Luisenstraße 47.

Beurteilung.

Milchzucker, Pentose, Lävulose, Maltose geben auch die Osazone. Gepaarte Glykuronsäure gibt diese Probe nicht. Es ist nur die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß diese beim Behandeln mit Säuren gespalten werden und daß die frei gewordene Glykuronsäure dann eine mit dem Glukosazon zu verwechselnde Verbindung gibt; in der Tat wird die nach Mentholgenuß entstehende Mentholglykuronsäure leicht in der erwähnten Weise gespalten. Das Osazon des Traubenzuckers dreht 1° 30′ links, das Pentosazon ist optisch inaktiv, schmilzt bei 166—168°, das Maltosazon dreht 1° 30′ rechts. (P. Mayer.)

Über den Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten noch immer geteilt; man soll aus manchem Harn dem Glykosazon ähnliche Kristalle erhalten, während nach anderer Ansicht in zweifelhaften Fällen die Phenylhydrazinprobe einen sicheren Anhaltspunkt gibt und die Empfindlichkeitsgrenze bei nicht konzentrierten Harnen im Durchschnitt bei 0,03 % liegt. Der Niederschlag muß reichlich sein und mikroskopisch zum weitaus größten Teile aus büschelförmig oder drusig angeordneten gelben Nadeln sich zusammengesetzt erweisen. Ich halte diese Probe für eine sehr empfindliche und möchte deren Ausführung in zweifelhaften Fällen stets empfehlen. Ich verwende mit dem besten Erfolge immer noch die ursprüngliche Methode (a).

7. Probe von Penzoldt.[1])

Man versetzt stark alkalisch gemachten Harn mit der gleichen Menge einer frisch bereiteten schwach alkalisch gemachten Lösung von Diazobenzolsulfosäure (1 : 60). Zuckerhaltiger Harn wird zuerst gelbrot, dann bordeauxrot, bei starkem Zuckergehalt dunkelrot und undurchsichtig; die rote Färbung besitzt dabei einen bläulichen Ton; nach ungefähr $^1/_4$stündigem Stehen gibt zuckerhaltiger Harn einen rötlichen Schaum, normaler einen gelben. Ein Streifen Papier färbt sich im Zuckerharn rosenrot, im normalen gelb.

Beurteilung.

Die Probe ist zuverlässig.

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

8. Die Moore-Hellersche 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. (Umwandlung des Zuckers in braungefärbte Huminsubstanzen.)

---

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

Beurteilung.

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

9. Probe von Rubner.

Man versetzt 10 ccm 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 Ammoniak. Erwärmt man durch Eintauchen in heißes Wasser (auf ca. 80°), so nimmt bei Anwesenheit von Zucker der Niederschlag eine rosenrote oder fleischrote Färbung an.

Beurteilung.

Die Sicherheit ist nicht groß, da mit 0,2 % Zucker kaum Reaktionen erhalten werden. Besser ist die Probe in folgender Ausführung.[1])

10. Probe mit Bleiessig und Ammoniak.

Man versetzt Urin mit einigen Tropfen Ammoniak und einigen Tropfen Bleiessig. Der entstandene weiße Niederschlag färbt sich bei vorsichtigem Erhitzen (nicht zum Kochen!) fleischfarben bis purpurfarben. (Schmidt.)

Beurteilung.

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

11. Probe mit Nitropropioltabletten.

Diese von der Firma H. A. Teusch in Köln-Ehrenfeld in den Verkehr gebrachten Tabletten bestehen aus Orthonitrophenylpropiolsäure und Natriumkarbonat. Die Anwendung dieses Reagenses stammt von Hoppe-Seyler.

Prinzip.

Es werden zwei Moleküle der Orthonitrophenylpropiolsäure bei Gegenwart von Alkali und Traubenzucker unter Bildung von Kohlensäure zu Indigo verwandelt.

Ausführung.

Nach F. v. Gebhardt[2]) nimmt man 10—15 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, verdünnt mit 10 ccm Wasser, setzt die Tablette zu und erwärmt 2—4 Minuten

[1]) Liebigs Annal. **109.** 109.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1901. Nr. 1.

lang vorsichtig (mäßiges Kochen). Bei Vorhandensein von Zucker wird die Flüssigkeit zuerst grünlich, dann dunkelindigoblau gefärbt.

Beurteilung.

Das Reagens muß immer im Überschuß 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.

Andere normale und pathologische Harnbestandteile (Harnsäure, Kreatinin, Glykuronsäure, Gallenfarbstoffe, Rheum, Senna, Jod, Salicyl) sollen die Reaktion nicht hervorbringen.

Empfindlichkeit bis 0,025 % Zuckergehalt.

Zu erwähnen sind noch: Die Probe mit Methylenblau (mit Kalilauge stark alkalisch gemachte konz. Methylenblaulösung) von A. Fröhlich.

Der erst mit Bleiacetat, dann Bleiessig behandelte Harn wird mit gleichen Teilen des Reagens zum Kochen erhitzt. Ist Zucker vorhanden, dann erfolgt Entfärbung.

Ferner die von der Chem. Fabrik in Helfenberg gefertigten Reagenspapiere zum Zuckernachweis; die Gebrauchsanweisung findet sich dem Etui beigegeben.

Wahl der Methoden.

Man stellt zuerst die Trommersche Probe am besten mit Fehlingscher Lösung, dann die von Nylander modifizierte Wismutprobe an; erhält man starke Reaktionen, die die Anwesenheit von Zucker unzweifelhaft ergeben, dann genügen diese Proben; in nicht ganz klaren Fällen wird man noch die Phenylhydrazinprobe, vor allem aber die Gärprobe zu Rate ziehen. Die Resultate der letzteren helfen über alle Zweifel hinweg; das Vorhandensein oder das Fehlen von Zucker wird im Harn dadurch mit 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.

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

Bei Vorhandensein von Zucker vergesse man nicht, den Harn noch auf Aceton, Acetessigsäure (Ammoniak, Oxalsäure) 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 Bestimmung gestattet.

Eine sehr rasche, einfache und auch eine genaue quantitative 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 die Resultate auszuüben vermögen; hierüber findet sich bei der Beurteilung dieser Methode (S. 226) das weitere mitgeteilt.

Sehr sicher und auch einfach ist die Bestimmung des Zuckers vermittelst der Gärung, seitdem wir mit dem von Lohnstein konstruierten Apparat den Zucker im Harn mit Leichtigkeit, Einfachheit und Sicherheit nachweisen können.

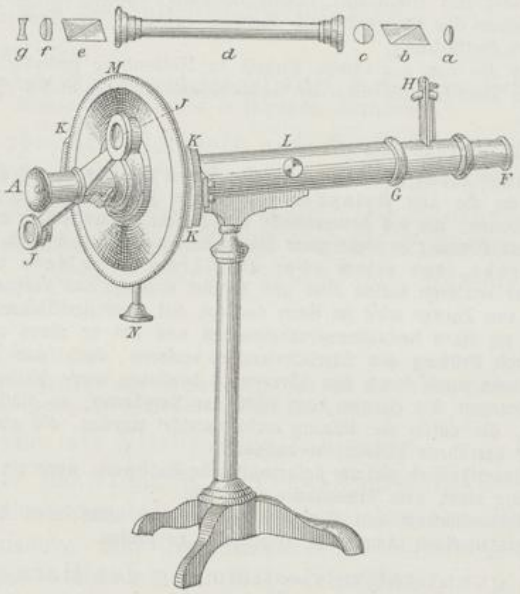


Fig. 32.

1. Bestimmung durch Polarisation.

Zur Vornahme der Prüfung durch Polarisation bedient man sich jetzt meistens der Halbschattenapparate (Laurentscher Apparat, Schmidt & Haensch), wohl auch des Wildschen Polaristrobometers, des Apparates von Soleil-Ventzke, Landolt-Lippich, des Spektropolarimeters von E. v. Fleischl, auch des Polarisationssaccharometers nach Ultzmann.

a) Der Laurentsche Apparat (Fig. 32).

Die Lichtstrahlen einer Natriumflamme[1]), die im Brenner durch Kochsalz oder Soda, das man in das verschiebbare Löffelchen aus Platindrahtnetz gibt, erzeugt wird, gehen zuerst durch ein Diaphragma, das noch mit einer geschliffenen Platte von Kaliumdichromat (*a*) bedeckt ist, um die gelben Strahlen des Natriumlichtes von dem andersfarbigen Lichte (den grünen, roten, blauen, violetten Strahlen) zu reinigen, durch eine Sammellinse, welche die Strahlen parallel macht, und gelangen dann in den Polarisator (polarisierenden Nicol) (*b*), ein kombiniertes doppelt brechendes Kalkspatprisma, welches nur den außerordentlichen Strahl durchläßt und geradlinig polarisiert. Diese Teile befinden sich in der Messinghülse *G*—*F*; das polarisierende Nikol läßt sich mittels des Armes *H* um einen Winkel von 20° drehen; man stellt ihn aber so, daß der Arm *H* stets auf 0 in der Mitte steht.

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

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

Beim Aufeinanderstellen der Nullpunkte von Nonius und Skala, was mittels der Schraube (Triebknopf) *N* erreicht wird, erscheinen beide Hälften des Gesichtsfeldes gleich hell; man muß deutlich den vertikalen Strich sehen; eventuell stellt man den Apparat auf ganz gleiche Helligkeit des Gesichtsfeldes ein und liest an der Skala die Drehung ab, die man bei der Ausführung der Bestimmung dann in Rechnung zu ziehen hat. Erscheint der Strich undeutlich, verschwommen, so stellt man durch Vor- oder Rückwärtsschieben des Okulars *A* die nötige Helligkeit bezw. 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 (Fig. 32 *d*) — 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, wenn das rechte Gesichtsfeld im Apparate dunkel erscheint, der Körper linksdrehend, wenn das linke Gesichtsfeld verdunkelt ist, rechtsdrehend. Man muß dann also mittels der Schraube *N* Analysator und Kreisscheibe nach links drehen (linksdrehende Substanz, linksdrehender Zucker), nach rechts bei rechtsdrehendem. Ist Harnzucker im Harne vorhanden, so wird also das linke Gesichtsfeld verdunkelt erscheinen.

---

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

Bei der Bestimmung des Zuckergehaltes im Harne dreht man nach Einlegen des mit dem vorbereiteten Harne beschickten Rohres mit der Schraube N so lange das analysierende Nikol und die Kreisscheibe nach rechts, bis die beiden Hälften des Gesichtsfeldes hell sind, was man mit einiger Übung haarscharf erzielt. Enthält die Flüssigkeit in der Röhre keinen Zucker, dann wird keine Verdunkelung einer der beiden Hälften des Gesichtsfeldes eintreten, sondern beide werden gleich hell sein. Bei einer Drehung liest man mit der Lupe den Stand des Kreises gegen den Nonius ab, der bei dem Halbschattenapparate noch die Ablesung einer Minute oder $^1/_{60}$ Grad gestattet; der Nonius ist mit 30 Teilstrichen versehen, die einem halben Grade der Skala des Kreises entsprechen. Man zählt vom Nullpunkte der Kreisskala bis zum Nullpunkte des Nonius die ganzen und halben Grade auf der Kreisskala ab; da nun gewöhnlich der weitere Grad nicht voll ist, so sucht man, vom Nullpunkte des Nonius anfangend, denjenigen Teilstrich des Nonius auf, der mit einem Teilstrich an der Kreisskala genau zusammenfällt, zählt die Striche vom Nullpunkte des Nonius bis zu diesem Strich an der Kreisskala und zählt diese Teilstriche, von dem jeder eine Minute oder $^1/_{60}$ Grad ausmacht, zu den an der Skala abgelesenen ganzen und halben Graden.

Ein Beispiel mag dies anschaulicher machen.

Im vorliegenden Falle (Fig. 33) ist eine Rechtsdrehung vorhanden. Vom Nullpunkte des Kreisgrades bis zum Nullpunkte des Nonius zählt man erst einen und einen halben Grad; da der Noniusnullpunkt noch etwas über dem halben Grade liegt, zwischen $1^1/_2$ und 2 Grad, so sucht man den Teilstrich

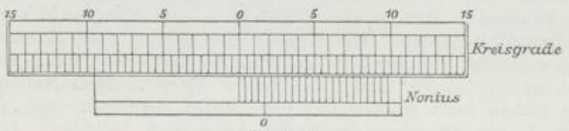


Fig. 33.

an dem Nonius, der mit einem Grade an der Kreisskala genau zusammenfällt; es ist dies der Noniusteilstrich 4; es sind nunmehr noch vier Minuten hinzuzuzählen, so daß die Ablenkung $1^0\,30' + 0{,}4 = 1^0\,34'$ oder auf Grade berechnet $1{,}56^0$ beträgt.

b) Halbschattenapparat mit Keilkompensation (Schmidt und Haensch).

Gegenwärtig verwendet man zweckmäßig und mit sehr gutem Erfolge einen Apparat mit Keilkompensation, der auch mit einer Petroleumlampe beleuchtet werden kann, die 2—3 cm vom Apparate entfernt aufgestellt wird. Mit diesem Apparate (Fig. 34) kann der Traubenzuckergehalt 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, welche 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 vermittelst des scharf eingestellten Fernrohres 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 mittels des dem Apparate beigegebenen Vierkantenschlüssels, 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.

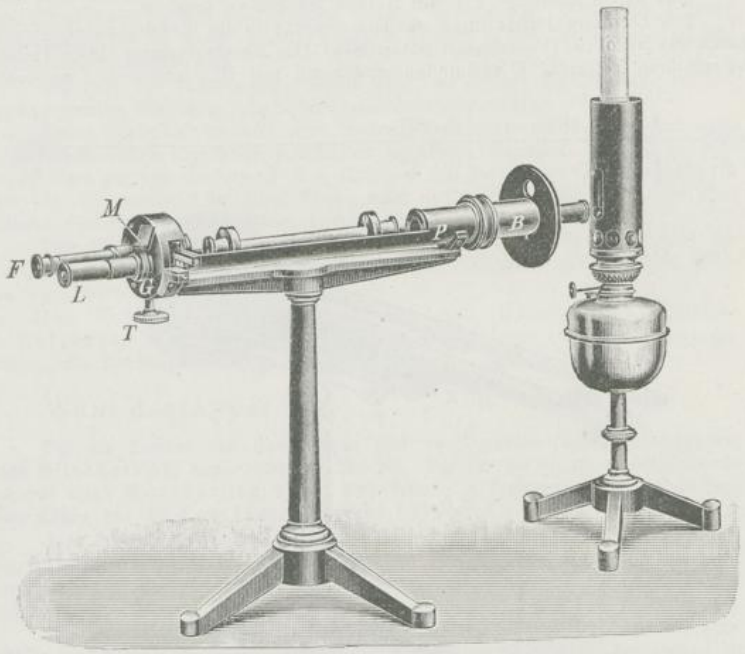


Fig. 34.
Polarisationsapparat mit Keilkompensation.

Die Ablesung der Ablenkung erfolgt in etwas anderer Weise, wie bei 1. Die Skala ist hier 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. 35 sind

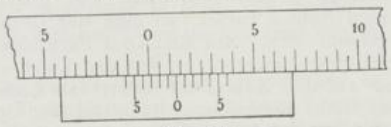


Fig. 35.
Teilung beim Polarisationsapparat mit Keilkompensation.

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 Noniusteil-

striche der Fall ist; es sind somit zu den zwei halben = einem ganzen Grade noch 0,3° hinzuzuzählen, so daß die Ablenkung 1,3° beträgt, entspr. 1,3 % Zucker.

Bei Linksdrehung, z. B. Eiweiß tritt der linke Nonius in Wirksamkeit.

c) Das Wildsche Polaristrobometer.

Aus der Abbildung (Fig. 36) ist das Nähere zu ersehen.

Der Lichtstrahl tritt durch ein Diaphragma in die Blendröhre und wird durch das Nikol (*a*) (Polarisator) polarisiert. Die Messingfassung dieses Teiles ist mit dem Teilkreis *E* verbunden und kann mit ihm zusammen an dem

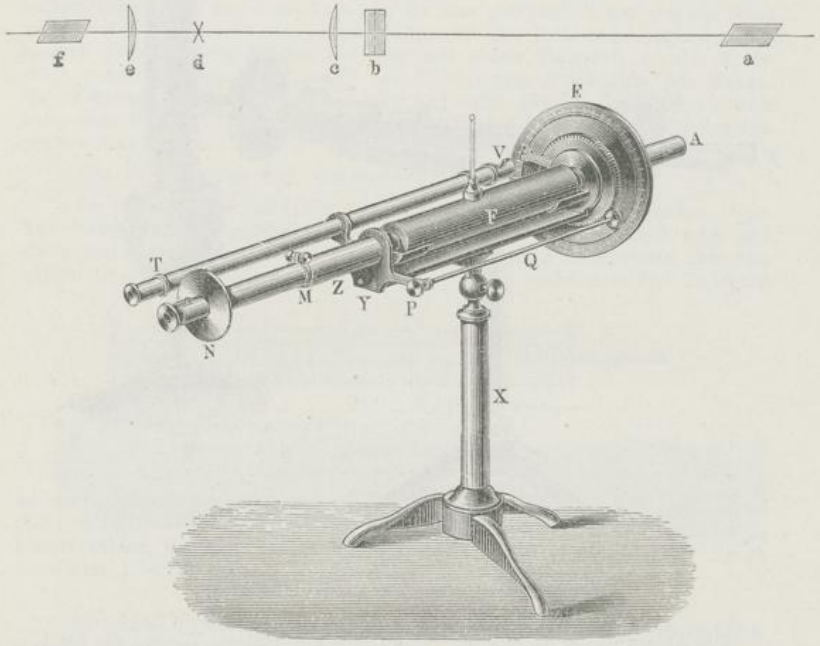


Fig. 36.

Knopfe *P* der Triebstange *Q* gedreht werden. Der Teilkreis gleitet hierbei an einem feststehenden Nonius vorbei, an dem der Drehungswinkel durch das Fernrohr *T* abgelesen wird. Am Ende des Fernrohres *T* ist bei *V* ein schief gestellter Metallspiegel angebracht, der das Licht einer geeignet aufgestellten Gasflamme auf den Nonius reflektiert; als Lichtquelle dient hier eine Natriumflamme. Die polarisierten Lichtstrahlen durchlaufen die in dem Lager *F* liegende Flüssigkeitsrröhre und treten in den feststehenden Okularteil; dieser enthält bei (*b*) ein Savartsches Polariskop, eine Savartsche Doppelplatte, die aus zwei Quarz- oder Kalkspatplatten besteht, die unter 45° zur optischen Achse geschnitten sind und deren Hauptschnitte senkrecht aufeinander stehen. In dem Fernrohre *N*, das zwei schwach vergrößernde Linsen (*c* und *e*) enthält, befindet sich ein rundes, mit X-förmigem Fadenkreuz versehenes Diaphragma (*d*). Hinter dem Fernrohre ist der feststehende Analysator, das Nicolsche Prisma (*f*) angebracht. Durch

die Savartsche Vorrichtung entstehen dunkle Streifen im Gesichstfelde, die beim Drehen des Polarisators mittels *P* in vier je um 90° auseinanderliegenden Stellungen verschwinden; dies wird als Nullstellung benutzt und zwar stellt man, da die Streifen nie vollständig verschwinden, auf ihr Verschwinden in der Mitte des Gesichtsfeldes, also in der Nähe des Kreuzungspunktes der Fäden des Fadenkreuzes ein. Man dreht die Kreisscheibe mit dem polarisierenden Nikol an dem Kopfe *P* nach Einlegen der Röhre mit der Flüssigkeit, wobei die Streifen wieder erscheinen, wenn die Lösung zuckerhaltig ist, so lange, bis die Streifen wieder in der Mitte des Gesichtsfeldes verschwunden sind.

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

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

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

Das Polarisationssaccharimeter von Ultzmann (Verfertiger C. Reichert, Wien), an jedem größeren Mikroskope zu gebrauchen, gestattet, die Zuckerprozente direkt abzulesen.

Wahl des Apparates.

Für die Zwecke der Harnanalyse gibt es Apparate (Halbschattenapparat nach Mitscherlich) zum Preise von 150 Mk. Der für die Praxis zu empfehlende Apparat nach Mitscherlich besitzt eine Teilung in Kreisgrade; bei Anwendung einer Röhre von 189,4 mm Länge entspricht 1 Kreisgrad genau 1% Traubenzucker.

Sehr genaue Ablesungen erreicht man mit einem Apparat nach Laurent oder Lippich; letzterer in seiner Konstruktion dem Laurentschen ähnlich, wird nach Schmidt und Haensch jetzt ausschließlich an Stelle der Laurentschen angefertigt und kostet komplett 400 Mk.

Sehr brauchbar ist der unter b beschriebene Apparat mit Lampe für Gasglühlicht oder für Petroleum im Preise zu 315 Mk., in einfacherer Ausführung zu 269 Mk. komplett.

Die Halbschattenapparate sind den Farbenapparaten mit Einstellung auf gleiche Färbung schon aus dem Grunde vorzuziehen, weil die Einstellung bei ersteren eine einfachere und sichere ist.

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

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

1. **Der Harn muß vollkommen hell sein; trüber und gefärbter Harn kann keine Verwendung finden. Ich hatte früher empfohlen, den Harn für die Verwendung behufs 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 behandeln will, auch muß nach diesem Zusatz noch schwach saure Reaktion zu konstatieren sein, eventuell ist Zusatz von Essigsäure 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 Natriumphosphat-**

lösung zu, füllt bis 50 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und polarisiert das Filtrat im 200 mm-Rohr. Die abgelesene Drehung ist zu verdoppeln.

C. Patéin und E. Dufau[1]) haben gefunden, daß das Ausfällen mit Bleiessig nicht in allen Fällen genügt; ich kann diese Tatsache bestätigen und möchte vorschlagen, sich der von den Genannten empfohlenen Arbeitsweise zu bedienen. 50 ccm Harn werden mit soviel der Quecksilbernitratlösung (200 g saures Quecksilbernitrat werden mit 500 bis 600 ccm Wasser gelöst, soviel Natronlauge zugemischt, bis eben ein schwacher Niederschlag entsteht und dann zu 1 Liter aufgefüllt oder 220 g gelbes Quecksilberoxyd werden in 300—400 g Wasser und der gerade genügenden Menge Salpetersäure gelöst, einige Tropfen Natronlauge bis zum Erscheinen eines gelbbraunen Niederschlags hinzugefügt, bis zu 1 Liter aufgefüllt und filtriert) versetzt, bis durch dieselbe 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 % Natriumhypophosphitlösung abgeschieden werden. 50 ccm der dann gewonnenen klaren Flüssigkeit werden polarisiert, andere 50 ccm können zur titrimetrischen Bestimmung verwendet werden. Bei letztgenannter Bestimmung darf aber kein Natriumhypophosphit zugesetzt werden; übrigens genieren Spuren von Quecksilber nicht im geringsten.

Das Filtrat wird in die 100 oder 200 mm (bezw. 94,7 oder 189,4 mm) langen Glasröhren mit abgeschliffenen Enden, die mit Glasplatten und auf das Rohr aufschraubbaren Kappen verschlossen werden, gefüllt (S. 218, Fig. 32). 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. Die Polarisation nimmt man am besten bei 15—17° vor.

Tierkohle empfiehlt sich wegen einer möglicherweise stattfindenden Absorption von Zucker zur Entfärbung des Harnes nicht.

2. Der Harn muß ganz frei sein von Eiweiß, da dasselbe links dreht; dieses muß erst durch Kochen entfernt und der Harn mit Wasser auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden, doch genügt die Ausfällung nach Dufau und Patéin.

Ausführung der Polarisation.

Dieselbe ist eine einfache und ist bereits bei der Erklärung des Laurentschen Apparates mitgeteilt. Man stellt erst den Apparat genau ein, — gewöhnlich steht er auf 0 ein — gibt dann die Röhre mit dem zu prüfenden und wie angegeben vorbereiteten Harn in den Apparat und dreht, bis die auf der einen Seite beobachtete dunklere Färbung des Gesichtsfeldes vollkommen verschwunden und das Gesichtsfeld gleich hell ist. Man liest, wie angegeben, ab und berechnet in folgender Weise:

[1]) Journ. Pharm. et Chim. **10.** 433. Les nouv. remèdes. 1902. 229.

Die spez. Drehung des Traubenzuckers beträgt 52,74°; es entspricht somit die Drehung von 52,74° = 100 g Zucker in 100 g. Bei der Bestimmung im Harn kann man eine Drehung von 53° annehmen.

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

p = Zucker in Grammen in 100 ccm Lösung,
a = die abgelesene Abenkung,
l = Länge des Beobachtungsrohres.

Betrug z. B. im 200 mm-Rohr die Ablenkung 1,1°, so enthält die polarisierte Lösung $\frac{1{,}1 \times 100}{53 \times 2} = 1{,}035\ \%$ Zucker.

Bei der Berechnung haben wir aber die durch die Behandlung mit dem Fällungsmittel bedingte Verdünnung zu berücksichtigen (nach der Angabe ist der Harn doppelt verdünnt) und weiter noch in Betracht zu ziehen, ob man 50 ccm des Filtrates von der Quecksilberfällung eventuell noch mit etwas Natriumhypophosphitlösung behandelt und auf 55 ccm aufgefüllt hat. In dem letzteren Falle müßte dem erhaltenen Resultate noch $^1/_{10}$ der berechneten 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 und wenn nicht im 220 mm-Rohr polarisiert wurde, noch $^1/_{10}$ des berechneten Zuckergehaltes zuzuzählen, im Falle die 50 ccm Filtrat wie angegeben behandelt und zu 55 ccm aufgefüllt worden sein sollten.

Im angeführten Beispiel würde der Zuckergehalt 1,035 . 2 = 2,072 % betragen.

Zur genauen Ermittelung der Gewichtsprozente wird die wie vorstehend gefundene Grammzahl durch das spez. Gewicht des Harnes dividiert.

Um jede Berechnung bei Verwendung des Laurentschen Halbschattenapparates zu vermeiden, hat die Firma Schmidt & Haensch 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 ja hier infolge der Quarzkeilkompensation die Zuckerprozente abgelesen werden können. Bei Verwendung der 100 mm-Röhre ist selbstredend der gefundene Prozentgehalt zu verdoppeln, bei Verwendung der 50 mm-Röhre ist er mit 4 zu multiplizieren.

Bei Anwendung des Wildschen Polaristrobometers ergibt sich die in 100 ccm Harn enthaltene Zuckermenge in Grammen nach der Formel:

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

1,8868 = Drehungskonstante des Harnzuckers,
L = Länge des Beobachtungsrohres,
a = gefundener Drehungswinkel.

Beurteilung.

Die Prüfung mit dem Polarisationsapparate ist, ein gutes Instrument vorausgesetzt, als eine recht genaue Methode zu bezeichnen; zudem erfordert dieselbe auch nur eine äußerst kurze Zeit.

Fehler dieser Methode können veranlaßt werden durch die Anwesenheit von Eiweiß, Glykuronsäure, β-Oxybuttersäure, Lävulose, Laiose, Milchzucker im Harne.

Eiweiß ist leicht zu entfernen; Glykuronsäure und β-Oxybuttersäure drehen links, vergären aber nicht, so daß hier eine Polarisation vor und nach der Vergärung des Harnes zum Ziele führt; übrigens werden Glykuronsäure, β-Oxybuttersäure und Eiweiß durch die geschilderte Vorbereitung entfernt.

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

Die Lävulose kommt selten 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.

2. Bestimmung des Zuckers durch Gärung.

Prinzip.

Durch Hefe wird bekanntlich eine Dextroselösung in Äthylalkohol und Kohlensäure zerlegt und zwar liefert 1 ccm einer 1 % Dextroselösung ca. 2,5 ccm CO_2 bei 760 mm Barometerdruck und bei 15° C.

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, vollkommen ausgeschlossen werden.

Die hierzu empfohlenen Apparate (Fiebig, Einhorn) waren es immer noch, die diese Methode nicht so in den Vordergrund treten ließen, da mit denselben nicht die genauen Ergebnisse gewonnen wurden, wie sie erhalten werden müssen. Eine Ausnahme machte der von R. Fleischer konstruierte Apparat, mit welchem bei richtiger Handhabung brauchbare Resultate erhalten wurden.

In den letzten Jahren hat nun Th. Lohnstein zwei Apparate konstruiert, die sich nicht nur durch eine einfache Handhabung, sondern auch vor allem dadurch auszeichnen, daß sie sehr brauchbare Resultate liefern.

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 die Methode in Bezug auf Material und Apparate eine billige ist.

a) Die Zuckerbestimmung mit dem Lohnsteinschen Apparat.

Vor der Besprechung der Ausführung der Methode mag erwähnt sein, daß Th. Lohnstein[1]) 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 konstruierte Th. Lohnstein[2]) 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 infolge davon, 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 überschüssigen Gases unter diesen Umständen äußerst schnell erfolgen muß.

Ausführung.

Man füllt die dem Apparate[3]) beigegebene Quecksilbermenge vollständig bei beiderseits offenem Rohr in den Apparat (Fig. 37), bringt mit der dem Apparate beiliegenden geaichten Spritze 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 (Hefe mit dem zehn- bis fünfzehnfachen Volumen Wasser verrieben) in den Apparat zum Urin. Nunmehr setzt man den mit dem Dichtungsmittel (gleiche Teile gelbes Wachs und Vaseline) recht gleichmäßig und vollständig befetteten 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. 37, die Skala, deren Nulllinie mit der Kuppe der Quecksilbersäule zusammenfallen muß, widrigenfalls man durch geringes Neigen des Apparates — die eventuell mit der Dichtungsmasse verklebten Löcher durchsticht man mit einer Nadel — die Quecksilbersäule in die an-

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1898. Nr. 39.
[2]) Allgem. med. Centralztg. 1899. Nr. 101; 1900. Nr. 30 ff. (Separatabdruck).
[3]) Präzisions-Gärungssaccharometer von H. Noffke & Co., Berlin S 22, Ritterstraße 120, zum Preise von 12 Mk. zu beziehen.

gegebene 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.

Auf den Stöpsel legt man zuletzt das Gewicht. Man überläßt nun den Harn im Apparate der Gärung entweder bei Zimmertemperatur oder zur Erzielung sicherer Resultate, da die Gärung, auch bei höherem Zuckergehalte, dann in 3—4 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.



Fig. 37.

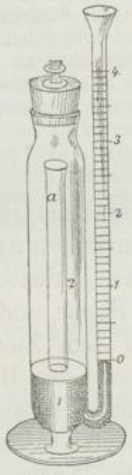


Fig. 38.

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 Skalen direkt die Zehntel-Prozente an; es lassen sich auch noch die Hundertstel-Prozente erkennen. Für die Prozentgehalte von 2 % an sind sie in halbe Prozente geteilt und kann man hier die Zuckergehalte bis auf $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ % 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. giltigen 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. giltigen Skalen und t die Temperatur, bei der der Harn in den Apparat gefüllt und auf die er abgekühlt wurde, bedeutet.

Beurteilung.

Der Apparat liefert besonders bei Vornahme der Gärung bei 35° bis 38° C. 4 Stunden lang sehr gute Resultate, ist bequem zu handhaben und leicht zu reinigen; nach Beendigung der Bestimmung saugt man 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. 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.

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. 38) 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 von dem zu untersuchenden Urin, wenn derselbe beim Kochen mit Kali- oder Natronlauge nur gelbe oder ganz schwache Braunfärbung zeigt, 10 ccm genau abgemessen, in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen gebracht und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Von diesem verdünnten Harne werden 10 ccm (= 1 ccm ursprünglicher Harn) in ein Bechergläschen abgemessen, dann wird ca. 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 vermittelst eines krumm gebogenen Trichters durch die obere Öffnung von 2 in den Raum 2 des Apparates gebracht; das Gläschen spült man mit 10 ccm Wasser nach und 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 ca. 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 soviel 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 % Zuckerlösung nach dem Zugeben von Hefe und 20 ccm Wasser in den Apparat bringen; ich verwende die oben angegebenen verdünnten Mengen, um Fehler möglichst auszuschließen.

Beurteilung.

Es ist ja nicht unrichtig, daß diese Methode umständlicher ist, daß man noch einen Kontrollapparat nötig hat und daß auch die Reinigung und Wiederinstandsetzung eine zeitraubende ist.

Die Resultate, die man mit dieser Methode erhält, sind aber auch zuverlässige. M. Brommer und ich haben Kontrollversuche von Zuckerharnen nach der Methode von Lohnstein und Fleischer vorgenommen und haben vollständig übereinstimmende Resultate gewonnen, die wiederum vermittelst eines großen empfindlichen Polarisationsapparates als richtig kontrolliert werden konnten.

c) 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 infolge ihrer zum Teil falschen Einteilung und der wechselnden Absorptionsverhältnisse der Flüssigkeit in Bezug auf Kohlensäure doch nur ein fehlerhaftes Ergebnis erzielt werden kann.

d) 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[1]) unter Berücksichtigung wesentlicher Punkte so modifiziert worden, daß dieselbe brauchbare Resultate gibt.

Erforderliche Bedingungen.

Es muß für Gleichheit der Temperaturen der Flüssigkeiten bei den spez. Gewichtsbestimmungen gesorgt bezw. ein etwaiger Temperaturunterschied berücksichtigt 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 Gewicht zu multiplizieren hat, konstant ist oder nicht. Durch eingehende Versuche hat Lohnstein gefunden, daß als Mittelwert des Faktors für Harne mit höherem Zuckergehalte 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[2]) (Gewichtsurometer), welches das spez. Gewicht noch in der vierten Dezimale zu bestimmen gestattet.

α) Modifikation 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 und von diesem Brei 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-Harngemenge wird mit dem Lohnsteinschen Präzisionsurometer das spezifische Gewicht bestimmt. Hierauf wird die Harnhefemischung in einen Kolben oder in eine Medizinflasche (von 200 ccm) gegossen, welche, um das Trocknen zu ersparen, vorher mit einigen Kubikzentimetern der Harnhefemischung 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. Gewichts gebracht und hiervon 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

$$p = \frac{v_2}{v_1} (s_1 - s_2) \times 0{,}234.$$

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1896. Nr. 6, Allgem. med. Centralztg. 1898. Nr. 58, Berichte der pharmaz. Gesellschaft 1900. 10. 334. Nach übersandtem Separatabdruck aus dem Medizinalkalender der allgem. med. Centralztg. 1901.

[2]) Gewichtsurometer zu beziehen von L. Reimann, Berlin SO, Schmidgasse 32, zum Preise von 10 Mk.

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

$$s_1 - s_2 = 12{,}2, \text{ daher } p = \frac{66}{60} \times 12{,}2 \times 0{,}234 = 3{,}14.$$

Differenzen in den Temperaturen der Flüssigkeit bei den beiden spezifischen Gewichtsbestimmungen bis zu 1° C. 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 $0{,}05 \times (t_1 - t_2)$ bezw. $0{,}07\ (t_1 - t_2)$ hinzuaddiert, je nachdem t_1 und t_2 zwischen 15 und 20° C. oder zwischen 20 und 25° C. liegen. Wäre z. B. in dem obigen Beispiel $t_1 = 18°$ C., $t_2 = 19{,}5°$ C. gewesen, so hätte man $0{,}05 \times 1{,}5 = 0{,}08$ (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[1]) (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, welche die kleinere Hefemenge an sich an dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit hervorgebracht hätte, und also von der durch die Vergärung bedingten Erniedrigung des spezifischen Gewichts 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 Gewichts des Urins (s_1).

2. Je 100 ccm des Urins werden mit 1 bezw. 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_1' und s_2'' der beiden abgegossenen Flüssigkeiten. Der Zuckergehalt p berechnet sich daraus folgendermaßen:

$$p = 0{,}229\ (s_1 - s_2' - (s_2' - s_2'')$$
$$= 0{,}229\ (s_1 + s_2'' - 2s_2')$$

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]) Nach übersandtem Separatabdruck aus Medizinalkalender 1901.

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_1' und s_2'' werden zunächst auf die Temperatur 18° C. reduziert und nehmen dadurch die Werte 1021,7 bezw. 1021,6 an. Daher ist $s_1 + s_2'' - 2s_2' = 1{,}6$ und der gesuchte Prozentgehalt $p = 1{,}6 \times 0{,}229 = 0{,}37$ %.

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.

e) Bestimmung des Harnzuckers mit Hilfe des Refraktometers.[1])

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 u. s. w.) 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. Diese Bestimmungsmethode hat lediglich wissenschaftliches Interesse; zu dem kommt noch, daß die von der Firma Zeiss in Jena hergestellten Eintauchrefraktometer 600 Mk. kosten.

Wahl der Methode.

Die Bestimmung mit dem von Lohnstein konstruierten Gärungssaccharometer in erster Linie, dann das von dem gleichen Autor verbesserte densimetrische Verfahren geben genaue Resultate.

3. Zuckerbestimmung durch Titrieren.

a) Titrieren nach Fehling.

Das Prinzip der Titration mit Fehlingscher Lösung beruht auf der bei der Trommerschen Probe angegebenen Reaktion.

Bedingungen sind:

Der Harn muß frei von Eiweiß und Schwefelwasserstoff sein; ferner muß der Harn in der Weise verdünnt werden, daß er nicht mehr als 1 % — besser weniger — Zucker enthält, wozu bemerkt sein mag, daß man im allgemeinen bei einem spezifischen Gewicht 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) auf einmal in die Fehlingsche Flüssigkeit eingetragen wird. Besonders auch für die titrimetrischen Methoden möchte ich die Verwendung des nach S. 224 vorbereiteten Harnes empfehlen.

---

[1]) Grober u. Strubell, Centralbl. inn. Med. 1900. Nr. 8, Verhandl. des Kongresses f. inn. Med.

Die Fehlingsche Lösung — Kupfersulfat und Seignettesalzlösung — wird getrennt aufbewahrt und erst beim Gebrauch 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 % Traubenzuckerlösung bestimmt und hier 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 umkristallisiert und zwischen Fließpapier trocken gepreßt, dann 12 Stunden an der Luft liegen gelassen und hiervon 34,639 g zu 500 ccm Wasser gelöst.

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

2. Traubenzuckerlösung.

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

Ausführung.

Man mißt mit einer Meßpipette oder läßt besser noch aus einer 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. 224 bei der Vorbereitung des Harnes zur Polarisation gewonnene wasserhelle Filtrat (den mit gleichem 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 den auf einem Drahtnetze befindlichen und kochenden Schaleninhalt mit der verdünnten Fehlingschen Lösung 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 Harn zunächst

5 ccm zufließen und einige Sekunden kochen und wartet dann, bis sich der Niederschlag von Kupferoxydul einigermaßen abgesetzt hat und man die Farbe der darüber stehenden Lösung erkennen kann. Ist die Lösung noch blau, so fügt man noch 1 ccm der Harnlösung zu und so fort, bis die Flüssigkeit über dem entstandenen roten Niederschlag von Kupferoxydul eben farblos geworden ist.

Man kann bei diesem Vorversuche die ungefähre Menge des zuzusetzenden Harnes erfahren. Man fährt in dem Anstellen der Versuche 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 auf einmal zur Fehlingschen Lösung zugesetzt und der Versuch schnell beendigt wird. Durch die Vorprobe kann man auch ersehen, ob der Harn zuviel verdünnt ist oder 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 Zucker (d-Glykose).

Beispiel.

Bis zur Endreaktion wurden für die angewendeten 20 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,1 Zucker) verbraucht 20 ccm von dem Harn, 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 Harnstoff stets Ammoniak entwickelt, das Kupferoxydul in Lösung hält und dann mit Ferrocyankalium reagiert.

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 Harn zugesetzt wurde.

Zur besseren Erkennung der Endreaktion verwendet Pavy[1]) eine ammoniakalische Kupferlösung, die das ausgeschiedene Kupferoxydul in Lösung hält; das Ende der Reaktion ist da, wenn die erst dunkelblaue Farbe der Lösung vollkommen farblos geworden ist. Die Lösung wird bereitet, indem 4,158 g Kupfersulfat, 10 g Mannit, 20,4 g Kalihydrat, 300 ccm Ammoniakflüssigkeit von 0,880 spezifischem Gewicht, 50 ccm Glycerin auf 1 Liter mit destilliertem Wasser aufgefüllt werden, und zwar löst man das Kupfersulfat in einem Teil des Wassers, fügt dann den Mannit und das Glyzerin hinzu und mischt diese Lösung mit der des Ätzalkali in Wasser. Endlich setzt man das Ammoniak zu und verdünnt mit Wasser zum Liter.

Titriert wird bei Luftabschluß in einem Kölbchen, das mit einem zweifach durchbohrten Kork versehen ist; in der einen Bohrung findet sich das Abflußrohr der Bürette mit dem Harn, in der anderen ein mit Bimsstein und verdünnter Säure gefülltes U-Rohr oder eine beliebige andere mit verdünnter Schwefelsäure versehene Vorlage zur Absorption des entweichenden Ammoniaks. In den Kolben bringt man 25 ccm der Lösung, das gleiche Volumen Wasser und läßt, nachdem man den Kolbeninhalt einige Zeit zum Kochen erhitzt hat, von dem Harn aus der Bürette tropfenweise zufließen, bis die Flüssigkeit gerade entfärbt ist.

25 ccm dieser Lösung = 0,015 Zucker.

Zur Gewinnung richtiger Resultate muß man die Versuchsbedingungen peinlichst einhalten und Luftzutritt ausschließen, da sich sonst die Flüssigkeit wieder blau färben würde.

b) Titrieren nach Soxhlet.[2])

Nach Soxhlet reduzieren 50 ccm unverdünnter Fehlingscher Lösung 23,75 ccm einer 1 % Traubenzuckerlösung bei einer zwei Minuten betragenden Kochdauer.

Ausführung.

Durch Vorversuche hat man den Zuckergehalt des Harnes annähernd festgestellt und eine ca. 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 und in diese ca. 23 ccm der ca. 1 % Lösung aus einer Bürette auf einmal einfließen lassen; man erhält dann genau zwei Minuten lang im Kochen. Ist die Lösung bezw. das Filtrat blau oder grünlich, so wiederholt man den Versuch mit einer größeren Menge der

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1880. **19.** 98; Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1901. 321.

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

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, in denen das eine kupferhaltig, das andere kupferfrei ist. 50 ccm Fehling = 0,2375 g Traubenzucker, 1 ccm = 0,00475 Zucker.

c) Titrieren mit dem Reischauerschen Stern.

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 Reagensgläser sich befinden.

Man bringt in jedes Glas mit einer Meßpipette oder aus einer Bürette 5 ccm der Fehlingschen Lösung, verdünnt mit 20 ccm Wasser nnd fügt je nach dem Ausfall der Vorprobe zum Inhalte die entsprechende Harnmenge aus einer Bürette. Hat man z. B. für 20 ccm Fehling ca. 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 u. s. w. des Harnes geben. Man stellt das Stativ mit dem Harn 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad und sieht nach dieser Zeit, ob und in welchem Glase Reduktion stattgefunden hat; ist z. B. in Glas IV (5,5 ccm) noch eine blaue Färbung der Flüssigkeit vorhanden, während sie in Glas III (5 ccm) verschwunden ist, so ist erwiesen, daß das Quantum Harn, welches 5 ccm Fehlingscher Lösung zu reduzieren im stande ist, zwischen 5,0—5,5 ccm liegen muß. Man wiederholt den Versuch in der Weise, daß man in Glas I zur Fehlingschen Lösung 5 ccm, in Glas II 5,1 ccm, in Glas III 5,2 ccm, in Glas IV 5,3 ccm, in Glas V 5,4 und in Glas VI 5,5 ccm von dem Harne gibt und wieder 15 Minuten erhitzt. Man erfährt dann leicht, wo die Reduktion vollkommen erfolgt ist.

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

d) Titrieren nach Knapp.[1])

Prinzip.

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

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

Erforderliche Lösung.

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

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

---

[1]) Annal. Chem. Pharm. 1870. **154.** 252.

Ausführung.

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

Man kann auch ähnlich wie bei der Phosphorsäurebestimmung verfahren; nach dem Zusatze des Harnes und erfolgtem Aufkochen nimmt man mit einem Glasstäbchen einen Tropfen heraus und bringt diesen auf einer weißen Porzellanplatte mit einem Tropfen schwach gefärbten Schwefelammoniums zusammen; an der Grenze der beiden Tropfen auf der Porzellanplatte entsteht ein brauner Niederschlag.

Endlich kann man als Indikator auch Zinnchlorürlösung, wie beim Titrieren nach Sachsse anwenden. Bei diesem Versuche sollen nach Soxhlet die 40 ccm Lösung nur 0,08 g Traubenzucker entsprechen.

Eine Wiederholung der Methode ist wie bei der Fehlingschen geboten.

40 ccm = 0,1 g Traubenzucker.

e) Titrieren nach Sachsse.

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: 500 ccm gelöst.
3. Als Indikator verwendet man eine wässerige Lösung von Zinnchlorür, die mit Natronlauge versetzt wird, bis sich der entstandene Niederschlag eben wieder löst.

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 Indikators 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.

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.

40 ccm Lösung = 0,1322 Dextrose.

f) Titrieren nach Lehmann.[1])

Prinzip.

Im Filtrate von der Kupferoxydulausscheidung wird der nicht verbrauchte Kupfergehalt titrimetrisch bestimmt; durch Zugeben von Schwefelsäure und Jodkali wird eine der Menge des vorhandenen Kupfers proportionale Menge Jod frei, die durch Natriumthiosulfat bestimmt wird.

$$2\,CuSO_4 + 4\,KJ = 2\,CuJ + J_2 + 2\,K_2SO_4$$
$$J_2 + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6\,.$$

Ausführung.

60 ccm Fehling von genau bekanntem Kupfergehalte werden mit 25 ccm der zuckerhaltigen Lösung (des vorbereiteten Harnes) 2 Minuten gekocht, die heiße Lösung durch ein doppeltes schwedisches Papier filtriert und das Filtrat durch Auswaschen auf 250 ccm gebracht. Besser bringt man den Inhalt der Kochschale samt Niederschlag in einen Meßzylinder und füllt bis 250 ccm auf. Nach dem Absitzen des Kupferoxydules pipettiert man 50 ccm der klaren Lösung ab, säuert mit Schwefelsäure an und titriert nach Zusatz von 2—3 g Jodkalium das ausgeschiedene Jod mit $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ Normalthiosulfatlösung zurück (s. S. 83). Die Stärkelösung setzt man erst zu, wenn die Lösung sehr stark hellgelb geworden ist, da dann der durch das Kupferjodür etwas beeinflußte Umschlag deutlicher hervortritt. Durch Subtraktion des Kupfergehaltes des Filtrates von dem Kupfergehalt der angewendeten Kupferlösung direkt ergibt sich die Menge des durch Zucker ausgefällten Kupfers; aus der Tabelle (S. 243) liest man die dem Cu ent-

[1]) Archiv Hyg. 1897. **30.** 267.

sprechende Zuckermenge ab. Die Kupferlösung kann man auch durch eine Traubenzuckerlösung kontrollieren.

1 ccm $^1/_{20}$ Thiosulfat = 0,00315 Cu.

Beurteilung.

Gibt brauchbare Ergebnisse.

Beurteilung der titrimetrischen Methoden.

Die Bestimmungen des Zuckers im Harn 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. Die titrimetrische Bestimmung wird nun wohl seltener in Anwendung kommen, seitdem wir das so bequeme und sichere Lohnsteinsche Verfahren besitzen. Nicht geleugnet kann werden, daß man mit einiger Übung mit den angegebenen Methoden recht brauchbare Zahlen erhält.

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 das Oxydul wird durch einfaches Glühen in Oxyd verwandelt und daraus Kupfer und Zuckergehalt berechnet.

Bedingungen.

Wie bei der Bestimmung auf titrimetrischem Wege; der Harn darf nicht mehr als 1% Traubenzucker enthalten.

Ausführung.

In die Porzellanschale mit Stiel (S. 234) 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

[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, eventuell 5—10fach, verdünnen und dann den Versuch wiederholen.

Kupferoxydul ab. Zum Filtrieren verwendet man am besten die von Soxhlet zuerst angegebenen, mit langfaserigem Asbest beschickten Filtrierröhrchen (Asbeströhrchen) (Fig. 39).

Zur Herstellung dieser zieht man ein Verbrennungsrohr von ca. 15 bis 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 dann als Unterlage für den Asbest ein kleines Platinnetzchen, darauf weichen mit Natronlauge und Salpetersäure vorher 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 ca. $1^1/_2$ cm betragen und das Wasser beim Ansaugen mit der Wasserluftpumpe mit der erwünschten Schnelligkeit durchlassen. Das mit heißem Wasser ausgewaschene Röhrchen wird mit Alkohol und Äther nachgewaschen, getrocknet, nach dem Ausglühen in den Exsikkator gebracht und gewogen. Das Röhrchen ist für den Gebrauch fertig und wird nach jedesmaliger Benutzung dadurch wieder gebrauchsfähig gemacht, daß man es mit Salpetersäure, dann mit heißem Wasser, mit Alkohol und mit Äther auswäscht und wieder trocknet. Das ausgeglühte und erkaltete Röhrchen wird vor dem jedesmaligen Gebrauche gewogen.



Fig. 39.

Beim Filtrieren setzt man mittels eines Korkes ein Trichterrohr lose auf das Röhrchen und gibt zuerst — wobei man die angegebene Vorrichtung (Fig. 39) mit der Saugpumpe verbindet und schwach saugt — etwas heißes Wasser auf das Asbestfilter und dann die Flüssigkeit mit dem Kupferoxydul; die letzten Reste desselben werden aus der Schale mit einem Federchen und heißem Wasser herausgespült, das Filter mit Inhalt mehrere Male mit heißem Wasser, darauf mit Alkohol und mit Äther nachgewaschen und etwa $^1/_4$ Stunde im Trockenschranke getrocknet. Nach dem Trocknen verbindet man mittels eines Glasröhrchens und durchbohrten Stopfens das Asbestfilter mit einem Wasserstoffentwickelungs-Apparat, dessen Gas durch Kaliumpermanganatlösung zur Entfernung vom Arsenwasserstoff, hierauf zum Zwecke des Trocknens durch Schwefelsäure geleitet wird, und leitet Wasserstoff durch das schräg nach abwärts geneigte Röhrchen. Nachdem die Luft ausgetrieben ist, erhitzt man den Asbestpfropfen mäßig, worauf die Reduktion des Kupferoxyduls zu metallischem Kupfer stattfindet; sind die auf-

tretenden Wassertropfen durch Erwärmen des Rohres entfernt, so läßt man im Wasserstoffstrom erkalten und wägt dann. Die Zunahme ist die dem Zucker entsprechende Menge Kupfer; aus dem gefundenen Gehalt an diesem findet sich in nachstehender Tabelle (nach F. Allihn) der Gehalt an Zucker.

Das Reduzieren mit Wasserstoff kann man auch umgehen und das Kupferoxydul unter Durchsaugen von Luft einfach über einer Flamme erhitzen, wodurch dieses in Kupferoxyd umgewandelt wird, was nach kurzem Glühen erreicht ist. Nach dem Erkalten im Exsikkator wägt man das Kupferoxyd. Dieses mit 0,799 multipliziert gibt die Menge met. Cu an.

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.

Wahl der Methode für die quantitative Bestimmung.

Die einfachste und die am wenigsten Zeit in Anspruch nehmende Methode ist die polarimetrische, die unter Berücksichtigung des bei dieser Bestimmung Gesagten und bei Verwendung eines guten Apparates sehr gute Resultate ergibt; zu aller Vorsicht kann man diese noch durch eine andere quantitative Methode kontrollieren.

Für die Praxis, für den praktischen Arzt, sind die Methoden mit dem Gärungssaccharometer und die densimetrische Bestimmung in der von Lohnstein modifizierten Form sehr geeignete Verfahren 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 Gärmethode den Vorteil voraus, daß sie eindeutige und einwandfreie Ergebnisse liefert, wenn man von der sehr selten im Harn vorkommenden Lävulose absieht, die überdies im gegebenen Falle klinisch der Dextrose gleich zu erachten sein wird. Siehe Arbutin.

Die titrimetrischen Bestimmungsmethoden erfordern allerdings gegenüber den eben angegebenen Verfahren mehr Zeit, unausgesetzte Tätigkeit des Untersuchenden, eine vorsichtige Herstellung und Überwachung der Lösungen und nicht zum letzten auch eine etwas geübte Hand; die durch andere reduzierende Stoffe verursachten Fehler können ausgeglichen werden, wenn man im Harne direkt und im vergohrenen Harne die Bestimmung der reduzierenden Kraft vornimmt. Die im vergohrenen Harne gefundenen und auf Zucker berechneten Werte zieht man von der direkt im Harne gefundenen Menge ab. Man bestimmt auf diese Weise dann den Zucker und die vorhandenen reduzierenden Stoffe.

Allihnsche Tabelle.

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

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

Man wird mit dem übergebenen, event. noch vorbereiteten Harne, entweder vom Tagesharne oder von dem nach einer bestimmten Mahlzeit 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 Nylandersche Probe (Nr. 3). Fallen diese Proben positiv aus, dann wird man, um keine Zeit zu verlieren, am besten sofort die Gärprobe anstellen; weiter wird man den Zucker quantitativ bestimmen oder den Harn polarisieren und daraus die vorhandene Zuckermenge berechnen. Siehe Arbutin. Da, wie erwähnt, sowohl Nahrung wie Tageszeit auf die ausgeschiedene Zuckermenge Einfluß hat, so berücksichtige man bei der Prüfung diese Tatsache.

Sind die angegebenen qualitativen Proben unsicher oder negativ ausgefallen, oder ist man selbst nicht sicher, ob die mehr oder weniger scharf eingetretenen Reaktionen nicht durch die bei den Reaktionen erwähnten fremden Stoffe herbeigeführt worden sein können, dann wird man zur Bestätigung und Sicherung des Ergebnisses die Phenylhydrazin- und Gärprobe, wie angegeben, vornehmen. Der Ausfall der letzten Probe hilft stets über eventuell bestehende Zweifel hinweg.

Beim Vorhandensein von Zucker hat man noch das spezifische Gewicht des Harnes festzustellen und schließlich auch nicht zu vergessen, auf die Gegenwart von Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure im Harne zu prüfen.

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; hat man nicht selbst Gelegenheit, diese genau zu messen, so mag man sich die Menge, die man von dem Laien mit einem Schoppen — $^1/_2$ Liter — oder Literglas abmessen läßt, mitteilen lassen. Es kommt in diesen Fällen auf einen Ausfall von 10—20 g, der bei dem vom Laien vorgenommenen primitiveren Abmessen entstehen kann, ja nicht an.

C. *Linksdrehender Zucker.*

Es wurden diabetische Harne gefunden, in welchen der durch die quantitative Bestimmung ermittelte Zuckergehalt bei weitem mehr betrug, als der durch Polarisation gefundene; daß in diesen Fällen diese Beeinflussung der polarimetrischen Bestimmung nicht durch andere Körper, als welche wir die β-Oxybuttersäure, die gepaarten Glykuronsäuren kennen, hervorgerufen wurde, wurde ermittelt; zugleich wurde festgestellt, daß diese Linksdrehung durch einen linksdrehenden Zucker, Lävulose, Fruchtzucker, bedingt ist.

Von Leo[1]) ist im diabetischen Harn ebenfalls ein linksdrehender Zucker nachgewiesen worden, der mit der Lävulose in seinen Eigenschaften und insofern nicht zusammenstimmt,

[1]) Virchows Archiv 1887. **107.** 99.

Über den klinischen Wert der Pinoffschen Lävulose-Reaktion im Urin berichten Dr. F. Fleischer und Dr. K. Takeda. Im Jahre 1905 hat Pinoff eine Methode angegeben, die es gestatten soll, Lävulose auf einfachem Wege einwandfrei zu erkennen. Mischt man 10 ccm der zu untersuchenden Zuckerlösung mit 10 ccm 4 p. c. Ammoniummolybdatlösung und 0,2 ccm Eisessig, so färbt sich die Mischung bei Anwesenheit von Lävulose nach Erhitzen im Wasserbade auf 95—98° innerhalb drei Minuten blau. Andere Zuckerarten geben diese Reaktion innerhalb der angegebenen Zeit nicht. Erforderlich ist, daß die zu untersuchende Lösung frei von Mineralsäuren ist, weil die meisten Zuckerarten Molybdänlösungen blau färben, wenn sie mit einer Mineralsäure versetzt sind. Das angegebene Mischungsverhältnis muß innegehalten und das zu untersuchende Quantum nicht zu groß genommen werden. Unter diesen Kautelen soll die Reaktion ein sicheres Mittel sein, um Lävulose auch im Gemenge mit anderen Zuckerarten einwandfrei zu erkennen.

Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen Verfasser zu dem Schlusse, daß die Pinoffsche Reaktion für den Nachweis von Lävulose im Urin nur bedingt brauchbar ist. Vor der Seliwanoffschen Resorcin-Reaktion besitzt sie den Vorzug größerer Schärfe. Sie ist aber ebensowenig wie diese eindeutig, und man wird daher für den Lävulosenachweis im Urin an der Forderung festhalten müssen, daß erst der gleichsinnige Ausfall der Reduktion, Polarisation, Gärung und der Pinoffschen oder Seliwanoffschen Reaktion für die Anwesenheit von Lävulose im Urin beweisend ist. (D. Med. Wochenschr. 1910, Nr. 36.)

ondern einen Zucker hier cherheit be- iende links- mmen eines nlich (Neu-

$_{12}O_6$.

früher von Marie und nten fanden otenz, Me- were Neur- im Harn ten. Lävu-

n, wenn der Zuckergehalt uweisen sind. inderung der t, wenn man Zucker ent- winden. mmetrischen

NH_2 ein aus-

gezeichnetes Reagens zur Erkennung und Isolierung der Ketosen; diese geben nämlich mit dieser Hydrazinbase ein Methylphenylosazon, während die Aldosen dazu nicht befähigt sind, sie liefern farblose Hydrazone, die leicht von dem intensiv gefärbten Osazon getrennt werden können.

Zur Gewinnung wird nach Neuberg der Harn im Vakuum zum dünnen Sirup unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure konzentriert und der Sirup zwei- bis dreimal mit absolutem Alkohol ausgekocht. Die filtrierten alkoholischen Auszüge werden eingedampft, der Rückstand wird mit Wasser zu einem bestimmten Volumen gelöst und in einem abgemessenen Teile der Gehalt an Lävulose titrimetrisch bestimmt. (Das Reduktionsvermögen des Traubenzuckers für Kupferoxyd verhält sich

[1]) Extr. de Bullet. et Mémoir. de la Soc. méd. des hopit. de Paris 1897; nach übersandtem Separatabdruck.

[2]) Deutsch. med. Ztg. 1897. 43.

[3]) Berl. Ber. 1902. 35. 959.

Über den klinischen Wert der Pinoffschen Lävulose-Reaktion im Urin berichten Dr. F. Fleischer und Dr. K. Takeda. Im Jahre 1905 hat Pinoff eine Methode angegeben, die es gestatten soll, Lävulose auf einfachem Wege einwandfrei zu erkennen. Mischt man 10 ccm der zu untersuchenden Zuckerlösung mit 10 ccm 4 p. c. Ammoniummolybdatlösung und 0,2 ccm Eisessig, so färbt sich die Mischung bei Anwesenheit von Lävulose nach Erhitzen im Wasserbade auf 95—98° innerhalb drei Minuten blau. Andere Zuckerarten geben diese Reaktion innerhalb der angegebenen Zeit nicht. Erforderlich ist, daß die zu untersuchende Lösung frei von Mineralsäuren ist, weil die meisten Zuckerarten Molybdänlösungen blau färben, wenn sie mit einer Mineralsäure versetzt sind. Das angegebene Mischungsverhältnis muß innegehalten und das zu untersuchende Quantum nicht zu groß genommen werden. Unter diesen Kautelen soll die Reaktion ein sicheres Mittel sein, um Lävulose auch im Gemenge mit anderen Zuckerarten einwandfrei zu erkennen.

Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen Verfasser zu dem Schlusse, daß die Pinoffsche Reaktion für den Nachweis von Lävulose im Urin nur bedingt brauchbar ist. Vor der Seliwanoffschen Resorcin-Reaktion besitzt sie den Vorzug größerer Schärfe. Sie ist aber ebensowenig wie diese eindeutig, und man wird daher für den Lävulosenachweis im Urin an der Forderung festhalten müssen, daß erst der gleichsinnige Ausfall der Reduktion, Polarisation, Gärung und der Pinoffschen oder Seliwanoffschen Reaktion für die Anwesenheit von Lävulose im Urin beweisend ist. (D. Med. Wochenschr. 1910, Nr. 36.)

benutzt werden, kommen demnach außer Acocanthera venenata, abyssinica, spectabilis, Euphorbia venenata, Strophantusarten, Dichapetalumarten, Erythrophloeumarten, Adeniumarten z. B. coetaneum in Betracht. (Berl. Klin. Wschr. 1910, Nr. 37.)

Über das wirksame Prinzip des Speergiftes der Bini berichtet P. P. Laidlaw. Verfasser konnte in der Masse, mit der die Wurfspeere sowie auch Pfeilspitzen bestrichen wurden, ein zu den Glukosiden gehörendes aktives Prinzip isolieren, das die charakteristische Kombésche Strophantinreaktion ergab und sich hinsichtlich seiner Löslichkeit sowie seiner physiologischen Eigenschaften wie dieses verhielt. (Journ. of Physiology 1910; n. Chem.-Ztg. 1910, Nr. 109.)

(Fortsetzung folgt.)

Eisenmanganlaktatsirup.

Bei der Herstellung von Eisenmanganlaktatsirup nach der Vorschrift des D. Ap.-V. bin ich verschiedentlich auf Schwierigkeiten gestoßen, und dashalb fühle ich mich veranlaßt, meine gesammelten Erfahrungen zur bequemen Darstellung zu veröffentlichen. In einem geräumigen Erlenmeyerkolben mischt man 24,0 Milchsäure mit 43,0 kochend heißem Wasser und gibt allmählich 10,0 Calciumkarbonat unter stetem Umschwenken hinzu; wenn die Kohlensäureentwicklung aufgehört hat, fügt man 22,0 Phosphorsäure bei und filtriert dann. Ebenso löst man in kochend heißem Wasser 5,0 Eisenlaktatpulver in 70,0 und

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).

Lävulose (Fruchtzucker, d-Fruktose) $C_6H_{12}O_6$.

Das Vorkommen von Lävulose im Harn wurde früher von Külz, Seegen, neuerdings von May, von P. Marie und R. Robinson[1]) konstatiert; die beiden Letztgenannten fanden die Lävulose in Fällen von Schlaflosigkeit, Impotenz, Melancholie. Bei Lävulosurie konnte Robinson schwere Neurasthenie konstatieren. Biellaz[2]) fand Lävulose im Harn eines an Rückenmarkentzündung leidenden Patienten. Lävulose findet sich auch im diabetischen Harn.

Darstellung und Nachweis.

Die Anwesenheit der linksdrehenden Zucker ist erwiesen, wenn der Harn schwächer rechts dreht, als einem quantitativ ermittelten Zuckergehalt entspricht und auch die übrigen störenden Körper nicht nachzuweisen sind.

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

Nach C. Neuberg[3]) besitzt man in den sekundären asymmetrischen Hydrazinen, besonders im Methylphenylhydrazin $\frac{C_6H_5}{CH_3}>N.NH_2$ ein ausgezeichnetes Reagens zur Erkennung und Isolierung der Ketosen; diese geben nämlich mit dieser Hydrazinbase ein Methylphenylosazon, während die Aldosen dazu nicht befähigt sind, sie liefern farblose Hydrazone, die leicht von dem intensiv gefärbten Osazon getrennt werden können.

Zur Gewinnung wird nach Neuberg der Harn im Vakuum zum dünnen Sirup unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure konzentriert und der Sirup zwei- bis dreimal mit absolutem Alkohol ausgekocht. Die filtrierten alkoholischen Auszüge werden eingedampft, der Rückstand wird mit Wasser zu einem bestimmten Volumen gelöst und in einem abgemessenen Teile der Gehalt an Lävulose titrimetrisch bestimmt. (Das Reduktionsvermögen des Traubenzuckers für Kupferoxyd verhält sich

[1]) Extr. de Bullet. et Mémoir. de la Soc. méd. des hopit. de Paris 1897; nach übersandtem Separatabdruck.

[2]) Deutsch. med. Ztg. 1897. 43.

[3]) Berl. Ber. 1902. 35. 959.

zu dem der Lävulose wie 100 : 92,08; nach Sachsse werden 16,67 Traubenzucker vertreten durch 10 Gewichtsteile Lävulose.) Dann werden zu einer Lösung von 1,8 g Lävulose in 10 ccm Wasser 4 g Methylphenylhydrazin und soviel Alkohol zugesetzt, daß eine klare Mischung entsteht; nach Zusatz von 4 ccm 50 % Essigsäure färbt sich die Flüssigkeit schwach gelb; man erhitzt noch fünf bis zehn Minuten auf dem Wasserbade und läßt dann bedeckt stehen, bis die Kristallbildung nach ca. zwei Stunden vollendet ist; durch Reiben kann die Abscheidung der Kristalle beschleunigt werden. Die gelbroten Nädelchen werden aus 10 % Alkohol umkristallisiert; die Kristalle schmelzen bei 153°. Löslich sind sie in heißem Alkohol, Aceton, Essigsäure, Chloroform, sehr leicht löslich in Pyridin. Die Substanz ist optisch aktiv; in Pyridin-Alkohol-Gemisch zeigen 0,2 g Substanz + 1° 40′.

Zur Trennung von Traubenzucker engt man die alkoholische Lösung der Zucker, die neutral und nicht zu salzarm sein muß, mit dem aus dem Zuckergehalte (auf Lävulose) berechneten Methylphenylhydrazin langsam auf dem Wasserbade ein und läßt nach dem Reiben, eventuell nach Zusatz einiger Kristalle von reinem d-Glykose-Methylphenylhydrazin, einen Tag stehen; das gebildete Traubenzuckerderivat scheidet sich aus und kann nach Zusatz von absolutem Alkohol abgesaugt werden. Aus dem mit Essigsäure versetzten Filtrat kann dann in der angegebenen Weise das Methylphenylfruktosazon dargestellt werden.

Von den anderen Zuckerarten unterscheidet sich die Lävulose durch die Reaktion von Seliwanoff[1]) (Ketosenreaktion):

1. 10 ccm Harn werden mit etwas Resorcin und 2 ccm verdünnter Salzsäure erwärmt; die Flüssigkeit färbt sich rot. Ein sich abscheidender dunkler Niederschlag löst sich in Alkohol mit sehr schön roter Farbe. Nach Miura erhält man die Reaktion sehr schön, wenn man eine Mischung von einem Vol. konz. Salzsäure und zwei Vol. Wasser mit wenig Resorcin und einer Spur von Fruchtzucker erwärmt. Nach E. Fischer tritt beim Einleiten (unter Abkühlen)

[1]) Berl. Ber. 1887. **20.** 181.

von Chlorwasserstoff in eine Lösung von Lävulose in der vierfachen Menge Wasser mit zwei Mol. Resorcin zuerst eine Rosa-, dann eine Dunkelrotfärbung ein.

Tollens[1]) empfiehlt die Seliwanoffsche Probe in folgender Ausführung:

Man gibt etwas 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.

Beurteilung.

War die ursprüngliche Lösung gelb, so ist die Reaktion weniger schön und bei vorhandener starker Trübung kann sie verdeckt werden. Dextrosen, Galaktosen, Pentosen geben die Reaktion nicht.

2. Kocht man Lävulose mit konz. alkoholischer Lösung von Diphenylamin und etwas Salzsäure, so färbt sich die Flüssigkeit gelbgrün, dann dunkelblau (Ihl und Pechmann).

Eigenschaften.

Die Lävulose kristallisiert nur aus reinen Lösungen, außerdem bleibt sie amorph; in Wasser, Alkohol ist die Lävulose leicht löslich; sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; die Drehung ist aber keine konstante und von Konzentration, Temperatur und anderen Umständen abhängig; bei 20° dreht z. B. eine 10%ige Lösung: $[\alpha]D = -90{,}716$, eine 20%ige $-93{,}299$. 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. — Durch Hefe wird die Lävulose vergoren; mit salzsaurem Phenylhydrazin gibt sie ein Phenylglykosazon.

D. *Milchzucker.* Laktose. $C_{12}H_{12}O_{11}$.

Der Milchzucker kommt nach Untersuchungen von Hofmeister und Fehling nur im Harn von Wöchnerinnen vor

[1]) Zeitschr. anal. Chem. 1901. **40.** 559.

bei Milchstauung, wodurch eine Resorption des Zuckers aus der Drüse in die Säftemasse erfolgt (Laktosurie). 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, Laktosurie, 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.

F. A. Lemaire[1]) fand im Harn der Wöchnerinnen Milchzucker, in dem Harn der gleichen Frauen vor der Entbindung keinen.

Darstellung.

1. Nach Hoffmeister[2]) wird der Harn (500—1000 ccm) mit neutralem Bleiacetat versetzt, solange eine Fällung eintritt, filtriert, der Niederschlag 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 durch Durchsaugen eines Luftstromes entfernt und mit frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt. Man filtriert, behandelt das Filtrat zur Entfernung des Silbers wieder mit Schwefelwasserstoff, filtriert nochmals und dampft das Filtrat nach Zusatz von kohlensaurem Baryt zur Bindung etwa vorhandener Essigsäure soweit ein, daß noch kein sirupartiger Rückstand entsteht, der mit soviel 90 % Alkohol versetzt wird, bis ein flockiger Niederschlag sich bildet, der aber keine optisch wirkende Substanz enthalten darf.

Das alkoholische Filtrat setzt beim Eintrocknen im Exsikkator Kristalle ab, die durch Umkristallisieren, Ent-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1895/96. **21.** 442.
[2]) Ebenda. 1877. **1.** 104—108.

färbung mit etwas Tierkohle oder durch Extraktion mit kochendem (60—70 %) Alkohol gereinigt werden.

2. Nach F. A. Lemaire kann der Milchzucker aus dem Harn zugleich mit den übrigen Kohlehydraten vermittelst der Benzoylester (S. 191) gewonnen und isoliert werden. Man verwendet 1—1½ Liter Harn. Der Benzoylester wird mit Natriumäthylat versetzt, Benzoesäure, Natriumsulfat und Alkohol entfernt (s. S. 192) und die Zuckerlösung, die einen Gehalt von ca. 1—2 % enthalten soll, widrigenfalls man einengt, mit Phenylhydrazin behandelt (S. 213). Man kocht eine Stunde im Wasserbade und filtriert heiß. Man kann für die Phenylhydrazinprobe auch den Harn nach der Behandlung mit Quecksilbernitrat (S. 224) verwenden. Zum Unterschiede von den Phenylglykosazonkristallen, die in heißem Wasser schwer löslich sind und auf dem Filter zurückbleiben, bleiben die Osazone des Milchzuckers und auch der Isomaltose, welch letztere wohl nur in solchen Spuren vorhanden sind, daß sie nicht in Betracht kommen dürften (siehe Isomaltose), im Filtrate und scheiden sich daraus erst beim Abkühlen ab. Am besten kühlt man behufs Trennung der Laktose und Glykose die heiße Lösung von der Behandlung mit Phenylhydrazin schnell ab, wodurch auch das Laktosazon sich ausscheidet. Man filtriert und wäscht den Niederschlag auf dem Filter zuerst mit kaltem und dann mit siedendem Wasser aus; das Laktosazon, in heißem Wasser 1 : 80 löslich, befindet sich im Filtrat und scheidet sich beim Erkalten aus; durch Lösen des ausgeschiedenen Laktosazons in einer möglichst kleinen Menge 50 % Acetons wird es von Spuren Glykosazon gereinigt. Das Glykosazon bleibt auf dem Filter zurück. Das Phenyllaktosazon kristallisiert in feinen zu Kugeln vereinigten Kristallnadeln, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser einen Schmelzpunkt von 200° C. zeigen.

Im allgemeinen sichern auch die Zunahme des Drehungs- und Reduktionsvermögens einer Lösung des isolierten Zuckers nach mehrstündigem Kochen mit 2—5 % Schwefelsäure, das Fehlen der Gärungsfähigkeit innerhalb zwölf Stunden, 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), sowie die Kristallform für sich, und die des Phenyllaktosazons den Nachweis des

Milchzuckers. Glykose reduziert im Gegensatz zu Laktose Barfoedsches Reagens leicht.

Zur Unterscheidung von pentosehaltigem Harn kann man die für Pentose charakteristischen Reaktionen in Anwendung ziehen.

Nachweis.

Nach Rubner färbt sich eine Lösung von Milchzucker beim 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.

G. Buchner empfiehlt folgende Ausführung:

Man versetzt in einem Reagensglase ca. 10 ccm Harn mit drei Tropfen Ammoniaklösung (0,96 spez. Gewicht) und setzt dann vier bis fünf Tropfen Bleizuckerlösung zu. Hierauf bringt man das Reagensrohr ins Wasserbad; bei Gegenwart von Glykose färbt sich der anfangs weiße Niederschlag bald fleischfarbig bis ockergelb, während bei Gegenwart von Laktose der Niederschlag rein weiß bleibt. Am sichersten ist es, den Milchzucker rein darzustellen und die Eigenschaften zu studieren.

Eigenschaften.

Der wie angegeben erhaltene Milchzucker kristallisiert in vierseitigen Prismen, verliert sein Wasser bei 130°; er löst sich in Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol und Äther. Er reduziert Metalloxyde in alkalischer Lösung, dreht die Polarisationsebene nach rechts $[\alpha]D = +52{,}5°$ für das Hydrat b. 20° C. (Hesse & Schmoeger). Mit verdünnten Säuren gekocht geht er in Traubenzucker und direkt gärungsfähige Galaktose über. Durch Salpetersäure wird der Milchzucker zu schwer löslicher Schleimsäure oxydiert; mit essigsaurem Phenylhydrazin erwärmt gibt er das näher beschriebene Phenyllaktosazon. Er unterliegt der alkoholischen Gärung durch Alkoholhefen zwar nicht; nach längerem Stehen kann aber eine Art Gärung eintreten, auch wird hierbei jedenfalls durch in der Hefe vorhandene Spaltpilze eine geringe Menge Zucker verzehrt. Durch Kefyr und besondere Hefearten, auch Spaltpilze wird der Milchzucker in Gärung versetzt.

E. *Maltose, Isomaltose.* $C_{12}H_{12}O_{11}$.

Maltose haben Le Nobel[1]), v. Ackeren[2]), Rosenheim und Flatow, sowie Lépine[3]) im Harne aufgefunden und zwar in einer 0,1—0,5 % betragenden Menge; es handelt sich bei dem Vorkommen dieser Zuckerart wahrscheinlich um eine Pankreaserkrankung.

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. 192) das Osazon her; der Stickstoffgehalt des Osazons der Maltose beträgt ca. 10 %, der des Osazons der Dextrose 15,7 %. Weiter zeigt das Maltosazon in Pyridinalkohol 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[4]) die die genannten Zucker enthaltende Lösung (der vorbereitete und eventuell konzentrierte Harn) auf je 20 ccm mit 1 ccm Phenylhydrazin (oder mit der entsprechenden Menge etwa 1,5 g salzsauren Phenylhydrazins und mit 1 g Natriumacetat) 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 Maltosazonkristalle aus. Oder man verreibt das Osazon in einem Glasmörser mit recht wenig Aceton, mit dem gleichen Vol. Wasser versetzt, und überläßt das Filtrat der Kristallisation. Maltosazon kristallisiert aus.

Das Phenylmaltosazon kristallisiert aus heißem Wasser in schönen gelben, jedoch nicht zu Aggre-

[1]) Arch. klin. Med. 1888. **43**. 285.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1889. 293.
[3]) Ebenda. 1898. 317.
[4]) Journ. Pharm. Chim. 1903, 7 Sér. **17**. 225.

gaten vereinigten Nadeln (Unterschied von Phenyllaktosazon); es löst sich in 75 Teilen heißen Wassers.

Eigenschaften.

Maltose ist in Wasser leicht, in Weingeist schwerer löslich als Traubenzucker; sie vergärt mit Hefe, dreht rechts und reduziert alkalische Kupferlösung; eine schwach essigsaure Lösung von Cupriacetat soll zum Unterschied von Traubenzucker nicht reduziert werden.

Die Isomaltose wurde von K. Baisch[1]) sowie von A. Lemaire[2]) im Harn vorgefunden.

Da die Isomaltose bei der Einwirkung sehr verdünnter Säuren schon aus dem Traubenzucker entsteht, so ist noch nicht mit aller Sicherheit erwiesen, ob dieselbe nicht erst bei der Isolierung und Darstellung aus dem vorhandenen Traubenzucker entstanden ist.

Isolierung.

Lemaire ließ die nach S. 192 gewonnene Zucker- oder Kohlehydratlösung 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 drehte nach rechts und reduzierte Fehlingsche und Nylandersche Lösung.

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 Kristallen 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.
2. Die Isomaltose gärt nicht mit Bierhefe.
3. Fehlingsche und Nylandersche Lösung wird reduziert.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **19.** 364. **20.** 248.
[2]) Ebenda. 1895. **21.** 446.

F. Tierisches Gummi $(C_6H_{10}O_5)_n + H_2O$.

Landwehr[1]) war der Erste, der die Anwesenheit eines dextrinartigen Kohlehydrates im normalen Harne durch Abscheidung der unlöslichen Kupferverbindung nachgewiesen hat. Er nannte dieses Kohlehydrat, das aus der Lösung der Kupferverbindung in wenig Salzsäure durch absoluten Alkohol als feinflockiger Niederschlag abgeschieden wurde, tierisches Gummi. Weitere Uutersuchungen von N. Wedenski[2]) und K. Baisch[3]) haben dieses Vorkommen eines dextrinartigen Körpers im Harn 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[4]) hat nun neuerdings ebenfalls dieses tierische Gummi im normalen, wie im diabetischen Harn nachweisen können.

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 Kohlehydrate mit Natriumäthylat (S. 191) 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 mit absolutem Alkohol und mit Äther die abfiltrierte Fällung gewaschen und 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.

---

[1]) Centralbl. med. Wissensch. 1885. 369.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1889. **13.** 122.
[3]) Ebenda. 1894. **19.** 339.
[4]) Centralbl. med. Wissensch. 1900. **38.** 851.

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.

G. *Glykogen. Erythrodextrin.*

Im Harne von Diabetikern, besonders nach dem Gebrauche von Karlsbader Wasser, beim Abnehmen und Verschwinden des Zuckers fanden sowohl E. Reichardt wie auch W. Leube 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 neuerdings im Harne von Diabetikern Glykogen, dessen Vorkommen im diabetischen Harne auch leichter erklärlich wird, wie das von Erythrodextrin.

Die Substanzen wurden aus Harn durch Fällen mit Alkohol, Lösung der Fällung mit Wasser und Wiederfällen mit Alkohol u. s. w. gewonnen. Siehe Nachtrag.

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 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.

25. Reduzierende Substanzen. Reduktionsvermögen des Harnes.

Außer den angegebenen Kohlehydraten enthält jeder Harn, in vermehrter Menge ein konzentrierter (z. B. Fieberharn), mehr

oder weniger reduzierende Bestandteile, welche leicht Sauerstoff aufnehmen und binden und infolge dessen auch reduzierend auf eine alkalische Kupferlösung beim Erwärmen einzuwirken vermögen.

Zu diesen Stoffen zählen die Harnsäure, das Kreatinin, Glykuronsäureverbindungen, Alkaptonsäuren, Harnfarbstoffe, dann auch die nach dem Einverleiben von verschiedenen Medikamenten (S. 210) auftretenden Substanzen.

Man hat besonders in neuerer Zeit 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.

Methoden zum Nachweise reduzierender Substanzen und Bestimmung des Reduktionsvermögens.

1. Man kann hierzu die Oxydationsmethode mit Fehlingscher, Pavyscher oder Knappscher Lösung einerseits und die Gärprobe andrerseits in Anwendung ziehen (S. 226 u. 233). Bestimmt man im Harne direkt — selbstredend darf hier der Harn nicht vorher mit Bleiessig oder Quecksilbernitrat behandelt werden, da dadurch ein Teil der reduzierenden Körper entfernt würde — nach einer der bekannten titrimetrischen Methoden aus dem Verbrauche an Kupfer oder Quecksilber 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. Oder man bestimmt im Harne den Verbrauch an Kupfer oder Quecksilber, vergärt dann 100 ccm Harn mit einem Stückchen Preßhefe einen Tag lang und wiederholt im Filtrate des vergorenen Harnes die titrimetrische Prüfung. Der für die reduzierenden Stoffe allein verbrauchte Gehalt an Cu und Hg wird auf Zucker berechnet und vom Ergebnisse im Harne direkt in Abzug gebracht.

2. 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 $KMnO_4$-Lösung drückt direkt

[1]) Compt. rend. 1899. **129.** 58.

das Reduktionsvermögen (P) des Urins aus, wenn dieser normale Konzentration besitzt, d. h. 20 g Harnstoff pro Liter enthält. Finden sich im untersuchten Harne nur m gr. Harnstoff pro Liter vor, so ist $p = 20 \cdot \frac{n}{m}$. Es ist also noch eine volumetrische Harnstoffbestimmung nötig. Nach H. Hélier gab der Harn gesunder Personen Werte von 12—15 ccm; bei dem größten Teil der chronischen Krankheiten wird dieses Reduktionsvermögen überschritten, bei gewissen akuten ist es niedriger.

3. Nach L. Niemilowicz.[1])

a) Oxydation in saurer Lösung.

Prinzip (s. auch S. 178).

Hier werden die reduzierenden Körper des Harnes mit Ausschluß der Zuckergruppe bestimmt und zwar alle Körper, welche leichter als die Harnsäure reduzieren, alle, welche diesbezüglich mit der Harnsäure gleichwertig sind, die Harnsäure selbst quantitativ und von den anderen Körpern nur teilweise diejenigen, welche der Harnsäure in Bezug auf die reduzierende Wirkung am nächsten stehen und quantitativ reichlich vorkommen. Andere Körper, auch diejenigen, welche durch Chamäleonüberschüsse leicht oxydiert werden, kommen nicht in Betracht.

Ausführung (S. 178).

Nach diesem Verfahren bestimmt man die Nettooxydationszahl (S. 181) ($NTO\,\%$ für 100 ccm Harn). Dann bestimmt man die Purinkörper nach Denigès (S. 176 u. 179) und die Xanthinkörper nach der Oxydationsfiltratmethode (S. 178) 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.[2])

Prinzip.

Hier dient auch die Harnsäure als Grenzkörper; als Oxydationsmittel wird $^1/_{50}$ N. Ferricyankaliumlösung, als Indikator das Alizarin in 0,1 % alkoholischer Lösung verwendet.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **35.** 264.
[2]) Ebenda. 1902. **36.** 165.

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 kapillar ausgezogenes Röhrchen, welches 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 dieselben 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 $^1/_{50}$ Normal-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 bezw. 6 ccm Wasser und zieht im Filtrat nur 10 bezw. 7,5 ccm der Ferricyankaliumlösung in Rechnung.) Die Berechnung der Nettooxydationszahl ($NTO\cdot$)[1] nimmt man in folgender Weise vor.

[1]) Die Zahlen aus saurer Lösung bezeichnet man mit ′, die aus alkalischer mit ·.

Von den 15 ccm der zuerst zugesetzten Ferricyankaliumlösung sind im Filtrate 12,5 ccm vorhanden, dazu kommt die zum zweitenmale zugesetzte Menge. Summa der beiden = Bruttooxydationszahl ($BTO\cdot$). Hiervon zieht man die Alizarinoxydationszahl (0,8) ab und dann ist

$$BTO\cdot - 0{,}8 \cdot \frac{6}{5} = \frac{NTO\cdot{}^{0}/_{0}}{5}.$$

$NTO\cdot{}^{0}/_{0}$ ist diejenige Menge $^{1}/_{10}$ Normal-Ferricyankaliumlösung, die nötig ist, um 100 ccm Harn mit Alizarin als Indikator auf gleiche Strecke zu oxydieren und $NTO\cdot$ ist dieselbe Zahl auf die ganze Harnmenge bezogen.

Um Harnsäurezahl ($UTO\cdot$) und Restzahl ($RTO\cdot$) zu bestimmen, muß man das Verhältnis zwischen Harnsäure und dem Ferricyankalium kennen. 1 ccm $^{1}/_{10}$-Ferricyankalium = 9,5 mg Harnsäure. Die Harnsäuremenge in Milligramm wird mit 9,5 dividiert; der Quotient ist $UTO\cdot$, die Differenz $NTO\cdot - UTO\cdot = RTO\cdot$.

Zur Bestimmung der in folgender Tabelle angegebenen Zahlen sind fünf Analysen nötig, die Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl, der Xanthinkörper nach der Oxydationsfiltratmethode, der Harnsäure durch Kombination der letzteren mit der Methode nach Denigès, der sauren NTO' Zahl und der alkalischen $NTO\cdot$. Das übrige ist Berechnung.

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 $RTO\cdot$;
13. $\frac{NTO'}{N}$
14. $\frac{NTO\cdot}{N}$

Diese Werte bezeichnet man als den kalorischen Verlust an sauren, resp. alkalischen Restkörpern samt Harnsäure im Vergleich mit dem Gesamtstickstoffe des Harnes.

Wahl der Methode.

Die unter 1. angegebene Methode wird in allen Fällen ihren Zweck erfüllen.

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

Der Inosit ist als Hexahydroxybenzol aufzufassen und ist kein Zucker. Im normalen Harn soll er in Spuren vorhanden sein, etwas reichlicher nach ganz übermäßigem Trinken; er kommt ferner vor bei Albuminurie, bei Diabetes mellitus, bei pathologischen Zuständen, bei denen eine vermehrte Harnausscheidung vorhanden ist. Man spricht dann auch von einer Inositurie.

Darstellung.

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

Man konzentriert nach Boedecker und Cooper-Lane mehrere Liter Harn, nachdem zuerst das Albumin abgeschieden ist, bis auf den vierten Teil, fällt dann mit Barytwasser aus, filtriert und versetzt das Filtrat mit soviel Bleiessig, als noch ein Niederschlag entsteht. Den Bleiessigniederschlag läßt man zwei Tage stehen, filtriert ihn dann, wäscht mit wenig Wasser aus und suspendiert den Niederschlag in Wasser, worauf er durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Man filtriert das Schwefelblei ab, wäscht es aus, dampft das Filtrat bis auf ein kleines Volumen ein und läßt an einem kühlen Ort stehen. Die nach einiger Zeit abgeschiedenen Harnsäurekristalle 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 durch einen erwärmten Trichter die heiße Lösung und läßt erkalten.

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

Nachweis.

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

Beurteilung.

Kohlehydrate geben diese Reaktion nicht. Nach Boedecker soll man den Ammoniakzusatz überhaupt unterlassen, da leicht Mißfärbung eintreten kann. Löst man den Rückstand vor der Behandlung mit Salpetersäure in wenig Wasser und gibt Strontiumacetat hinzu, so entsteht nach Seidel Violettfärbung.

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

Beurteilung.

Zucker und Eiweiß müssen entfernt sein.

Eigenschaften.

Der Inosit bildet meist blumenkohlartig gruppierte Kristalle, die an trockener Luft schnell verwittern; er löst sich in Wasser mit süßem Geschmacke und ist in starkem Alkohol und Äther unlöslich; seine Lösungen sind optisch inaktiv; er gibt mit Phenylhydrazin keine Verbindung und gärt mit Bierhefe nicht. Alkalische Kupfer- und Wismutlösung, auch Knappsche Lösung, wird nicht reduziert. Aus wässeriger Lösung wird er nicht durch neutrales, wohl aber durch basisches Bleiacetat gefällt.

27. Phenole.

Im Harne kommen regelmäßig aromatische Substanzen vor, welche einerseits unter normalen Verhältnissen bei der Darmfäulnis aus den Eiweißstoffen (durch bakterielle Zersetzung derselben) entstehen, oder Benzolderivaten der Pflanzennahrung entstammen. Im vermehrten Zustande treten diese Stoffe auf, wenn die Bedingungen für die Wirkung der Fäulnisfermente besonders günstig sind, sowohl innerhalb des Darmes, als auch

bei Fäulnisprozessen außerhalb des Darmes (z. B. bei eitrigen Geschwüren, Karzinomen u. s. w.). Diese durch die geschilderten Prozesse gebildeten Stoffe, Phenol, Kresol (Parakresol), Brenzkatechin, Indol, Skatol, kommen nicht als solche im Harne vor, da sonst der Organismus sehr bald großen Schaden nehmen müßte, denn diese Stoffe sind für denselben Gift. Die genannten Substanzen werden vielmehr vor ihrem Eintritte in den Organismus in der Leber (und Niere) unschädlich gemacht, indem sich dieselben 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 Harn als Ätherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser auf Kosten der Sulfatschwefelsäure. (S. 60.)

Wie die Schwefelsäure wirkt auch noch die Glykuronsäure, die jedenfalls aus gewissen Gewebsbestandteilen entstehen kann; 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 Schwefelsäure zerlegt. Die Bestimmung des Phenols läuft nach diesem Gesagten also mit der Bestimmung der sogenannten gepaarten Schwefelsäure parallel, so daß die Bestimmung dieser beiden zu demselben Zweck führen wird.

A. Das Phenol. $C_6H_5 . OH$.

Mit der Bezeichnung „Phenol“ ist im allgemeinen nicht das eigentliche Phenol gemeint, sondern man versteht darunter eben die Gruppen der Phenole, die zusammen vorkommen, also das Parakresol, das Brenzkatechin, das Hydrochinon, das Phenol, von denen das erstere vorherrscht.

Im Menschenharn sind nur geringe Mengen Phenol (in der Tagesmenge 0,017—0,051 g nach Munk), reichlichere nach

Pflanzennahrung vorhanden. Das Phenol stammt aus dem Darme infolge von Eiweißfäulnis; vermehrt ist deshalb das Phenol bei Stauungen des Darminhaltes, des Dünndarmes und des Dickdarmes, überhaupt bei Krankheiten, die auf vermehrter Darmfäulnis beruhen, so bei Ileus, bei jauchiger Peritonitis, bei Magenkarzinom, bei Darmtuberkulose, bei septischen Prozessen (Eiterungen), bei Empyem. Hier ist auch stets Indoxyl (Indikan) reichlich vorhanden.

Darstellung.

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

Eigenschaften.

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

Qualitativer Nachweis.

1. Neutrale Eisenchloridlösung (nicht zu großer Überschuß, vorsichtig zusetzen!) gibt mit Phenollösungen blauviolette Färbung.

Beurteilung.

Ein größerer Überschuß an Eisenchlorid, das Vorhandensein von Salzsäure beeinträchtigt die Reaktion.

2. Versetzt man Phenollösung bis zur dauernden Gelbfärbung mit Bromwasser, so entsteht ein gelblichweißer kristallinischer 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.
3. Phenol gibt die Millonsche Reaktion; man kocht eine verdünnte Phenollösung mit einem Überschuß von einer

möglichst neutralen Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd und gibt eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzu; es entsteht eine schön dunkelrote Färbung und ein ebensolcher Niederschlag.

4. Erhitzt man eine Phenollösung mit 4—5 Tropfen von Millons Reagens (s. d.) und kocht, so nimmt die Flüssigkeit nach dem Zusatze von soviel Salpetersäure, daß der Niederschlag wieder gelöst wird, eine schöne rote Färbung an. Ein größerer Überschuß an Salpetersäure ist zu vermeiden.
5. Ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf vorsichtigen Zusatz von unterchlorigsaurem Salz (Lösung von 1 Teil Chlorkalk : 20 Teilen Wasser) oder von Bromwasser schön blau.
6. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol Stickstoff.
7. Eine Phenollösung gibt mit etwas Anilin und darauf mit unterchlorigsaurem Natron oder Chlorkalklösung vermischt eine Blaufärbung (erythrokarbolsaures Natron), die durch Säuren roth, durch Alkalien wieder blau wird. (J. Jaquemin.)

Quantitative Bestimmung.

Bei der Bestimmung von Phenol wird sowohl Phenol wie auch Parakresol zusammen bestimmt.

Nach A. Koßler und E. Penny[1]).

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 Koppeschar das Phenol in Gegenwart von Kresol nicht mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden kann. Die Methode von Messinger und Vortmann läßt sich mit gutem Erfolge benutzen.

Prinzip.

Die isolierten, von störenden Stoffen befreiten Phenole, Phenol und Parakresol, werden durch unterjodigsaures Natron unter bestimmten Bedingungen in Trijodphenol bezw. Trijodkresol übergeführt; für die vollständige Überführung des Phenols in Trijodphenol ergibt sich die Gegenwart von etwas über drei Moleküle unterjodigsaurem Natron auf ein Molekül Phenol und die Gegenwart von freiem Jod (5 ccm $^1/_{10}$ N. Jod-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1893. **17.** 115.

lösung); bei der titrimetrischen Bestimmung des Kresols erhält man konstante Resultate, 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. 83.
2. $^1/_{10}$ N. Thiosulfatlösung.
3. Nitritfreie $^1/_{10}$ N. Natronlauge. S. 36.
4. Stärkelösung.

Ausführung.

500 ccm Harn oder mehr werden bei schwach alkalischer Reaktion auf dem Wasserbade auf etwa 100 ccm eingedampft, um auf diese Weise allenfalls vorhandenes Aceton, auch Ammoniak zu entfernen, da diese Stoffe ebenfalls Jod binden. Der konzentrierte Harn wird in ein passendes Destillationskölbchen übergeführt, mit soviel Schwefelsäure versetzt, daß die Flüssigkeit ca. 5% der ursprünglichen Harnmenge davon enthält, zur Verhinderung des Stoßens beim Kochen eine Platinspirale zugegeben und nun destilliert. Wenn der Kölbcheninhalt soweit abdestilliert ist, daß die Flüssigkeit heftig zu stoßen beginnt, dann verdünnt man den Rückstand im Kölbchen mit Wasser und destilliert 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 Calciumkarbonat versetzt, ordentlich durchschüttelt, bis die saure Reaktion verschwunden ist und abermals destilliert. Die einzelnen Destillate, besonders das zuerst aus den vereinigten Destillaten gewonnene, füllt man 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 $^1/_{10}$ N. Natronlauge (20 ccm) bis zur ziemlich stark alkalischen Reaktion hinzu und taucht hierauf die Flasche in ein heißes Wasserbad, in welchem man sie einige Zeit beläßt. Zur heißen Flüssigkeit läßt man dann $^1/_{10}$ N. Jodlösung zufließen und zwar 15—25 ccm mehr von dieser Lösung, als man vorher $^1/_{10}$ N. Natronlauge zugesetzt hat, verschließt des Gefäß sofort und schüttelt um. Nach dem Erkalten wird angesäuert und das freigewordene Jod in der

Flasche selbst mit $^1/_{10}$ N. Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Ebenso wird bei allen folgenden Portionen des Destillates verfahren, solange dieselben noch Jod in nennenswerter Weise binden. Wenn dies nicht mehr der Fall ist, kann die Destillation als beendigt angesehen werden. Die von den einzelnen Destillaten gebundenen Jodmengen werden addiert; die Summe repräsentiert das von beiden Phenolen zur Bildung des Trijodsubstitutionsderivates verbrauchte Jod.

1 ccm $^1/_{10}$ N. Jodlösung = 0,001 567 Phenol oder
= 0,001 8018 Kresol.

Es wird sich empfehlen, die verbrauchte Jodmenge auf Kresol zu berechnen, da unter den Harnphenolen das Parakresol vorwaltet.

Beurteilung.

C. Neuberg[1]) hat gefunden, daß Traubenzucker, Fruchtzucker bei der Destillation mit verdünnten Säuren Substanzen von aldehyd- oder ketonartiger Natur geben, die mit Jodlösung unter Bildung von Jodoform reagieren, wodurch zu hohe Phenolwerte gefunden werden. Diese Stoffe entfernt Neuberg. In einem Zwei-Literkolben wird das Destillat von der Behandlung mit Calciumkarbonat mit einer Auflösung von 1 g Ätznatron und 6 g festem Bleizucker versetzt und 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 ca. 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 Destillat nimmt man die titrimetrische Bestimmung der Phenole nach Kossler-Penny wie angegeben vor.

Im Rückstande von der Destillation, also in dem bei der Destillation im Kolben gebliebenen sauren Rückstande, befindet sich noch das Brenzkatechin und das Hydrochinon, die durch Ausschütteln mit Äther dem Rückstande entzogen und, wie bei Brenzkatechin angegeben, getrennt werden können.

B. Das Kresol. $C_6H_4.CH_3.OH$.

Dasselbe macht den Hauptbestandteil der im Harne enthaltenen Phenole aus und zwar ist es vorwiegend als Parakresol vorhanden. Es wird mit dem Phenol zugleich nachgewiesen. Zur Trennung der beiden Phenole müßten große Harnmengen verarbeitet werden; erkannt wird das Kresol neben dem Phenol

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **27.** 123.

durch Umwandlung in die Sulfosäuren, was durch Erwärmen der Phenole mit dem gleichen Gewichte konz. Schwefelsäure während einer Stunde auf dem Wasserbade erreicht wird. Werden die gebildeten Sulfosäuren mit Baryt neutralisiert, so bleibt das Barytsalz der Parasäure — der parakresolsulfosaure Baryt — in Barytwasser unlöslich, während das Barytsalz des Phenols in Barytwasser löslich ist (Baumann).

Brieger hat eine Trennung durch fraktionierte Destillation des durch Destillation gewonnenen Phenolgemisches durchgeführt.

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

Das Brenzkatechin findet sich in sehr geringen Mengen im Harn regelmäßig und kommt aus der im Pflanzenreiche weitverbreiteten Protokatechusäure, Brenzkatechinkarbonsäure; brenzkatechinreicher Harn färbt sich beim Stehen, besonders bei alkalischer Reaktion, dunkel.

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

Darstellung.

Stark mit Salzsäure angesäuerter Harn wird nach Baumann[1]) kurze Zeit zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten einige Male mit Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge befreit man durch Abdestillieren zum Teil von Äther, schüttelt sie wiederholt mit einer wässerigen Sodalösung und verdunstet den Äther. Den Ätherrückstand nimmt man mit etwa 20 ccm gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung auf, filtriert von Phenol und Parakresol ab und destilliert die Salzlösung nach dem Verdünnen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdampf solange, als flüchtige Phenole übergehen. Der Destillationsrückstand wird mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verdunstet, der zurückbleibende Sirup in Wasser gelöst und durch Bleizucker gefällt (Vermeidung eines Überschusses). Im Niederschlag ist Brenzkatechin, im Filtrat Hydrochinon. Der erstere wird mit Wasser vermischt, durch Schwefelsäure zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt; aus der Ätherlösung kristallisiert Brenzkatechin

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 8. 188.

aus, das durch Umkristallisieren aus heißem Benzol gereinigt werden kann.

Nachweis.

1. Die wässerige Lösung des Brenzkatechins gibt mit verdünnter Eisenchloridlösung versetzt eine Grünfärbung, die nach Zusatz von wenig Weinsäure und Ammoniak violett wird.
2. Alkalische Kupferlösung (Fehling), ammoniakalische Silberlösung werden reduziert.

Eigenschaften.

Kristallisiert aus Wasser und Äther in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln (Schmelzpunkt 104°); sublimiert in glänzenden Blättchen; löslich in Wasser, Äther, Alkohol, in heißem Toluol und kaltem Benzol (Unterschied von Hydrochinon). Durch essigsaures Blei wird es gefällt.

D. Hydrochinon. $C_4H_4(OH)_2$ 1,4.

Nach Gebrauch von Phenol, Benzol, sowie Hydrochinon im Harn als Ätherschwefelsäure vorhanden und nachgewiesen.

Darstellung.

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

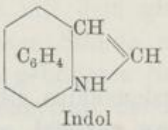
Nachweis.

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

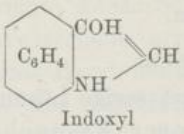
Eigenschaften.

Kristallisiert in rhombischen bei 169° schmelzenden Säulen oder Tafeln; löslich in heißem Wasser, Alkohol, Äther, heißem Toluol, sehr schwer löslich in kaltem Benzol; beim Erwärmen der wässerigen Lösung mit Eisenchlorid entsteht Chinon (penetranter Geruch). Durch essigsaures Blei wird es nicht gefällt. (Unterschied von Brenzkatechin.)

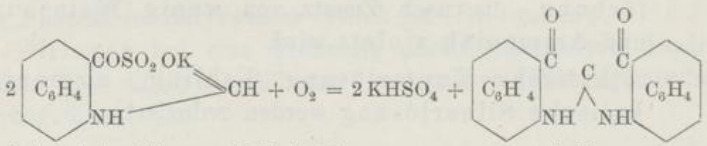
E. Indol, Indoxyl, Indikan, Indigo.



Indol



Indoxyl



Indoxylschwefelsaures Kali, Indikan — Indigo

Das Indoxyl ist das Oxydationsprodukt des Indols, das die Muttersubstanz der ganzen Indigogruppe darstellt und das bei jeder Eiweißfäulnis im Darminhalte 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, auch Glykuronsäure, zu einer Ätherschwefelsäure, zu indoxylschwefelsaurem Kali bezw. zu Indoxylglykuronsäure.

Werden diese, auch Indikan genannten Substanzen, die hier nur ausschließlich zu besprechen sind, nun mit einer Säure und einem Oxydationsmittel behandelt, so werden dieselben erstens gespalten und das freigewordene Indoxyl andrerseits zu Indigoblau (Indigo) oxydiert.

Auf dieser Eigenschaft beruht auch der Nachweis des Indoxyls, bezw. des Indikans.

Vorkommen.

Das Indikan beansprucht ein hervorragendes praktisch-klinisches Interesse, da eine vermehrte Anwesenheit auf eine abnorm gesteigerte Eiweißzersetzung im Organismus schließen läßt (Indikanurie). Jeder normale Harn enthält zwar Indikan, im Durchschnitt 0,06 in der 24stündigen Menge als Indigo in Rechnung gestellt, auch hängt dieser Gehalt von der Nahrung ab, da z. B. Fleischkost diesen Gehalt vermehrt, bei pathologischen Zuständen kann jedoch 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 Verdauungsstörungen, dann bei Darmeinklemmungen, besonders des Dünndarms, bei Peritonitis, bei allen anderen Darmkrankheiten (bei Abdominaltyphus, Cholera, Darmtuberkulose, Darmblutungen), dann aber auch bei anderen bakteriellen septischen Prozessen außerhalb des Darmes, bei Abszessen, bei Magengeschwüren, Magenkrebs, Magenerweiterung, auch bei akuten Magenkatarrhen, bei fortgeschrittener Phthise, bei fieberhaften Krankheiten (Scharlach, Erysipel, Masern). Gefunden wurde das Indikan in größerer Menge auch bei Leber-, Uteruskrebs, nach Bleikolik.

In seltenen Fällen, im faulenden Harne manchmal, findet sich das indoxylschwefelsaure Kali schon in zersetztem und oxydiertem Zustande, als Indigo vor; man sieht dieses dann als rotschillernden Überzug auf dem Harne oder in kleinen nadelförmigen, indigoblauen Kristallen 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. Brigthii, bei Magen- und Leberkrebs beobachtet wurde. Auch kleine aus Indigo bestehende Steine wurden schon entleert.

Nachweis des Indikans, qualitativer.

1. Nach Jaffé.

Man gibt zu 10 ccm Harn, der von eventuell vorhandenem Eiweiß befreit worden ist, das gleiche Volumen konz. Salzsäure und fügt dann unter Umschütteln 1—2 Tropfen kaltgesättigter Chlorkalklösung (oder $^1/_2$ % Kaliumpermanganat- oder Eisenchloridlösung) und 2—3 ccm Chloroform hinzu. Durch öfteres Umdrehen des verschlossenen Glases nimmt das Chloroform das gebildete Indigblau auf und wird hierbei mehr oder weniger gefärbt, je nach dem Gehalte des Indigos. Die Chloroformlösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen C und D.

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 Eisenchlorid zu bewerkstelligen, das auf den einmal gebildeten Indigo nicht weiter einwirkt.

Starkes Schütteln bewirkt eine öfters kaum mehr zu trennende Emulsion. Enthält der Harn Jodide, die das Chloroform violett färben, so gibt man etwas Thiosulfat nachträglich hinzu oder schüttelt die Chloroformlösung mit etwas Kalilauge. (B. Hendrix.)

Den störenden Einfluß von Urobilin kann man dadurch beseitigen, daß man den angesäuerten Harn mit Ammonsulfat sättigt und das Urobilin durch Schütteln mit Essigäther entfernt.

Wenn sich das Chloroform rötlich färbt, so soll der Harn Skatol enthalten, das klinisch gleichwertig ist; wenn die rötliche Trübung der Flüssigkeit nicht ins Chloroform geht, so ist möglicherweise Skatolkarbonsäure anwesend. Ich muß hierzu noch bemerken, daß auch Indigorot gebildet worden sein kann.

2. Die Probe nach Obermayer.[1])

Der Harn wird vor der Oxydation erst mit Bleiacetat behandelt und zwar versetzt man 20 ccm Harn mit 5—10 ccm einer 10 % Bleizuckerlösung, filtriert und schüttelt dann mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, die im Liter 2 g Eisenchlorid enthält, tüchtig durch; man wiederholt dieses Umschütteln nach dem Zusatz von 5 ccm Chloroform.

Beurteilung.

Diese Probe ist eine gute, da der Harn durch den Bleizusatz, von dem aber ein Überschuß 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 ist. Es tritt auch hier Indigorot auf. Jodide werden wie bei I angegeben beseitigt.

3. Weitere Verfahren sind von J. Amann, A. Klett, C. Strzyzowski empfohlen worden. Ersterer verwendet als Oxydationsmittel 10 % wässerige Natriumpersulfatlösung, Klett das Ammoniumpersulfat, während Strzyzowski das Filtrat des mit Bleiacetatlösung behandelten Harnes mit einem bis zwei Tropfen einer 1 % Kaliumchloratlösung versetzt. Strzyzowski behandelt 20 ccm Harn mit 5—10 ccm (je nach Konzentration, über 1,015 10 ccm, darunter 5 ccm) 10 % Bleizuckerlösung und bringt bei Anwendung der 5 ccm auf 30 ccm. Vom Filtrate werden dann 15 ccm mit einem Tropfen der 1 % $KClO_3$ Lösung, 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; eventuell gibt man noch einen bis zwei Tropfen der Kaliumchloratlösung hinzu.

Wahl der Methode.

Die Obermayersche ist wohl die beliebteste und auch sicherste Probe.

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1890. 9. 176.

Die quantitative Bestimmung des Indikans.

1. Nach E. Wang[1]).

Prinzip.

Die vorhandene Indikanmenge wird nach dem Verfahren von F. Obermayer in Indigo, dann in Indigosulfosäure übergeführt und diese letztere durch Kaliumpermanganatlösung titrimetrisch bestimmt.

Erforderliche Lösungen.

1. Das Obermayersche Reagens (konz. Salzsäure mit 2 g Eisenchlorid pro Liter Säure).
2. Von einer konzentrierten Permanganatlösung (ca. 3 g im Liter) werden beim Gebrauche 5 ccm mit 195 ccm Wasser verdünnt und diese Lösung auf eine Oxalsäure von genau bekanntem Gehalte eingestellt. Durch Multiplikation des Oxalsäurewertes der Titerlösung mit 1,04 wird die Indigomenge gefunden.

Ausführung.

Von normalen Harnen werden 300 ccm (von einem bei der Vorprobe als sehr indikanreich befundenen Harne werden kleinere Harnquantitäten, bis zu 50 oder 25 ccm abgemessen) mit 25—50 ccm einer 20% Bleizuckerlösung allmählich versetzt und vom klaren Filtrate 250 ccm in einem Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen des Obermayerschen Reagenses versetzt; 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 läßt man in einem Kölbchen absitzen, destilliert dann das Chloroform ab, trocknet den Rückstand einige Minuten auf dem Wasserbade, um alle Chloroformdämpfe zu entfernen, und gibt zu dem noch warmen Kolbeninhalte konz. Schwefelsäure. Man schüttelt vorsichtig, bis der Rückstand vollständig gelöst ist und gibt nun diese Schwefelsäurelösung zu einer größeren Menge Wasser vorsichtig hinzu, worauf man die Titrierung mit der, wie angegeben, stark verdünnten Permanganatlösung ausführt. (Eine flockige braune Ausscheidung der Lösung in Schwefelsäure filtriert man ab, wäscht das Filter mit heißem Wasser aus und titriert das Filtrat). Die Titrierung ist beendet, wenn die grünlich gewordene Färbung verschwunden und die Flüssigkeit gelblich bis ganz farblos geworden ist.

Die Indigolösung soll so weit verdünnt werden, daß sie schön blau, durchsichtig aussieht.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **25.** 406.

Beispiel.

Permanganatlösung = ca. 3 g im Liter
1 ccm = 0,00596 g Oxalsäure
„ = 0,0062 g Indigo.

Die verdünnte Permanganatlösung (5 : 195) 1 ccm = 0,00015. Der isolierte Indigo verbraucht bei der Titrierung 4,3 ccm Permanganat = 0,00065 g Indigo. Verwendet wurden 250 ccm Filtrat (vom 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.

Beurteilung.

F. Obermayer hat eine ganz ähnliche Bestimmungsmethode in Anwendung gezogen, nur hat er den Chloroformrückstand mit Alkohol von anderen, rötlichbraunen Farbstoffen gereinigt; das Gleiche tat auch Wang, der in einer späteren Arbeit[1]) vorschlägt, den Chloroformrückstand mit einer Mischung von gleichen Teilen Äther, Alkohol, Wasser auszuwaschen, den gesammelten Indigo dann erst wieder in Chloroform zu lösen und wie angegeben weiter zu behandeln.

J. Bouma[2]) hatte aber mit Recht hervorgehoben und auch nachgewiesen, daß diese verschiedenen Farbstoffe nicht erst getrennt und zum Teil entfernt werden dürften, da sie Modifikationen des Indigo darstellten; dasselbe bestätigt L. Meillard. Es ist deshalb die Indigobestimmung nach der ursprünglichen Wangschen Methode auszuführen, die ganz gute Resultate ergibt.

2. Indikanbestimmung nach J. Bouma[3]).

Prinzip.

Das im Harne vorhandene Indoxyl wird durch Isatinsalzsäure in Indigorot umgewandelt; es entsteht hier also nur ein Farbstoff (in manchen Harnen entstehen zwei Farbstoffe, während bei der Wang-Obermayerschen Probe neben dem Indigoblau in wechselnder Menge auch Indigorot und Indigobraun gebildet werden, die, wie bereits erwähnt wurde, bei der Bestimmung nach Wang-Obermayer sämtlich in Betracht zu nehmen sind.

Erforderliche Lösungen.

1. Eine Isatinsalzsäurelösung. 20 mg reinstes Isatin Merck wird in einem Liter chemisch reiner, vollkommen eisenfreier konzentrierter Salzsäure gelöst. Das Reagens muß jeden Monat frisch bereitet werden.
2. Eine Permanganatlösung; man verwendet sie — Bouma macht keine weiteren Angaben — in der Stärke, wie nach Wang.
3. Die Einstellung der Permanganatlösung erfolgt nicht durch Oxalsäurelösung, sondern mit reinem Indigorot in Lösung. Da das käuflich bezogene Indigorot mehr oder weniger andere Indigo-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 576.
[2]) Ebenda. 1899. **27.** 348.
[3]) Ebenda. 1901. **32.** 82.

modifikationen enthält, so löste Bouma dasselbe in Chloroform und spülte vom Verdampfungsrückstande der Chloroformlösung das reine Rot mit Äther ab; diese Lösung wurde vom Äther befreit, der Rückstand getrocknet, hiervon eine Menge, 5—10 mg, genau abgewogen, in konz. Schwefelsäure gelöst und nach entsprechender Verdünnung mit der Permanganatlösung titriert, wie bei der nun folgenden Ausführung angegeben ist.

Ausführung.

Den ungefähren Gehalt des Harnes an Indikan kann man vorerst mittelst Isatinsalzsäure kolorimetrisch bestimmen. Man kocht das gleiche Volumen Harn und Reagens, je 5 ccm und schüttelt mit 2 ccm Chloroform aus. Dieses färbt sich bei indikanarmem Harne leicht rosarot, bei leichter Indikanurie schön purpurrot und bei indikanreichem Harne intensiv dunkel weinrot.

Im letzteren Falle wird man kleinere Harnquantitäten, 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 urspr. 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 (— ich verfahre wie nach Wang angegeben, da Boumas Abhandlung eine genauere Angabe vermissen läßt —) 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; darnach wird die Lösung vorsichtig abgegossen, das Chloroform abdestilliert und der 2 Stunden bei 110° C. getrocknete Rückstand zur vollkommenen Entfernung des überschüssigen Isatins, da dieses auch Chamäleon verbrauchen würde, einige Male mit heißem Wasser gewaschen. Das trockene Residuum wird mit Schwefelsäure versetzt und mit Chamäleon titriert. (Ich verfahre hierbei, wie bei der Wangschen Methode angegeben).

Bezüglich der Titration bemerkt Bouma, daß bei dieser der Verdünnungsgrad von 1 Indigorotdisulfosäure : 20,000 nicht überschritten werden darf, da man sonst zu viel Chamäleon verbraucht. (Ein größerer oder geringerer Indikangehalt wird aber durch die Vorprobe schon erkannt und berücksichtigt. Spaeth.) Weiter müssen die Titrierflüssigkeiten ganz klar sein, auch muß man mit dem Filtrieren vorsichtig sein, da das Filtrierpapier Farbstoffe zurückhält (ich filtriere durch Asbest). Wenn die Flüssigkeit beim Titrieren eine braune Nüance annimmt (fein verteiltes Mangandioxyd), dann gibt man etwas starke Schwefelsäure hinzu.

Nach dieser Methode bekommt man natürlich doppelt soviel Indigrot, 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 ja mittels einer genau bekannten Indigomenge festgestellt wird.

Beurteilung.

Die Resultate nach dieser Methode stimmen mit den nach der ursprünglichen Wang-Obermayerschen Methode gewonnenen gut überein, dagegen beträgt der Gehalt an Indigo, wenn man, wie von Wang und Obermayer später vorgeschlagen wurde, den Chloroformrückstand mit Ätheralkoholwasser reinigt und die als Verunreinigungen aufgefaßten rotbraunen Farbstoffe entfernt, viel weniger, als die Hälfte.

Das nach Bouma erhaltene Indigorot verbraucht nun etwas weniger Chamäleon als synthetisches Indigorot und sublimiertes von Bayer, ein Zeichen, daß es ein reines Produkt ist. Da nun auch die Resultate nach Boumas Methode mit den der von Wang im Vorstehenden angegebenen Methode übereinstimmen, so dürfte nach meiner Ansicht bewiesen sein, daß wir die Reinigung der Chloroformrückstände mit Ätheralkoholwasser zu unterlassen haben.

Die schönen Untersuchungen von Rosenbach-Rosin, von Maillard haben uns auch gezeigt, daß als Muttersubstanz der einander isomeren Indigorot- und Indigoblaufarbstoffe die Indoxylverbindung des Harnes anzunehmen ist, die durch Spaltung mit folgender Oxydation in die zwei isomeren Substanzen übergeht. Nach Boumas Methode erhält man nur den einen, den roten Farbstoff.

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 Indikangehalte kann man die Chloroformlösung auf einem Uhrglase verdunsten und den Rückstand nach dem Trocknen bei 100° wägen.

4. Bestimmungsmethoden des Harnindikans für klinische Zwecke.

Die eben unter 1. und 2. angeführten beiden Methoden können selbstverständlich nur im Laboratorium vorgenommen werden; auch sind dieselben etwas zeitraubend. Eine klinische Bestimmungsmethode muß, um praktisch verwertbar und verwendbar zu sein, einfach, bequem, schnell ausführbar und dabei doch genau sein.

Von den vielen das gleiche Prinzip — eine kolorimetrische Bestimmung des Indikans — verfolgenden Methoden möchte ich die beiden folgenden als die den gedachten Zweck am besten erfüllenden angeben 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 mgr : 1000 ccm),

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. **29.** 299.

sogen. Testlösung, verglichen und so lange mit Chloroform verdünnt, bis die Farbe mit der der Testlösung bei der Beobachtung gegen einen weißen Hintergrund übereinstimmt.

20 ccm Harn versetzt man mit 5 ccm einer 20% Bleizuckerlösung und füllt vom Filtrate 10 ccm = 8 ccm Harn in ein Schüttelröhrchen, das unten mit einem Glashahn, oben mit Glasstöpsel verschlossen und bei 5, 10, 15, 20 und 25 ccm Inhalt graduiert ist. Zu den 10 ccm des Filtrates bringt man 10 ccm Obermayersches Reagens und 5 ccm Chloroform und dreht das Röhrchen mehrmals, auch nach einigem Stehen, um. Die Chloroformlösung läßt man ablaufen und wiederholt den Chloroformzusatz und das Ausschütteln, bis das Chloroform nicht mehr gefärbt wird. Von den Chloroformauszügen bringt man 2 ccm in ein Reagensglas von gleicher Dicke des Glases und der gleichen Größe, wie das die Kontrollösung (Testlösung) enthaltende Gläschen, und verdünnt die Chloroformlösung nun so lange mit Chloroform, bis dadurch die Farbe auf die gleiche Beschaffenheit, wie im Teströhrchen gebracht ist; man betrachtet die Lösungen gegen einen weißen Hintergrund. Die Berechnung ist eine einfache; wurden zur Ausschüttelung x, zur Verdünnung y ccm Chloroform verbraucht, so ist $x \cdot \frac{y}{2}$ der Chloroformwert, woraus die Indigomenge leicht zu berechnen ist, wobei man noch in Betracht zu ziehen hat, daß die Testlösung 0,001 chemisch reines Indigotin in 1000 ccm enthält und daß 8 ccm Harn zur Reaktion verwendet wurden.

Das Teströhrchen ist im Dunkeln zu verwahren.

b) Nach J. Bouma[1]).

Die Bestimmung beruht auf dem schon erwähnten Prinzipe. Bouma hat ein sog. Indikanurometer zusammengestellt, welches aus elf in einer Reihe geordneten Reagensröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wanddicke besteht. Sechs dieser Röhrchen enthalten eine Lösung von aus Harn bereitetem Indigorot in Chloroform von verschiedener Stärke, welche der Reihe nach übereinstimmt mit einem Gehalte des Harnes an Indigo von 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg pro Liter. Die Röhrchen sind zugeschmolzen und dienen als Vergleichlösungen; 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 Reagensröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wandstärke 10, 7,5, 5, 3,75,

[1]) Siehe oben.

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 soviel Indigorot bekommen, als dem Harnindigo entspricht, weil, wie schon erwähnt, die Hälfte des Indigomoleküls vom Isatin geliefert wird.

10 ccm Harn werden mit 2 ccm Bleiessig gefällt. Vom klaren Filtrate gibt man $5^1/_2$ ccm (= 5 ccm Harn) in ein passendes Reagensglas und fügt 10 ccm Isatinsalzsäure hinzu. Man erhitzt bis zur Siedehitze und kocht noch einige Sekunden, wonach man das Reagensglas abkühlt und den Inhalt tüchtig mit 5 ccm Chloroform ausschüttelt. 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 soviel Indikan enthält, als dem im betreffenden Gläschen vorhandenen bekannten Gehalte entspricht und wir erfahren unmittelbar die in einem Liter des untersuchten Harnes vorhandene Indikanmenge; 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 Indikan vorhanden sind.

Man kann selbstredend mit einem Teströhrchen und Verdünnen der Chloroformlösung, wie bei a angegeben, auch hier den Indikangehalt bestimmen.

Nach neueren 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, wodurch der kolorimetrische Vergleich mit der Standardlösung erschwert und ungenau wird. 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.

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1902. 28. 705.

Eigenschaften des Indols.

Das Indol kristallisiert aus heißer wässeriger Lösung, schöner aus Ligroin, in Blättchen, die bei 52° schmelzen. Leicht in heißem, schwerer in kaltem Wasser löslich. Mit hochsiedendem Ligroin im Wasserbade gelöst und mit einer Lösung von Pikrinsäure in Benzol versetzt, scheidet sich Indolpikrat in prächtigen roten Nadeln aus, aus denen beim Kochen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdämpfen (am besten nach Zusatz von etwas Ammoniak) Indol überdestilliert. Ebenso verhält sich Skatol (s. d.); nur wird beim Behandeln der Pikrate mit Natronlauge und bei der Destillation Indol zersetzt und so eine Trennung der beiden ermöglicht; übrigens läßt sich die Trennung auch so durchführen, daß man die Pikrate mit heißem Wasserdampf destilliert, wobei zuerst Skatol übergeht.

Nachweis.

1. Die wässerige Indollösung wird mit Salpetersäure und einigen Tropfen sehr verdünnter Kaliumnitritlösung (0,02) sehr schön rot (salpetersaures Nitrosoindol); der Farbstoff ist in Alkohol löslich und kristallisiert nach Ätherzusatz aus. (Skatollösung wird als weißes Nitrat gefällt.)
2. Indollösung mit Nitroprussidnatrium bis zur Gelbfärbung versetzt, wird nach tropfenweisem Zusatz von Natronlauge violett, nach vorsichtigem Zusatz von verdünnter Salzsäure oder von Eisessig schön blau (s. Skatol).
3. Ein in starke Salzsäure getauchter Fichtenspan färbt sich in wässerige Indollösung gebracht, kirschrot (s. Skatol).

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; dasselbe ist wenig beständig und scheidet bei Luftabschluß schnell und reichlich Indigo ab. In alkalischer Lösung vereinigt sich das Indoxyl mit Isatin nach Natriumkarbonatzusatz zu Indigorot (Indirubin). Beim Erwärmen von Indoxyl in konzentrierter Kalilösung mit pyroschwefelsaurem Kali erhält man das indoxylschwefelsaure Kali in blendend weißen Tafeln, in Wasser leicht,

in Alkohol schwer löslich. Schnell erhitzt, sublimiert Indigo. Indoxyl wird, bei Luftabschluss erhitzt, zu einem braunen Körper, Indoxylrot, umgewandelt.

Eigenschaften des Indigoblaus.

Das Indigoblau bildet ein dunkelblaues, amorphes Pulver oder mikroskopische Kristalle; aus dem Harne setzt es sich sogar 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 Kristallen absetzt.

Es ist unlöslich in Wasser, wenig in heißem Alkohol und Äther, leicht in Chloroform. In der Wärme ist es in fetten Ölen, Benzol, Phenol löslich. In kalter Schwefelsäure ist es auch löslich.

Durch Reduktionsmittel (Zinnchlorür, Natronlauge und Eisenvitriol u. s. w.) geht es in Indigweiß über; die Chloroform- und Schwefelsäurelösung zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*, über *D* noch hinausgehend bei konzentrierten Lösungen.

Die rote Substanz, die in Chloroform löslich ist und im Harne an der Luft unter Einwirkung von Salzsäure sich bildet, ist Indirubin; dieses entsteht nach den Untersuchungen von L. Maillard[1]) aus den Indoxylderivaten bei langsamer, das Indigoblau bei augenblicklicher Oxydation.

F. Skatol, Skatoxyl. C_9H_9NO oder $C_6H_4<\begin{matrix}C.CH_2.OH\\NH\end{matrix}>CH$.

Dieses kommt neben der Indoxylschwefelsäure vor als Skatoxylschwefelsäure und als leicht zersetzliche Skatoxylglykuronsäure, die sich ebenfalls als Produkte der Eiweißfäulnis im normalen Harne, wenn auch in geringer Menge, finden; eine Vermehrung findet unter denselben Verhältnissen, bei Erkrankungen des Dickdarmes besonders, wie beim Indoxyl statt. Skatoxyl ist nicht bekannt.

Skatoxylhaltige Harne färben sich, zumal wenn diese Verbindungen in gewissen Mengen vorhanden sind, an der Luft von der Oberfläche aus rotviolett bis schwarz; es beruht dies auf der leichten Zersetzlichkeit der Skatoxylglykuronsäure, die

[1]) Chem. Ztg. 1901. 25. 415.

Kleine jetzt gestorben. — In einer chemischen Fabrik in Taucha bei Leipzig wurde ein Giftmordversuch verübt. Dort füllte ein Arbeiter einem seiner Kollegen Zyankali in das Salzfaß. Als der Arbeiter sein Brot mit dem vermeintlichen Salz bestreute, empfand er beim Hineinbeißen einen widerlichen Geschmack und entging so dem Tode. Der Täter wurde ermittelt und verhaftet. — Mit Lysol vergiftete sich eine Frau in Bernburg, mit Kleesalz ein Lakai in Dessau. Ferner ereigneten sich in Leipzig mehrere Selbstmorde durch Vergiftung.

*

Wissenschaftliche Mitteilungen.

Eine neue Blütenschere.

Willkommen dürfte allen denen, die sich mit dem Einsammeln von Kamillen, wie überhaupt mit der Kultur von Arzneipflanzen beschäftigen, folgender Apparat sein, mittels welchen die bisher mühsame und umständliche Ernte ganz bedeutend vereinfacht wird. Ein Blechrohr mit achtzinkiger Gabel führt man den Blüten von unten her entgegen und trennt mittels der Schere, die über der Gabel vorbeigeht und mit einem leichten Druck in Bewegung gesetzt wird, die Blütenköpfchen von den Stielen. Die Blüten fallen alsdann durch das Rohr hindurch in den rücklings befindlichen Sack. Mit diesem einfachen und handlichen Apparat kann ein Kind leicht einige Kilo in der Stunde pflücken; es werden somit die bisher für die Ernte aufgewandten Unkosten ganz wesentlich reduziert. Außerdem werden die Pflanzen hierbei weniger beschädigt, als dies der Fall ist beim Abreißen der Blüten mit der Hand, wobei nicht selten Zweige abgeschlitzt, oft sogar die ganzen Pflanzen aus der Erde gezogen werden.



...es rotvioletten

...man in solchen
...ure allein eine
...e eine kirsch-
...alzsauren Harn
...erschied von In-
...; aus neutralen
...sich der frisch
...ther in Lösung
...rbstoff Skatol.
...Skatollösung in
... Benzol, bildet
...Farbe löslich.

...m besten durch
...Natronlauge; es
...at wird zersetzt,
...eht.

...nitritlösung (s. Indol)
...lösung nur eine weiß-
...Unterschied von Indol).
...tronlauge bewirken
...rst nach Kochen mit
...g ein (Legal-Sal-

...entsteht eine schöne
...d Magnanini).
...achter Fichtenspan
...ösung nicht rot; nur
...r Skatollösung ge-
...ach dem Eintauchen
...t, später violett.

...ristallisiert in Knollen
...es rote Dämpfe, mit konzentrierter Salzsäure entsteht ein amorpher roter Niederschlag. Unter Anwendung von Oxydationsmitteln aus Harn

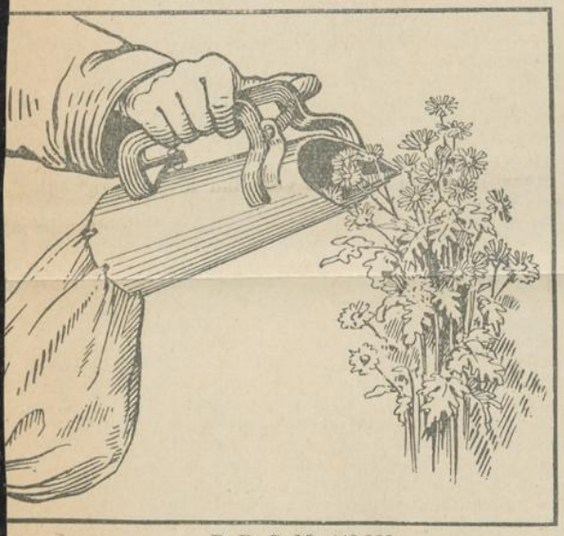
Kleine jetzt gestorben. — In einer chemischen Fabrik in Taucha bei Leipzig wurde ein Giftmordversuch verübt. Dort füllte ein Arbeiter einem seiner Kollegen Zyankali in das Salzfaß. Als der Arbeiter sein Brot mit dem vermeintlichen Salz bestreute, empfand er beim Hineinbeißen einen widerlichen Geschmack und entging so dem Tode. Der Täter wurde ermittelt und verhaftet. — Mit Lysol vergiftete sich eine Frau in Bernburg, mit Kleesalz ein Lakai in Dessau. Ferner ereigneten sich in Leipzig mehrere Selbstmorde durch Vergiftung.

*

Wissenschaftliche Mitteilungen.

Eine neue Blütenschere.

Willkommen dürfte allen denen, die sich mit dem Einsammeln von Kamillen, wie überhaupt mit der Kultur von Arzneipflanzen beschäftigen, folgender Apparat sein, mittels welchen die bisher mühsame und umständliche Ernte ganz bedeutend vereinfacht wird. Ein Blechrohr mit achtzinkiger Gabel führt man den Blüten von unten her entgegen und trennt mittels der Schere, die über der Gabel vorbeigeht und mit einem leichten Druck in Bewegung gesetzt wird, die Blütenköpfchen von den Stielen. Die Blüten fallen alsdann durch das Rohr hindurch in den rücklings befindlichen Sack. Mit diesem einfachen und handlichen Apparat kann ein Kind leicht einige Kilo in der Stunde pflücken; es werden somit die bisher für die Ernte aufgewandten Unkosten ganz wesentlich reduziert. Außerdem werden die Pflanzen hierbei weniger beschädigt, als dies der Fall ist beim Abreißen der Blüten mit der Hand, wobei nicht selten Zweige abgeschlitzt, oft sogar die ganzen Pflanzen aus der Erde gezogen werden.



D. R. G. M. 442 282.

Der Apparat ist zwar ursprünglich zur Ernte von Kamillen konstruiert, doch lassen sich damit gleich gut alle anderen in rispenartigen Blütenständen vorkommenden Blüten pflücken, wie Pyrethrum cinerariaefol., Centaur. millefol., Tanacetum usw. usw.

Schließlich sei noch erwähnt, daß dieser Apparat vorteilhaft sich verwenden läßt zum Ernten von Sämereien. Während beim Pflücken mit der Hand die dürren Samenkapseln leicht zerkrümelt werden, sodaß Same verloren geht, fallen hierbei die Samenkapseln unbeschädigt in den Sack und ist ein Verlust von Samen ausgeschlossen.

Apotheker *Th. Meyer* - Colditz i. S.

Zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Wachs.

Diese Bestimmung läßt das D. A.-B. V auf indirektem Wege mittels kleiner aus dem Wachs hergestellter Kugeln ausführen. Die Herstellung solcher Wachskugeln nach dem Wortlaut des Arzneibuches bietet mancherlei Schwierigkeiten was nicht zu verwundern ist, da die vom Glasstab abfallenden Tropfen in kalten Alkohol fallen, sich dabei etwas deformieren und plötzlich erstarren. Rasch und in vollkommener Form lassen sich diese Kugeln auf folgende Weise erhalten: Ein Glasrohr von etwa 6 mm äußerem

Wasser 15,0 gebraucht. Einige weitere Vorschriften finden sich noch in Pharm. Ztg. 1910, Nr. 91.

Nr. 567. ***Eno's Fruit Salt.*** *Wie ist die Zusammensetzung von Eno's Fruit Salt?*

Antwort. Eno's Fruit Salt besteht nach einer Mitteilung in Pharm. Ztg. 1908, Nr. 90 aus doppeltkohlensaurem Natron, Weinsteinsäure, Weinstein und Rohrzucker, nach anderen Angaben soll es auch noch Zitronensäure enthalten. In Hahn-Holfert-Arends, Spezialitäten und Geheimmittel, wird folgende Zusammensetzung angegeben: Natr. bicarbon. 168,0, Acid. tartar. 150,0, Tart. depurat. 110,0.

Nr. 568. ***Ferrolin.*** *Woraus besteht Ferrolin? Es soll ein Tierheilmittel sein.*

Nr. 569. ***Geolin.*** *Um Angabe der Zusammensetzung des Putzmittels „Geolin" wird gebeten.*

tragen, wie Herr Sparrer sich neulich so schön

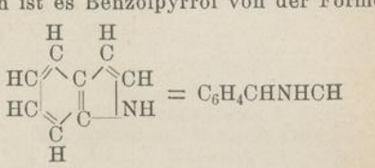
Faeces, Nachweis im Harn (Frage 472 in Nr. 34). Der Nachweis der Faeces ist nicht, wie der Fragesteller anscheinend meint, durch eine einfache Reaktion ohne weiteres zu erbringen, da diejenigen Substanzen, die im allgemeinen für chemische Reaktionen bei den menschlichen Exkrementen in Betracht kommen, auch alle im Harn, wenn auch hier meist nur pathologisch, vorkommen können. Wahrscheinlich handelt es sich doch nur um geringe Beimengungen; dann würde ich den Nachweis in folgender Weise ausführen:

Die ganze Mischung wird durch ein leinenes Tuch geseiht und die etwaigen Faecesbestandteile auf diesem besser, als auf einem Filter gesammelt. Der Niederschlag wird zunächst makroskopisch, dann mikroskopisch und chemisch geprüft.

Bei der makroskopischen Prüfung werden, wenn einzelne kleine Kotteilchen vorliegen, diese auch meist schon beim Verrühren mit einem Holzspatel auf dem Seihtuch deutlich wahrnehmbar erscheinen. Solche kleinen dunklen Teilchen werden dann auf einem Teller oder einer Glasschale aufs feinste zerrieben, mit destilliertem Wasser geschlämmt und mikroskopisch untersucht. Bei der mikroskopischen Untersuchung wird man bei normaler Ernährung und normaler Verdauung neben einigen anderen Bestandteilen vor allen Dingen Muskelfasern, Bindegewebe und die verschiedensten pflanzlichen Zellen finden. Muskelfasern und Bindegewebe findet man natürlich nur in den Exkrementen der Fleisch genießenden Menschen; man kann aber wohl annehmen, daß der Durchschnittsmensch in 24 Stunden wenigstens einmal Fleischnahrung zu sich nimmt. Um dann zu zeigen, daß die im Untersuchungsobjekt vorliegenden Bruchteile von Fleischfasern nicht von Erbrochenem oder anderswo herrühren, behandelt man die Zellen mit einer Farbstofflösung; bezeichnend ist, daß bei dem durch normalen Magen hindurchgegangenen Gewebe die Zellkerne nicht mehr gefärbt werden. Bei Menschen, die lediglich Pflanzenkost genießen, findet man im Kot natürlich mehr pflanzliche Zellen, vor allen Dingen immer etwas unverdautes Chlorophyll. Zum Vergleiche sehe man sich in der einschlägigen Literatur das mikroskopische Bild eines normalen Stuhles an. Erwähnt sei hierfür Oerum, Methodik der chemischen und mikroskopischen Untersuchungen am Krankenbette, ferner die Angaben in der Pharm. Ztg. 1908, Nr. 14, S. 142.

Für die weitere Untersuchung kommt folgendes in Betracht: An chemischen Bestandteilen zeigen sich im allgemeinen in den menschlichen Exkrementen unverdauliche und verdauliche, aber nicht zur Resorption gelangte Nahrungsstoffe; erwähnt seien folgende Bestandteile: Kohlehydrate, Fette, Eiweißstoffe, Mucin, Traubenzucker, ferner Kalk- und Magnesiaseifen, Cholesterin und das demselben nahestehende Exkretin, flüchtige Fettsäuren, wie Essig-, Butter-, Capronsäure, Gallenpigmente und zersetzte Gallensäuren, freie oder gebundene Milchsäure, Indol, Scatol, Phenol, Methylmercaptan und anorganische Stoffe. Beispielsweise wurden nach Analysen von Waldheim in 100 T. Faeces gefunden etwa 75 T. Wasser, 24 T. organische Stoffe und annähernd 1 T. anorganische Salze. In der Asche derselben fand Waldheim: Phosphorsäure bis zu 40 p. c., Kalium bis zu 19 p. c., Kalk bis zu 26 p. c., Eisen bis zu 2,5 p. c., ferner Natrium, Magnesium, Schwefelsäure, Kieselsäure, Chlornatrium. Natürlich wechselt je nach Art der Nahrung die Konsistenz, Farbe und Zusammensetzung.

Von den erwähnten Bestandteilen gehören Indol, Scatol, Phenol und Methylmercaptan zu denjenigen Körpern, die den unangenehmen Geruch verursachen. Diese können sich aber auch teilweise, wie eingangs erwähnt, im Harn zeigen; aus dem Grunde kann eben nicht allein eine einfache Reaktion für den vorliegenden Fall genügen, sondern muß der chemischen Prüfung die genaue makroskopische und mikroskopische vorhergehen. Da das Indol am sichersten anzutreffen und am einfachsten nachzuweisen ist, so seien wenigstens dessen Reaktionen erwähnt. Chemisch ist es Benzolpyrrol von der Formel:



$= C_6H_4CHNHCH$

eine schwache Base, in kaltem Wasser schwer, in heißem Wasser leicht löslich, ferner in Weingeist, Äther oder Kohlenwasserstoffen löslich. Durch salpetrige Säure wird in der wässerigen Lösung ein voluminöser, roter Niederschlag erzeugt, welcher aus kleinen Nadeln von Nitrosoindolnitrat besteht (Baeyer, Salkowski). Durch Ozon wird das in Wasser suspendierte Indol teilweise zu Indigo oxydiert. Chromsäure erzeugt in wässeriger Indollösung einen violettbraunen, in Äther, Benzol oder Chloroform unlöslichen Niederschlag (Salkowski, Nenoki). Alkoholische Indollösung färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn (Lignin) kirschrot. Sollten bei zweifelhaftem makroskopischen und mikroskopischen Befund die Indolreaktionen nur ganz schwach eintreten, man daher nur Spuren vermuten, die ja auch durch Zersetzung von Eiweißkörpern im Harn sein könnten, so müßte man kalt abfiltrierten Harn auf Indol prüfen, oder event. zur völligen Klarstellung in dem gesammelten Niederschlag das Indol quantitativ bestimmen nach dem Verfahren von Herter und Foster. (Näheres s. Apoth.-Ztg. 1908, Nr. 61.)

Wenn es sich um einen forensischen Nachweis handelt, oder um die Frage, ob durch irgend welchen Anlaß beliebige Fäkalien dem Harn untermischt sein sollten und deshalb eine serologische Prüfung nötig wäre, so sei auf die diesbezüglichen Angaben in der Pharm. Ztg. 1907, Nr. 56 oder D. Med. Ztg. 1907, Nr. 47 verwiesen.

St.

II. Faeces lassen sich im Harn folgendermaßen nachweisen: 1. Absetzenlassen des Harnes im Spitzglas, Bodensatz mikroskopisch prüfen auf Pflanzenzellen. 2. Einnehmen größerer Mengen von Carbo tiliae plv. subt. dürfte auch zum Resultate durch Augenschein führen.

Press-Lappienen.

schon durch die Luft unter Abscheidung eines rotvioletten Farbstoffes zerlegt werden kann.

Bei der Indikanprobe nach Jaffé erhält man in solchen Harnen schon bei Zusatz von starker Salzsäure allein eine dunkelrote bis violette, mit Salpetersäure eine kirschrote Färbung. Der Farbstoff läßt sich dem salzsauren Harn weder durch Chloroform noch durch Äther (Unterschied von Indigo), wohl aber durch Amylalkohol entziehen; aus neutralen oder schwach alkalischen Lösungen aber läßt sich der frisch entstandene Farbstoff durch Chloroform und Äther in Lösung bringen. Mit Zinkstaub erhitzt gibt der Farbstoff Skatol. Das Pikrat, erhalten durch Versetzen einer Skatollösung in Benzol mit einer Lösung von Pikrinsäure in Benzol, bildet rote Nadeln, in Salzsäure mit violetter Farbe löslich.

Darstellung.

Das Skatol, Methylindol, gewinnt man am besten durch Erhitzen des Pikrates mit mäßig verdünnter Natronlauge; es destilliert Skatol unverändert über; Indolpikrat wird zersetzt, wobei Indol nicht in das Destillat übergeht.

Nachweis.

1. Mit Salpetersäure und Kaliumnitritlösung (s. Indol) versetzt, gibt eine wässerige Skatollösung nur eine weißliche Färbung, weißes Nitrat (Unterschied von Indol).
2. Nitroprussidnatrium und Natronlauge bewirken nur eine gelbliche Färbung; erst nach Kochen mit Eisessig tritt Violettfärbung ein (Legal-Salkowski).
3. Mit Schwefelsäure erwärmt, entsteht eine schöne Purpurfärbung (Ciamician und Magnanini).
4. Ein in starke Salzsäure gebrachter Fichtenspan färbt sich mit wässeriger Skatollösung nicht rot; nur ein mit heißer alkoholischer Skatollösung getränkter Fichtenspan färbt sich nach dem Eintauchen in starke Salzsäure kirschrot, später violett.

Eigenschaften.

Das skatoxylschwefelsaure Kali kristallisiert in Knollen und Prismen; für sich erhitzt bildet es rote Dämpfe, mit konzentrierter Salzsäure entsteht ein amorpher roter Niederschlag. Unter Anwendung von Oxydationsmitteln aus Harn

entstandene rote Farbstoffe können Derivate des Skatoxyls und Indoxyls oder beider darstellen. Das Skatol kristallisiert in farblosen bei 95° schmelzenden, fäkalartig stinkenden Blättchen; in Wasser ist es schwerer löslich als Indol. Seine weiteren Eigenschaften ergeben sich aus dem Nachweis.

28. Skatolkarbonsäure.

$C_{10}H_9NO_2$ oder $C_6H_4\begin{cases}C.CH_3\\NH\end{cases}>C.COOH.$

Die bei der Eiweißfäulnis neben dem Indol und Skatol auftretende Skatolkarbonsäure findet sich nach Salkowski[1]) im Harne in minimalen Spuren. F. Blumenthal[2]) hat sie bei verschiedenen Krankheiten (bei Karzinomen, Pneumonie, Darmtuberkulose u. s. w.) 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 nochmals mit Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherlösung wird durch Schütteln mit einer Sodalösung die Skatolkarbonsäure entzogen, die alkalische Lösung wird eingedampft und der Rückstand wiederholt mit absolutem Alkohol extrahiert, worauf man die bis zu ca. 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 oder verjagt den Äther 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.

Nachweis.

1. Mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure (1,2 spez. Gewicht) und wenigen Tropfen 2% Kaliumnitritlösung (kein Überschuß!) gibt die wässerige Lösung eine schöne kirschrote Färbung unter Abscheidung

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1885. 9. 28.
[2]) F. Blumenthal, Pathologie des Harnes am Krankenbett. Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien 1903.

eines roten Farbstoffes, der nur von Essigäther oder Amylalkohol vollkommen gelöst und aufgenommen wird, wobei die Lösung, spektroskopisch betrachtet, 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 wieder 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. Gew.) und einigen Tropfen einer ca. 1% Chlorkalklösung versetzt, färbt sich die Lösung allmählich purpurrot unter Abscheidung eines gleichgefärbten, in Alkohol löslichen, in Essigäther fast unlöslichen Niederschlages.

3. Versetzt man die wässerige Lösung der Skatolkarbonsäure mit einigen Tropfen Salzsäure und zwei bis drei Tropfen einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung, so färbt sich die Lösung beim Erhitzen intensiv violett-kirschrot; dieser Farbstoff ist ebenfalls, wie der bei 2. gebildete in Alkohol löslich und wohl der gleiche; in Chloroform geht er nicht über, wenn er durch vorhandene Skatolkarbonsäure erzeugt wurde; in Chloroform löslich ist der aus Skatolschwefelsäure entstandene. Bleibt das Chloroform ungefärbt, so ist also nur Skatolkarbonsäure zugegen, geht er zum Teil in Chloroform über, so ist Skatolkarbonsäure neben Skatolschwefelsäure im Harne vorhanden.

Die angegebenen Reaktionen gibt Harn mit mäßigem Gehalte an Skatolkarbonsäure direkt.

Eigenschaften.

Die geruchlose Säure kristallisiert in Blättchen bei 164° schmelzend, sie ist wenig löslich in Wasser, leicht in Alkohol und Äther. Unreine Lösungen zersetzen sich leicht beim Eindampfen; über 164° erhitzt zersetzt sich die Skatolkarbonsäure in Kohlensäure und Skatol, welches sublimiert.

29. Benzoesäure. $C_6H_5.COOH$.

Dieselbe ist einige Male im Harn neben Hippursäure gefunden worden und ist wohl als ein Zersetzungsprodukt dieser aufzufassen, zumal da man im gefaulten Harn statt der Hippursäure stets Benzoesäure findet; die Benzoesäure wird im Körper in Hippursäure übergeführt, doch soll nach neueren Versuchen unter gewissen Umständen nicht nur die eingeführte Benzoesäure als solche abgeschieden, sondern die eingenommene Hippursäure sogar in Benzoesäure übergeführt werden. Bemerkenswert ist, daß bei Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren auch stets Benzoesäure vorhanden ist.

Darstellung.

Man gewinnt sie wie die Hippursäure; man kann sie von dieser trennen durch Petroläther, worin sich die Benzoesäure löst.

Nachweis.

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

Eigenschaften.

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

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

30. Hippursäure. $C_9H_9NO_3$ oder $CH_2\begin{cases}NH.C_7H_5O\\COOH.\end{cases}$

Die Hippursäure, Benzoylglykokoll, findet sich im normalen Harn besonders reichlich nach Genuß von Obst, Heidelbeeren, Erdbeeren, Preißelbeeren, auch nach Einnehmen von Benzoesäure, Chinasäure, Salizylsäure und Zimtsäure, die in Hippursäure umgewandelt werden. Vermehrt ist dieselbe bei der Darmfäulnis, im Fieber; jedenfalls wird sie im Organismus in der Niere und im Darmkanal durch Synthese von Benzoesäure und Glykokoll gebildet. Sie kommt zu 0,1—1,0 g je

nach der Nahrung in der Tagesmenge vor. Reichlich ist sie im Harne der Pflanzenfresser vorhanden. 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; zudem kann mit dieser Herstellung auch die quantitative Bestimmung verbunden werden.

1. Man macht den Harn (ca. 1 Liter) mit kohlensaurem Natron alkalisch, konzentriert das Filtrat bis fast zur Trockne und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol wiederholt aus. Der Verdunstungsrückstand von der Alkohollösung (man destilliert den Alkohol ab) wird in Wasser gelöst, die Lösung des hippursauren Natrons mit Schwefelsäure angesäuert und wiederholt (ca. 5mal) mit Essigäther ausgeschüttelt. (G. Rein-Picci[1]) empfiehlt den Harn mit Baryumchlorid und Barythydrat auszufällen und das mit Salzsäure angesäuerte Filtrat auch mit Essigäther zu extrahieren. Weitere Behandlung, wie folgt.) Der abgehobene Essigäther wird im Scheidetrichter mit Wasser 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 u. s. w. mehrere Male mit Petroläther behandelt, welcher 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 Kristallisation gebracht. Die Kristalle werden gesammelt und gewogen. (Methode nach Bunge und Schmiedeberg.)[3])

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

[1]) Wien. med. Presse. 1901. 2238.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 174.
[3]) Archiv exp. Pathолog. **6.** 235.
[4]) Arch. exp. Path. Pharm. 1899. **40.** 313.
[5]) Festschrift für Jaffé, Braunschweig, Vieweg & Sohn. 1901. 319.

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 zum Rückstande von der Petrolätherbehandlung in den Erlenmeyerkolben gebracht, der Äther durch Erwärmen verjagt und nach dem Zusatz 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 Exsikkator 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 Papierpatrone mit Äther im Soxhlet'schen Apparat. Man erhält ein nur schwach gefärbtes Ätherextrakt, das man, wie angegeben, weiter behandelt.

Ein ähnliches Verfahren gibt Völker an unter Verwendung von Natriumphosphat.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die Hippursäure kristallisiert in rhombischen, halbdurchsichtigen milchweißen Prismen an den Enden in 2 oder 4 Flächen auslaufend (s. Sedimente), die Ähnlichkeit mit dem Tripelphospat (s. Sedimente) haben, sich von diesem aber durch das chemische Verhalten unterscheiden. Die Hippursäure löst sich schwer in kaltem, leicht in heißem Wasser und besonders leicht in Essigäther auf. In Petroleumäther, Benzol ist sie unlöslich. Sie schmilzt bei 187,5°.

Die Verbindungen mit Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und Alkohol löslich, die Metallsalze schwer löslich. Charakteristisch 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).

Nachweis.

1. Mit konz. Salpetersäure gekocht und eingedampft gibt der erhitzte Rückstand Nitrobenzolgeruch.
2. Erhitzt im Reagensglas für sich schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit (Unterschied von Benzoesäure). Beim stärkeren Erhitzen

sublimiert unter Rotfärbung Benzoesäure und zuletzt tritt ein Geruch nach Blausäure auf.

3. Zur Erkennung sehr kleiner Mengen empfiehlt K. Spiro[1]) die Laktimidprobe.

Die, wie unter 1. angegeben, gewonnene möglichst reine Hippursäure (ein Molekül) wird mit drei Molekülen Essigsäureanhydrid gelöst und ein Molekül geschmolzenes essigsaures Natron 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 beim Abkühlen zu einem Kristallbrei aus netzartig durcheinander gelagerten oder wawellitähnlich angeordneten gelblichen Nädelchen, die durch Waschen mit Alkohol von Bittermandelöl befreit und durch Kristallisation aus heißem Alkohol und Benzol leicht gereinigt werden können. Schmelzpunkt 165—166°.

31. Phenacetursäure.

$C_{10}H_{11}NO_3$ oder $C_6H_5 . CH_2 . CO . NH . CH_2 . COOH$.

Ist regelmäßig im Pferdeharn vorhanden. Zeitweilig soll diese Säure im Harn des Menschen vorkommen von der bei der Fäulnis von Eiweis im Darm entstehenden Phenylessigsäure. Die Phenacetursäure ist schwer von der Hippursäure zu trennen; auch kommt sie wohl selten im Harn in einer solchen Menge vor, daß sie mit Sicherheit isoliert werden könnte.

Eigenschaften.

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

32. *Gallensäuren* (s. diese).

33. Aromatische Oxysäuren.

Diese entstehen zum größten Teile bei der bakteriellen Zersetzung oder bei der Fäulnis von Eiweiß, Tyrosin im Darm oder in den Geweben (Gewebszerfall); diese aromatischen Oxysäuren sind im allgemeinen entsprechend dem Phenol vermehrt. Sie werden gleich diesen entweder in der Leber durch

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 28. 174.

ihre Verbindung mit Schwefelsäure entgiftet oder sie durchwandern als solche den Organismus. Im normalen Harne wurden die Paraoxyphenylessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure gefunden, die ungefähr zu 0,001—0,002 % vorkommen; im phenolreichen pathologischen Harn (nach akuter Phosphorvergiftung) sind sie sehr vermehrt, 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, die Uroleucinsäure und die Homogentisinsäure.

A	B	C	D
Paraoxyphenylessigsäure	Paraoxyphenylpropionsäure. Hydroparacumarsäure	Paraoxyphenylglykolsäure. Oxymandelsäure	Oxyhydroparacumarsäure. Paraoxyphenylmilchsäure
$C_6H_4<^{OH}_{CH_2.COOH}$	$C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CH_2.COOH}$	$C_6H_4<^{OH}_{CH.(OH)COOH}$	$C_6H_4<^{OH}_{C_2H_3(OH).COOH}$

Zur Darstellung dieser Oxysäuren (A—D) müssen große Mengen (50 Liter) Harn verwendet werden. Diese werden nach Baumann[1]) eingedampft, der Sirup wird mit Essigsäure stark angesäuert und einige Male mit Äther ausgezogen. Die Ätherauszüge werden behufs 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 verdunstet, der Rückstand wird auf dem Wasserbade zum möglichsten Entfernen der Essigsäure noch 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 kristallinisch erstarrt. Noch besser kocht man den in Wasser gelösten Sirup mit Baryumkarbonat und scheidet aus der Lösung der Barytsalze die Säuren ab; man kristallisiert die mit Filtrier-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1881. **6.** 191.

papier oder auf dem Tonteller behandelte Kristallmasse aus wenig Wasser um. Hierbei kristallisiert:

A	B	C	D
zuerst Paraoxyphenylessigsäure in langen, durchsichtigen Prismen aus, die durch Umkristallisieren 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°.	Oxymandelsäure ist in dem in viel heißem Benzol unlöslichen Anteil der Oxysäuren vorhanden. Aus dem in Wasser löslichen Teil scheiden sich nadelförmige Kristalle aus. Geben die Millonsche Reaktion. Seidenglänzende, lange Nadeln. Schmelzpunkt 162°.	Oxyhydroparacumarsäure. Seidenglänzende Nadeln.

Man kann auch in der getrockneten Kristallmasse die Säuren durch fraktionierte Kristallisation mit Benzol trennen; A kristallisiert beim Abkühlen der heißen Benzollösung, B beim Abdunsten des Benzols aus, C ist in Benzol unlöslich.

Nachweis im Harn.

100 ccm Harn werden nach dem Ansäuern 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 Rückstand 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.

E. Gallussäure. $C_6H_2\begin{cases}(OH)_3\\COOH.\end{cases}$

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

S. Arzneien.

F. Alkaptonsäuren.

Mit diesem Namen hat man 2 Säuren, die Homogentisinsäure und die Uroleucinsäure bezeichnet, welche allerdings sehr selten im Harne vorkommen und diesem die dem Zuckerharne zukommende Eigenschaft, Metallsalze (Fehling und ammoniakalische Silberlösung) zu reduzieren, erteilen. Die Ablenkung des polarisierten Lichtes, die Fähigkeit, mit Hefe zu gären, besitzen sie jedoch nicht, so daß sie mit Zuckerharnen nicht gut verwechselt werden können; sie sind aber anderseits Harnen, 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 zu schwärzen, sowie auch auf der Wäsche dunkelrote bis braune Flecke zu hinterlassen. Aus diesem Grunde ist die Reindarstellung der Säuren notwendig.

Die Menge der Säuren kann in solchen Harnen, die bei Kindern, wie Erwachsenen, bei Gesunden und Kranken beobachtet wurden, manchmal sogar 3—6 g in der täglichen Harnmenge betragen.

Allgemeine Eigenschaften von Alkaptonharnen sind also:

1. Dunkelwerden an der Luft, besonders nach Alkalizusatz.
2. Reduktion von Fehling in der Kälte schon, ebenso von neutraler und ammoniakalischer Silberlösung; Wismutoxyd wird bei Alkaligegenwart nur in konzentrierter Lösung der Säuren und da nur schwach reduziert.
3. Optisch inaktiv; gären nicht mit Hefe.
4. Mit Eisenchlorid Dunkelfärbung; blau bei Homogentisinsäure, grün bei Uroleucinsäure.
5. Mit Millons Reagens bildet sich ein zitronengelber, beim Erwärmen ziegelrot werdender Niederschlag.

1. Die Homogentisinsäure, Dioxyphenylessigsäure

$$C_8H_8O_4 \text{ oder } C_6H_3\begin{cases}(OH)_2\\ CH_2.COOH.\end{cases}$$

2. Die Uroleucinsäure, Trioxyphenylpropionsäure

$$C_9H_{10}O_5 \text{ oder } C_6H_2\begin{cases}(OH)_3\\ CH_2.CH_2COOH.\end{cases}$$

Als Ursache der Entstehung der ersteren wurde das Tyrosin angenommen, Baumann und Wolkow glauben aber, daß im Darme vorhandene Bakterien die Ursache zur Bildung dieser Säure sind. Die Uroleucinsäure ist der Gallussäure homolog; während man die erstere häufig gefunden hat, ist die letztere wohl infolge ihrer schwierigeren Darstellung nur einmal (von Kirk) aufgefunden worden.

Darstellung.

Zu ihrer Darstellung wird der Harn 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 dann mehreremal (3—4 mal) mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge werden vom Äther durch Abdestillieren desselben befreit und der sirupartige Rückstand in der 50 bis 60 fachen Menge Wassers gelöst. Das Filtrat wird erhitzt, 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 Kristallen aus, die man nach 24stündigem Stehen abfiltriert und mit etwas kaltem Wasser auswäscht. Dieses Bleisalz schmilzt bei 214—215° und enthält 9,08 % Kristallwasser, das es bei 100° abgibt.

Um aus dem Bleisalz die freie Säure herzustellen, verreibt man dasselbe, verteilt es in Wasser und zersetzt es durch Schwefelwasserstoff. Nach dem Entfernen desselben durch Kochen dampft man auf dem Wasserbade ein und konzentriert schließlich im Vakuum. Die freie Säure scheidet sich in großen Kristallen (Schmelzpunkt 146—147°) aus. Das Filtrat von dem ausgeschiedenen Bleisalz der Homogentisinsäure wird zur Gewinnung der Uroleucinsäure nach

Huppert[1]) nach dem Entfernen des Bleies durch Schwefelwasserstoff zuerst auf dem Wasserbade, dann im Vakuum konzentriert; die ausgeschiedenen Kristalle werden von dem anhängenden braunen Sirup durch mehrmaliges Behandeln mit Äther, der die Säure leicht aufnimmt, rein erhalten. Aus der Ätherlösung scheiden sich die Kristalle in Drusen oder in Nadeln, Prismen ab, die bei 130° schmelzen.

Quantitative Bestimmung.

Zur annähernden Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn werden nach E. Baumann[2]) 10 ccm Alkaptonharn mit 10 ccm 3 % Ammoniak und einigen Kubikzentimetern $^1/_{10}$-Normalsilbernitratlösung versetzt; ferner setzt man, um das fein verteilte Silber abzuscheiden, fünf Tropfen Chlorcalcium- und zehn Tropfen Ammoniumkarbonatlösung hinzu; das hierbei sich bildende Calciumkarbonat reißt das Silber mit nieder. Man filtriert und prüft, ob das Filtrat noch reduzierend auf Silberlösung einwirkt und setzt im letzteren Falle zu einer neuen Harnmenge eine größere Menge Silberlösung hinzu u. s. f. Als Endreaktion wird angesehen, wenn das Filtrat auf Zusatz von Salzsäure im Überschuß eine eben sichtbare Trübung von Chlorsilber gibt. Bei Mehrverbrauch von Silberlösung, als 8 ccm für 10 ccm Harn sind von vornherein anstatt 10 ccm 20 ccm Ammoniak zu verwenden. 1 ccm $^1/_{10}$-Silberlösung = 0,0041 g Homogentisinsäure.

Eigenschaften	
der Homogentisinsäure	der Uroleucinsäure
Prismen mit 1 Mol. Wasser, werden an der Luft undurchsichtig. Unlöslich in Chloroform, Benzol; die Säure gibt beim Erhitzen im Röhrchen ein schön blaugefärbtes Sublimat. Charakteristisch ist das Bleisalz.	Löst sich in Äther, Alkohol, nicht in Chloroform, Petroläther. Verdünnte Lösungen (0,5 %) werden durch Bleiessig nicht gefällt, deswegen muß bei der Darstellung und Trennung der Harn stark verdünnt werden.

Im übrigen gelten die für den Nachweis der Alkaptonsäuren im Harne oben angegebenen weiteren Eigenschaften.

[1]) Zeitschr. physiol. Chemie. 1897. 23. 412.

[2]) Zentralbl. med. Wissensch. 1892. 542.

34. *Die Eiweißstoffe.*

Eiweißstoffe, Proteine sind Verbindungen aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel; einzelne sog. Paarlinge enthalten noch Phosphor oder Eisen.

Am besten und zweckmäßigsten teilen wir die Eiweißstoffe in folgende Gruppen ein, wobei jedoch nur Rücksicht auf die im Harne vorkommenden uns interessierenden Eiweißkörper genommen ist.

I. Eiweißstoffe im eigentlichen Sinne, Proteine.

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. Albumosen, Peptone, (Bence-Jonesscher Körper).

II. Proteide, Verbindungen von Eiweißkörpern mit anderen Stoffen, geben bei der Zersetzung Eiweiß und enthalten zum Teil Phosphor und Eisen in organischer Bindung.

Hierher zählen nach Neumeister:

1. Nukleoalbumine, Verbindungen der Eiweißstoffe mit Nukleinen (Nukleohistone).
2. Glykoproteide, Verbindungen der Eiweißstoffe mit Substanzen der Kohlehydratgruppe, z. B. Mucine, Mukoide.
3. Hämoglobine, Verbindungen der Eiweißstoffe mit eisenhaltigen Farbstoffen, die beim Erhitzen zerfallen, Hämoglobin, Methämoglobin.

III. 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).

IV. Farbstoffe, Derivate der Proteine und Proteide.

1. Gallenfarbstoffe.
2. Harnfarbstoffe.
3. Melanin.

V. Enzyme.

Eiweißartige Körper, die unter den für sie günstigen Bedingungen lösend und zersetzend auf an sich unlösliche Eiweißstoffe u. s. w. einwirken.

Pepsin, Trypsin, Labferment.

Allgemeine Eigenschaften der Eiweißstoffe.

Die Eiweißstoffe sind sämtlich unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol; ein Teil ist in Wasser löslich (Albumin, Albumosen, Peptone), ein anderer unlöslich; die unlöslichen werden aber, mit Ausnahme des Fibrins, durch Säuren und Alkalien, sowie alkalisch reagierende Salze unter Bildung von Salzen gelöst.

In ihren Lösungen besitzen sie 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. Alle Eiweißkörper werden durch Alkohol aus ihren Lösungen gefällt, ebenso geben die Lösungen mit den meisten Schwermetallen, mit den allgemeinen Alkaloidreagentien und mit einer Reihe von Mineralsäuren charakteristische, zum Nachweis dienende Fällungen.

Wie durch Alkohol, werden die meisten Eiweißstoffe aus ihren Lösungen auch durch Erhitzen ausgefällt, sie werden koaguliert; diese Ausscheidung erfolgt bei den verschiedenen Eiweißstoffen bei verschiedenen Temperaturen und auch unter verschiedenen Bedingungen. Durch Behandlung des koagulierten Eiweißes mit verdünnter Lauge oder verdünnten Mineralsäuren in der Wärme erzielt man Lösung unter Bildung von Alkalialbuminaten bezw. Acidalbuminen. Die durch die Reagentien bedingten Fällungen sind ebenfalls eine Folge von erfolgter Koagulation oder von entstandenen in Wasser unlöslichen Verbindungen. Eine weitere den Eiweißstoffen zukommende Eigenschaft ist die Erzeugung von Farbenreaktionen mit verschiedenen Reagentien; wir kennen die Biuret-, die Xanthoproteinreaktion, die Millonsche, die Furfurolprobe in verschiedener Ausführung und die Schwefelprobe.

Durch sauren Magensaft (Pepsin) und bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion durch Pankreassaft werden die Albuminstoffe peptonisiert und zuerst in Hemialbumose und dann in Peptone verwandelt; auch durch Einwirkung siedender verdünnter Säuren und Alkalien entstehen diese Umwandlungsprodukte, die durch Membranen gut diffundieren; bei kräftiger Einwirkung der Säuren und Alkalien, auch durch Einwirkung hochgespannter Wasserdämpfe zerfallen die Eiweißstoffe unter Hydrolyse in eine Reihe von Amidosäuren, Tyrosin, Leucin und andere. 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 genannte Basen. Mit Kaliumpermanganat oxydiert gelang es Maly eine sauerstoffreiche, den Charakter einer Säure zeigende vielbasische Proteinsubstanz (Oxyprotsäure) herzustellen.

Bei Gegenwart von Wasser und Luft gehen die Eiweißstoffe rasch in Fäulnis über, wobei Zersetzungsprodukte, wie Kohlensäure, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, flüchtige Fettsäuren, Leucin, Tyrosin, Glykokoll, Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenol, Indol, Skatol, Oxyphenylessigsäure, Hydroparakumarsäure, Hypoxanthin, 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.

In jedem normalen Harne können Proteinsubstanzen, die neben sehr geringen Mengen von Serumalbumin vorwiegend aus Mucin, Nucleoalbumin bestehen, vorkommen, die indessen nicht immer schon mit unseren gewöhnlichen Eiweißreaktionen nachzuweisen sind; wohl sehen wir, daß sich das Mucin beim Stehen des Harnes als deutlich sichtbare Wölkchen (nubeculae des Hippokrates) ausscheidet und zu Boden setzt.

Durch Versuche ist nun nachgewiesen, daß das Nucleoalbumin häufiger vorkommt und daß manche früher als Mucin

aufgefaßte Proteinsubstanz in Wirklichkeit aus Nukleoalbumin, durch Abstoßung zelliger Elemente aus den Harnwegen gebildet, besteht. Die Löslichkeit dieser Nukleoalbumine im Harn wird leicht dadurch erklärt, daß die Proteinsubstanz der genannten Zellen eben in Harnwasser keineswegs ganz unlöslich ist; ist die Zellenabstoßung eine vermehrte, dann gelingt es auch durch unsere Reagentien leicht die Anwesenheit dieser Proteinsubstanzen nachzuweisen, ohne daß wir schon an pathologische Zustände zu denken hätten.

Was das Vorkommen von Serumeiweiß im normalen Harne betrifft, so stehen sich die Ansichten eigentlich nicht gegenüber, das Vorkommen ist durch eingehende Versuche bewiesen und wird auch nicht geleugnet, nur wird von der einen Seite die Herkunft dieser Spuren Serumeiweiß aus dem Blutplasma bestritten und als Ort der Herkunft werden die Harnwege betrachtet (Neumeister). Von diesen oben erwähnten Eiweißstoffen kommt entweder das eine für sich allein vor oder es finden sich mehrere nebeneinander.

A. und B. *Albumin und Globulin.*

Als Eiweiß im eigentlichen Sinne des Wortes verstehen wir nur das aus dem Blutplasma stammende Serumalbumin und das Serum- und Paraglobulin. Das Vorkommen dieser in Verbindung mit gewissen Abscheidungen von organischen Teilen läßt den Harn stets als einen pathologischen erscheinen — Eiweißharn — Albuminurie.

Von dieser letzteren unterscheidet man, ebenso wie beim Zuckervorkommen, mehrere Arten; wir kennen in erster Linie eine wahre, dann eine falsche oder unechte und eine aus diesen beiden bestehende gemischte Albuminurie.

Bei der eigentlichen oder wahren Albuminurie (der renalen) kommt infolge einer durch pathologische Prozesse bedingten parenchymatischen Veränderung der Nieren, bezw. des Nierenepithels das Eiweiß in der Niere, den Glomerulis oder in den Harnkanälchen direkt zur Ausscheidung, da die erkrankten Nieren eben infolge direkter Schädigung oder veranlaßt durch Zirkulationsstörungen überhaupt nicht mehr imstande sind, die Eiweißstoffe des Blutes zurückzuhalten. Die Eiweißausscheidung ist hier stets eine konstante, indem zu allen Tageszeiten Eiweiß ausgeschieden wird und meist in

einer solchen Menge, daß man deutliche Eiweißreaktionen erhält; auch finden sich bei der nie zu unterlassenden mikroskopischen Betrachtung des Sedimentes noch organisiertes Eiweiß, Formelemente der Niere, die sogenannten Harnzylinder, Nierenepithelien und Zylinder mit den genannten Formelementen der Niere.

Was die Entstehung und Veranlassung der wahren Albuminurie anbelangt, so werden die schon erwähnten histologischen Veränderungen des Nierengewebes veranlaßt durch entzündliche und degenerative Vorgänge des Nierenparenchyms bei jeder Form von akuter oder chronischer Nephritis, 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 (Druck des Uterus auf die Ureteren) — entzündliche Albuminurie — durch toxisch wirkende Körper (Strychnin, Pilokarpin, Alkohol, Phosphor, Arsenik, Blei, Arsenwasserstoff, Kohlenoxyd, Bakterientoxine, nach langem fortgesetzten innerlichen Gebrauche von salizylsaurem Natron, Silbernitrat) — toxische Albuminurie. Durch eine Schädigung der die Nieren versorgenden Nerven oder durch eine Schädigung der Zirkulationsverhältnisse des Zentralnervensystems kann ebenfalls Albuminurie entstehen, die wir auch bei zahlreichen Erkrankungen des Gehirnes und des Rückenmarkes vorfinden (F. Blumenthal).

Erwähnt sei besonders noch, daß nach Englisch bei Darmeinklemmungen sehr häufig Eiweiß im Urin gefunden wird und daß diese Menge mit der stärkeren, gefährlicheren und länger dauernden Einklemmung zunimmt; es hat hier die Eiweißbestimmung deswegen eine wertvolle diagnostische und therapeutische Bedeutung.

Auf eine Veränderung der Blutbeschaffenheit ist jene Albuminurie zurückzuführen, die bei vielen fieberhaften Erkrankungen (Typhus, Diphtheritis, Scharlach, Pneumonie) entsteht, die sich aber von der entzündlichen Albuminurie dadurch unterscheidet, daß sie nach dem Erlöschen des hohen Fiebers wieder verschwindet und daß nur sehr geringe Mengen Eiweiß ausgeschieden werden — febrile Albuminurie.

Nichts zu tun hat selbstverständlich diese Albuminurie

mit der bei Scharlach u. s. w. später auftretenden akuten Nephritis.

Eine falsche oder unechte Albuminurie haben wir vor uns, wenn zu einem aus der Niere eiweißfrei abgesonderten Harne auf dem Wege vom Nierenbecken bis zur Harnröhrenmündung eine eiweißhaltige Flüssigkeit, Blut, Eiter u. s. w. hinzutritt; man hat deshalb bei der Prüfung auf Eiweiß im Harn Rücksicht zu nehmen, ob nicht das gelöste Eiweiß von Eiter, Blut, Blutfarbstoff aus den Harnwegen herrührt, worüber die mikroskopische Untersuchung der Sedimente Aufschluß zu geben vermag (bei Cystitis, Pyelitis, Gonorrhoe, Spermatorrhoe). Wird diese falsche Albuminurie von einem wirklichen Nierenleiden noch begleitet, so redet man wohl auch von einer gemischten Albuminurie und wird hier die mikroskopische Prüfung vor allem 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 welcher Krankheit manchmal nicht einmal geringe Mengen von Eiweiß gefunden werden.

Als eine nicht echte Albuminurie, die wir mit dem Namen der accidentellen, transitorischen, auch physiologischen bezeichnen, ist die Albuminurie zu betrachten, die sich bei sonst völlig Gesunden vorfindet nach schweren körperlichen Anstrengungen des Organismus, nach reichlichen Mahlzeiten, nach Gemütsbewegungen, nach nervösen Einflüssen, nach ungeeigneter Nahrungszufuhr. Die meist auch nur in geringer Menge vorkommenden Eiweißstoffe, die sich dann nur im Tagharn, nicht im Nacht- und Morgenharn (also nicht im Ruhezustande) vorfinden, verschwinden meist auch nach Aufhören der die Eiweißausscheidung bedingenden Ursachen. Es kommt aber auch vor, daß die Eiweißausscheidungen periodisch wechseln; die mikroskopische Untersuchung läßt hier nie die für eine akute oder chronische Nierenerkrankung sprechenden Formelemente vorfinden; man unterscheidet diese Eiweißausscheidung dann als zyklische Albuminurie. 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 der sogenannten zyklischen Albuminurie ein erhöhtes Interesse zuzuwenden und ist genaue Prüfung notwendig.

Hier ist auch noch die Frage wichtig, wann ist das Auftreten von Eiweiß nicht mehr als physiologische Albuminurie, sondern als pathologisch anzusehen; wenn auch dieser Entscheid und diese Diagnose nur Sache der Ärzte ist, so muß doch hier der Ansicht unserer namhaften Forscher Erwähnung geschehen und zwar mit vollem Rechte schon aus dem Grunde, 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. Pentzoldt sagt, daß vorübergehende Albuminurie nach Genuß von Schnaps, Bier, Thee, Rettig u. s. w. häufig vorkommen kann; es finden sich auch einige Zylinder und andere Formelemente, auch rote und weiße Blutkörperchen, sowie Epithel aus den Harnkanälchen, so daß ein einmaliger solcher Befund noch keine Nephritis bedeutet.

Wird jedoch nach einer strengen körperlichen Ruhe und nach Weglassung und Vermeidung aller nierenreizenden Stoffe nach einigen Tagen abermals bei der Prüfung des Urins Eiweiß gefunden und sind wieder die erwähnten Formelemente zugegen, dann ist Nephritis und keine transitorische Albuminurie zu diagnostizieren.

Auch Lenhartz weist darauf hin, daß man mit der Diagnose bei der zyklischen Albuminurie Vorsicht zu gebrauchen hat, daß z. B. manche Fälle von Schrumpfniere zeitweise keine Spur von Formelementen ausscheiden und daß auch die übrigen klinischen Erscheinungen verdeckt sein können oder daß manche Fälle von Brightscher Krankheit eine Zeitlang als physiologische Albuminurie angesehen werden können.

Was noch die Mengen Eiweiß anlangt, die in pathologischen Fällen mit dem Harn entleert werden können, so sind diese außerordentlich verschieden von einem Minimum, weniger als 1 g in der 24 stündigen 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, wenn auch bei Nephritis der Gehalt bis zu 5 % steigen kann.

Am geringfügigsten kann, wie wir bereits gehört haben, die Eiweißausscheidung bei chronisch verlaufender Schrumpfniere sein.

Das Eiweiß des Harnes ist ein Gemenge von Serumalbumin und Serumglobulin (Paraglobulin); diese sind es nun auch, auf welche sich die zum Nachweis des Eiweißes gebräuchlichen Methoden hauptsächlich beziehen; aus diesem Grunde sind diese beiden Eiweißstoffe zuerst eingehend zu besprechen, während die übrigen in der in der Übersicht gebrachten Reihenfolge abgehandelt werden sollen.

Darstellung und Trennung des Albumins vom Globulin bei der quantitativen Bestimmung siehe S. 322.

Eigenschaften	
A. des Albumins	B. des Globulins
Im Harne bei Albuminurie auftretendes Albumin ist Serumalbumin; es ist wohl das Vorkommen mehrerer Albumine 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; in Alkohol ist das Albumin unlöslich und fällt beim Versetzen einer Albuminlösung mit Alkohol als flokkiger, 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.	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 Sättigen der Lösung mit Ammoniumsulfat abgeschieden. Wird aus der Globulinlösung das Salz durch Dialyse entfernt, dann fällt Globulin aus. Globulin löst sich zum Unterschied von Mucin in Essigsäure nicht.
Die spezifische Drehung des Albumins beträgt $-62{,}6°$ bis $64{,}59°$ (Starke). Eine schwach angesäuerte Albuminlösung gerinnt beim Erhitzen bei ca. 60° und scheidet bei 72 bis 75° das Eiweiß vollständig in Flocken aus. Durch verdünnte Säuren, auch Essigsäure, wird es weder gefällt, noch verändert, dagegen durch konzentrierte Mineralsäuren, namentlich	Die spezifische Drehung in einer verdünnten Salzlösung beträgt $-47{,}8°$. Durch verdünnte Säuren, auch Kohlensäure, wird es in Acidalbumin, durch stärkere alkalische Lösungen in Alkalialbuminat umgewandelt; in verdünnter Sodalösung und in verdünnter Ätzalkalilösung löst sich das Globu-

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	
A. des Albumins	B. des Globulins
Salpetersäure ausgeschieden unter langsamer Umwandlung in Acidalbumin; durch verdünnte 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).	lin; aus diesen Lösungen wird es durch Säuren, auch durch Kohlensäure unverändert, jedoch unvollständig wieder gefällt. Beim Erhitzen koagulieren die Globulinlösungen in 5—10% Chlornatriumlösung ebenfalls; das Globulin gerinnt bei 75°, während bei 60° noch keine Trübungen eintreten. Aus seinen Lösungen wird das Globulin im Gegensatz zum Serumalbumin durch Äther gefällt. Was noch das Fibrinogen anbelangt, das mit Globulin zusammen vorzukommen scheint, so unterscheidet sich dieses 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 gelöst wird zu Protein. In Salzlösung ist die Ablenkung −52,5° (Mittelbach). Fibrinogen wird durch das Fibrinferment zu Fibrin.

Qualitativer Nachweis.

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

Bedingungen für den Nachweis des Eiweißes, bezw. der Albuminurie.

1. **Der Nachweis von Eiweiß im Harn — eiweißhaltiger Harn schäumt leicht — ist ein einfacher und sicherer, doch gebrauche man die Vorsicht und begnüge sich nicht mit einer der fast unzähligen Eiweißreaktionen, da keine derselben für sich allein unbedingt für die Gegenwart des Serumeiweißes charakteristisch und beweisend ist. Wir wissen jetzt, daß die sogenannten Nukleoalbumine (s. diese) nicht selten vorzukommen pflegen, besonders bei Katarrhen der Harnwege, der Blase, bei Leukämie, bei Nierenkrankheiten, und wir wissen, daß durch dieses Nukleoalbumin, ebenso auch durch Albumosen z. B. ein positiver Ausfall der Hellerschen Probe bewirkt werden kann, ein negativer Ausfall der Kochprobe belehrt uns aber sofort, daß wir dann kein eigentliches Eiweiß, sondern die genannten Proteide und Proteine vor uns haben.**
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 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 im Stiche läßt. Ich mache nur darauf aufmerksam, daß das Ergebnis der mikroskopischen Prüfung uns auch nicht selten in den Stand setzen kann, eine wirkliche Albuminurie von unechter zu unterscheiden, abgesehen davon, daß nur das Ergebnis einer einwandfreien Untersuchung dem Arzte wertvoll sein kann.

3. Der Harn muß klar sein, damit nicht Spuren von Eiweiß, die sich nur durch eine leichte Trübung anzeigen, entgehen, da diagnostisch die geringste Menge Eiweiß Bedeutung haben kann und es manchmal auf den Nachweis ganz geringer Mengen (Opalisieren) ankommt (bei Schrumpfniere). Ist der Harn trübe, so zentrifugiere man ihn und filtriere dann eventuell mehrmals durch Filtrierpapier oder Asbest. Sollte der Harn nicht vollkommen klar werden, dann gibt man in zwei gleich weite Reagensgläser gleiche Mengen Harn, nimmt in dem einen Glas die Reaktion vor und vergleicht dieses mit dem Inhalte des Glases mit dem ursprünglichen Harn. Ein Behandeln mit Entfärbungsmitteln und Klärmitteln (Tierkohle, Magnesia usta, Kreide, Talkum, Bleisuperoxyd, Kieselguhr) ist unzulässig, da nach den von verschiedener Seite gemachten Versuchen hierbei 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.
4. Harn, der sehr konzentriert ist, ist mit dem gleichen oder dreifachen Volumen Wassers zu verdünnen, da die beim Ansäuern ausfallende Harnsäure die Erkennung von Eiweiß erschwert oder dieses vortäuschen könnte. Schön scheidet sich das Eiweiß aus, wenn man den Urin statt mit Wasser mit dem doppelten Volumen 5% Kochsalzlösung verdünnt, da der Eiweißniederschlag durch Zusatz von Salzen sich verstärkt; auch bei vorhandener Polyurie empfiehlt sich dieser Kochsalzzusatz zum Harn.
5. Auch sehr kalter Harn kann bei der Prüfung mit Salpetersäure (Hellersche 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 u. s. w.).
7. Man prüfe auch, wenn es notwendig erscheint, den zu verschiedenen Tageszeiten gelassenen Harn und schließlich nehme man, wo es nur angeht, die Reaktionen durch vorsichtiges Überschichten als Zonenproben oder Ringproben vor, da auf diese Weise sehr geringe Mengen von Eiweiß mit weitaus größerer Schärfe erkannt werden können.

Von den zur Anwendung kommenden Reaktionen unterscheidet man Reaktionen mit Lösungen, Reaktionen auf trockenem Wege und Farbenreaktionen.

I. Reaktionen mit Lösungen.

Ich empfehle von diesen im nachstehenden die durch langjährige praktische Erfahrungen als brauchbar anerkannten Proben unter genauer Angabe aller bei der Ausführung in Betracht kommenden Vorsichtsmaßregeln; mit Hilfe der fünf im folgenden zuerst genannten Proben, sowie mit Hilfe der mikroskopischen Prüfung des Sedimentes, wird in jedem Falle das Vorhandensein einer Albuminurie mit Sicherheit nachgewiesen werden können.

1. Kochprobe. Fällung als koaguliertes Eiweiß.

Man erhitzt 5—10 ccm Harn, der sauer reagieren muß — neutraler oder alkalischer Harn muß durch vorsichtigen Zusatz von Salpetersäure schwach sauer gemacht werden — in einem Reagensglase, 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 konz. 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 Indikan rotviolett, durch Blut rot bis braun). Nach dem Zusatz der Salpetersäure darf nicht mehr erhitzt werden, da sich sonst das ausgeschiedene Eiweiß wieder teilweise lösen würde.

Wenn man neben die gekochte Probe die gleiche Menge von dem filtrierten, nicht erhitzten Harn hält, so können bei diesem Vergleich vorher unbemerkbar gewesene Spuren von Eiweißausscheidung noch erkannt werden.

Beurteilung und Bemerkungen.

Bei Beobachtung der angegebenen Kautelen gute und sichere, wohl die populärste Probe; 0,04—0,03 Eiweiß pro mille nachweisbar.

Zum Ansäuern neutraler oder alkalischer Harne darf Essigsäure wegen Bildung von Acidalbumin, das dann beim Kochen nicht gerinnt, nicht verwendet werden.

Entsteht beim Kochen ohne Säurezusatz direkt ein Niederschlag, so kann dieser koaguliertes Eiweiß sein oder er kann aus Erdphosphaten bestehen, die in schwach saurem oder alkalischem Harne beim Kochen ausfallen; durch die Säure werden die Erdphosphate gelöst und vorhandenes ausgeschiedenes Eiweiß wird noch kompakter. Zu wenig zugesetzte Salpetersäure kann Eiweiß in Lösung halten; weiterer Zusatz fällt es aus.

Besonders bei dieser Probe ist, zumal wenn ein salzarmer Harn vorliegt, der Zusatz einer Kochsalzlösung für die Eiweißausscheidung sehr förderlich.

Bei sehr geringem Eiweißgehalt kann sich dieses dem Nachweise entziehen, da die Salpetersäure Acidalbuminat löst; deswegen ist diese Probe stets durch eine weitere zu kontrollieren.

Ein erst nach dem Erkalten sich ausscheidender Niederschlag ist kein Eiweiß, sondern besteht aus Uraten; man untersucht zweckmäßig den Niederschlag noch mikroskopisch.

Nukleoalbumin, Mucin, die sich beim Kochen des Harnes durch leichte Trübung ausscheiden, werden durch die Salpetersäure in Lösung gehalten. (Unterscheidung von anderen Eiweißstoffen.)

Entsteht der Niederschlag nicht sofort, sondern allmählich, so ist Albumin nicht zugegen, es sind dann Albumosen vorhanden; dieser Niederschlag löst sich wieder beim Kochen; entsteht eine Fällung schon bei ca. 50° und löst sich diese bei weiterem Kochen, tritt beim Abkühlen aber wieder auf, so ist auf die Bence-Jonessche Albumose (s. d.) zu prüfen.

Auch eiweißfreier Harn kann getrübt erscheinen bei innerlicher und äußerlicher Anwendung von Harzen, Balsamen (Terpentin, Copaiva, Perubalsam, Cubeben, 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.

Diese Kochprobe kann auch unter Verwendung von Essigsäure vorgenommen werden; zu 10 ccm Harn gibt man nach dem Erhitzen 2—3 Tropfen einer ca. 10 % Essigsäure. Es ist aber die Kochprobe mit Salpetersäure vorzuziehen, da man mit dem Zusatz der Essigsäure erstens vorsichtig sein muß (der geringste Überschuß von Essigsäure löst Eiweiß) und dann wird die Unterscheidung des Mucins vom Eiweiß unmöglich gemacht, da Essigsäure die Mucintrübung nicht, wie die Salpetersäure löst; beim Erhitzen wird sogar die Mucintrübung noch stärker und flockiger.

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.

2. Hellersche Probe. Fällung als Acidalbumin.

Man füllt in ein Reagensglas ungefähr 5 ccm konz. Salpetersäure und schichtet vorsichtig mit einer Pipette die gleiche Menge Harn so darauf, daß sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Bei Anwesenheit von Eiweiß entsteht an der Berührungsstelle ein nach beiden Seiten scharf begrenzter Ring in Form einer weißen Trübung, die bei größerem Eiweißgehalte sofort, bei geringerem nach einigen Minuten entsteht und dann leicht erkannt wird, wenn man das Röhrchen gegen einen dunkeln Hintergrund (dunklen Rockärmel) hält. (Hellersche Ringprobe, Ringprobe von Biltz.)

Beurteilung.

Diese Probe ist zwar empfindlich und zuverlässig (0,02 Eiweiß pro mille nachweisbar), wenn man die Vorsichtsmaßregeln nicht außer acht läßt.

Bei 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 Harnen kann sich salpetersaurer Harnstoff, der aber deutlich kristallisiert, absetzen; durch Verdünnen des Harnes wird auch diese Abscheidung beseitigt.

Auftretende farbige Ringe (von Gallenfarbstoff, von Indigo, von Urorosëin herrührend) haben mit der Eiweißreaktion nichts zu tun und können auch nicht verwechselt werden, da die Trübung fehlt.

Mucinhaltiger Harn gibt einen opalisierenden, keinen scharf begrenzten, über der Grenzschicht gelegenen Ring, der sich aber beim Umschütteln löst; auch Nukleohistone lösen sich wieder. Der positive Ausfall der Probe kann auch durch reichlich vorhandenes Nukleoalbumin veranlaßt sein, und zwar wird dieses um so vollständiger durch Salpetersäure ausgefällt, je verdünnter der Harn ist; Eiweiß wird im Gegensatz hierzu durch Zusatz von Salzen bekannterweise noch vollständiger und leichter abgeschieden. Albumosen werden ebenfalls gefällt.

Nach Anwendung von balsamischen Stoffen (Copaiva, Tolubalsam u. s. w.) entsteht ebenfalls ein weißlicher Ring, von Harzsäuren herrührend, der beim Schütteln mit Alkohol verschwindet (Vorsicht!). Man macht lieber die Kochsalzprobe (s. diese) und hier den Alkoholzusatz.

3. Probe mit Ferrocyankalium-Essigsäure. (Boedecker.)

10 ccm des Harnes versetzt man bis zur stark saueren Reaktion mit Essigsäure (5 Tropfen) — tritt jetzt schon eine Fällung (Urate, Mucin u. s. w.) ein, so filtriert man diese ab — und fügt nach und nach einige Tropfen (1—3 Tropfen Überschuß wirkt lösend) Ferrocyankaliumlösung (1 : 20) hinzu; bei Gegenwart von Eiweiß scheidet sich ohne jede Erwärmung ein gelblichweißer, feinflockiger Niederschlag aus; bei ganz geringem Eiweißgehalt tritt die Trübung oder eine leichte Opaleszenz erst nach einigen Minuten ein. In sehr konzentriertem Harn 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, daß man einige Kubikzentimeter verdünnter Essigsäure mit wenigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung versetzt und diese Mischung vorsichtig auf den Harn schichtet. Eine ringförmige Trübung, wie bei 2, zeigt selbst die geringsten Spuren Eiweiß an.

Beurteilung.

Ist eine sehr empfindliche und verlässige Probe; durch Ringprobe noch 0,01 Eiweiß pro mille nachweisbar.

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.

Albumosen und Nukleoalbumine geben auch Niederschläge. Die Nukleoalbumine machen sich bei Anwesenheit größerer Mengen schon durch eine Trübung nach Zusatz von Essigsäure bemerkbar; in geringer Menge vorhanden, scheiden sie sich allmählich aus.

Mucin, das beim Ansäuern mit Essigsäure schon ausfällt, filtriert man dann erst ab. Die Albumosenniederschläge lösen sich in der Wärme in viel Essigsäure, mit Ausnahme der Heteroalbumose auch in Neutralsalzlösungen (NaCl).

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 mikroskopische Prüfung und Murexidprobe der Fällung Aufschluß.

4. Fällung durch Neutralsalze aus saurer Lösung.

5—10 ccm Harn werden mit Essigsäure (5 Tropfen) bis zur stark sauren Reaktion versetzt, hierauf wird ca. $^1/_6$ Volumen einer gesättigten Kochsalz- oder Glaubersalzlösung zugegeben und gekocht. Eiweiß scheidet sich meist in großen Flocken aus. 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; noch 0,05 Eiweiß pro mille damit nachweisbar; 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. Eventuell 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, auch kann man die Reaktion als Ringprobe anstellen, indem man den Harn auf die saure Salzlösung aufschichtet.

5. Spieglers Probe in der Modifikation nach Jolles.

Man gibt zu 4—5 ccm des event. zuerst filtrierten Harnes 1 ccm 30 % Essigsäure und 4 ccm von dem Reagensgemisch (10 g Quecksilberchlorid, 20 g Bernsteinsäure und 20 g Chlornatrium in 500 ccm Wasser gelöst), und zwar in der Weise, daß keine Mischung der beiden Flüssigkeiten eintritt, sondern diese übereinander geschichtet bleiben. Bei Eiweißgehalt bildet sich sofort ein deutlicher, scharfer, weißlicher Ring, der besonders schön hervortritt, wenn man das Reagens-

glas vor einen dunklen Gegenstand (dunklen Rockärmel) hält. Bei Mengen, die mittels Essigsäure und Ferrocyankalium nicht mehr erkannt werden, entsteht der Ring nach ungefähr einer Minute.

Beurteilung.

Ist die schärfste Probe, die wir besitzen; als Ringprobe noch 0,002 Eiweiß pro mille nachweisend; dadurch, daß Jolles den Kochsalzgehalt vermehrt hat, versagt die Probe auch bei sehr dünnem Harne nicht, so daß ein negativer Ausfall auch jedes Vorhandensein von Eiweiß ausschließt; in Verbindung mit der mikroskopischen Prüfung des zentrifugierten Harnes gestattet diese Probe, die geringsten Störungen zu erkennen. Nur ein scharf abgegrenzter deutlicher Ring zeigt Eiweiß an, nicht eine diffuse Trübung oberhalb oder unterhalb der Berührungsstelle. Falls nach dem Essigsäurezusatz Trübung von etwa vorhandenem Nukleoalbumin oder Mucin eintritt, filtriert man nochmals; auch kann man zur Abscheidung der eben genannten Stoffe den Harn (10 ccm) mit einem Tropfen Salzsäure versetzen, filtrieren und dann über die Quecksilberlösung schichten (Buchner).

Hemialbumose, nicht Pepton (Propepton?) 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 auch gefällt, dieses wird aber bei der Hellerschen Probe nicht ausgeschieden.

E. Pollaci[1]) hat die Methode auch modifiziert und wendet folgendes Reagensgemisch an:

1 g Weinsäure, 5 g Quecksilberchlorid, 10 g Chlornatrium in 100 ccm destillierten Wassers und 5 ccm 40 % Formaldehyd.

Die Probe wird als Ringprobe vorgenommen; es hat aber nur ein sich sofort bildender Ring pathologische Bedeutung, da auch bei normalem Harn im Verlauf von 8—15 Minuten schwache Ringbildung eintreten kann. Empfindlichkeit 1 : 370,000.

6. Probe mit Sulfosalizylsäure (Salizylsulfonsäure). (Roch, William.)

Man verwendet eine 20 % wässerige Lösung und gibt einige Tropfen dieser Lösung oder einige Kristalle der Sulfosalizylsäure in einige Kubikzentimeter Harn und schüttelt um. Geringe Mengen von Eiweißstoffen werden durch allmählich auftretende Opaleszenz, größere durch Trübungen und Niederschläge angezeigt.

Beurteilung.

Die Probe ist eine sehr empfindliche und einfache, auch am Krankenbette leicht vorzunehmende, und ist schon aus diesem Grunde recht zu empfehlen. Albumosen werden auch gefällt, die Trübung verschwindet aber beim Erhitzen.

Alkalischer Harn wird mit Essigsäure angesäuert oder es müssen größere Mengen des Reagenses zugegeben werden.

[1]) Boll. Chim. Farm. 1901. **40.** 789.

7. Probe mit Trichloressigsäure.

Man bringt in Harn einen kleinen Kristall von Trichloressigsäure oder gibt einige Tropfen einer 30 % Lösung zum Harne. Es tritt an der Berührungsfläche entweder des Kristalles oder der Lösung mit dem Harne eine Trübung auf. (Raabe.)

Beurteilung.

Auch diese Probe ist eine sehr empfindliche; in uratreichen Harnen kann ebenfalls eine Trübung entstehen; man wendet deshalb immer verdünnten Harn an.

Außer diesen im vorstehenden angegebenen Methoden sind noch eine große Anzahl anderer Proben empfohlen, die im folgenden noch kurze Erwähnung finden sollen.

8. Fällung durch Metaphosphorsäure.

Versetzt man Harn mit einer konz. frischen Lösung von Metaphosphorsäure oder am besten mit einem Stückchen Metaphosphorsäure, so entsteht bei Anwesenheit von Eiweiß ein weißer Niederschlag oder eine Trübung. (Grigg, Hindelang.)

Beurteilung.

Die Reaktion ist nach Versuchen von Penzoldt und von v. Noorden nicht ganz sicher, da auch einwandfreie 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 Zouchlos.

Das erste Reagens besteht aus 100 Teilen 10 % Rhodankaliumlösung und 20 Teilen Essigsäure, das andere aus 1 Teil verdünnter Essigsäure und 6 Teilen einer 1 % Sublimatlösung.

Ein tropfenweiser Zusatz des einen oder anderen Reagenses bringt in eiweißhaltigem Harne Trübung hervor.

Beurteilung.

Die Rhodankali-Essigsäureprobe ist sicher und bequem; die andere Probe ist weniger sicher und empfehlenswert.

10. Pikrinsäureprobe.

Man setzt eine kleine Messerspitze der Kristalle 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 Zitronensäure : 100 Wasser gleiche Teile zum Harne.

Beurteilung.

Kreatinin, ein bei Fleischkost besonders reichlich vorhandener Harnbestandteil, wird durch Pikrinsäure auch gefällt, ebenso Pepton, Mucin, Harnsäure. Bei Anwendung der Pikrinsäure in Kristallen ist ferner noch weitere Vorsicht ge-

boten, da durch zu geringen Zusatz von Kristallen Spuren von Eiweiß nicht angezeigt werden und bei Anwendung größerer Mengen von Kristallen die Beurteilung insofern schwieriger wird, als die Kristalle sich nicht vollständig lösen und auch normale Harne eine schwache Opaleszenz zeigen.

11. Probe mit Asaprol (Riegler).

Man setzt zu 4—5 ccm Harn 1—2 Tropfen Salzsäure und 10 Tropfen einer 10 % Asaprollösung oder man verwendet eine 10 % Lösung mit 0,1 Volumen Salzsäure.

Beurteilung.

Die Probe ist eine brauchbare. Die durch Albumosen und Propeptone entstandene Trübung verschwindet auch 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. Alménsche Probe.

Eine alkoholische, essigsäurehaltige Tanninlösung.

Beurteilung.

Ist unbrauchbar, da normaler Harn damit auch Fällungen geben kann.

13. Phenolprobe (Mehu-Millard).

Man schichtet den Harn auf das Reagens (2 Teile kristall. Phenol, 7 Teile Eisessig, 22 Teile Normallauge).

Beurteilung.

Normaler Harn kann ebenfalls eine flockige Ausscheidung geben.

14. Tanrets Reagens.

1,35 Quecksilberchlorid werden mit möglichst wenig Wasser in 3,32 Jodkali gelöst, mit 60 ccm Wasser verdünnt und mit 20 ccm Eisessig versetzt. Man setzt das Reagens tropfenweise zum Harne bis zum Eintritte einer Trübung oder eines Niederschlages.

Beurteilung.

Es werden auch andere Stoffe gefällt, nicht zu empfehlen.

15. Sozojodol in 10 % Lösung empfiehlt Guerin,

16. Kalium-, Natrium- oder Ammoniumpersulfat ebenfalls in 10 % Lösung empfiehlt Strzyzowski.

Man nimmt diese Reaktionen als Zonenreaktionen vor.

II. Farbenreaktionen.

Diese Reaktionen kann man als eventuelle weitere Bestätigung, daß die durch vorgenannte Reagentien verursachten Fällungen aus Eiweiß bestehen, anwenden. Man verwendet deshalb das bei der Vorprobe oder nach 2 erhaltene gut ausgewaschene Koagulum; wegen der Farbe desselben (Gallenfarbstoffe, Blut) können die Reaktionen nicht immer in Anwendung kommen.

1. 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 Niederschlag filtriert man ab); es entsteht beim Kochen eine rote Färbung des Eiweißes.

Beurteilung.

Die Reaktion kann durch Chloride und durch Ätherschwefelsäure 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 hierzu, nachdem die Lösung erwärmt oder erhitzt ist, tropfenweise 10 % Kupfersulfatlösung zugefügt, so wird nach dem Umschütteln die Flüssigkeit erst rosa, dann violett und zuletzt blau mit deutlichem rotem Stiche.

Beurteilung.

Diese Probe ist nur den Proteinsubstanzen eigen. 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.

4. Xanthoproteinreaktion.

Eiweißlösung, mit konz. Salpetersäure erhitzt, wird infolge Bildung von Nitroderivaten zitronengelb gefärbt, mit Ammoniak oder Alkalihydrat übersättigt rotgelb.

Das Ammoniak muß, mit konz. Salpetersäure versetzt, farblos bleiben, nur dann ist dasselbe verwendbar.

5. Furfurolreaktion.

a) Eine mit 2 Tropfen einer 15—20 % alkoholischen α-Naphtollösung und dann mit dem 4fachen Volumen konz. Schwefelsäure versetzte Eiweißlösung (man verwendet ca. 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).

b) Mit konz. Schwefelsäure und wenig Zucker auf ca. 60° erwärmt, entsteht Rotfärbung (Schultze).

c) Eine unter Erwärmen hergestellte Lösung von möglichst trockenem Eiweiß in Eisessig nimmt auf Zusatz von $1^1/_2$ Volumen konz. Schwefelsäure entweder sofort oder nach dem Erwärmen eine schöne violette Färbung und schwach grünliche Fluoreszenz an (Adamkiewicz).

6. Liebermannsche Probe.

Beim Erhitzen von Eiweiß (am besten vorher mit Alkohol und Äther behandelt) mit konz. rauchender Salzsäure entsteht eine violette Färbung. Wurster verwendet konz. Salzsäure mit $^1/_5$—$^1/_{10}$ Volumen konz. Schwefelsäure.

III. Reaktionen mit Reagentien 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 durch eine der unter I erwähnten Proben.

1. Probe mit Pavys Reagens.

In einige Kubikzentimeter des nicht zu konzentrierten Harnes wird eines der weißen Scheibchen (Zitronensäure), dann allmählich kleine Stückchen des gelben Scheibchens (Ferrocyannatrium) zugesetzt so lange, als sich die entstandene Trübung zu vermehren scheint.

2. Geißlers Eiweißreagenspapier.

Streifen Filtrierpapier werden mit konz. Zitronensäurelösung getränkt; andere Streifen werden mit 3 % Sublimatlösung, die 12—15 % Jodkalium zugesetzt enthält, getränkt und getrocknet. In 5 ccm des zu untersuchenden Harnes gibt man einen Streifen Säurepapier, dann einen solchen Sublimatpapier. Bei Anwesenheit von Albumin erfolgt Fällung oder Trübung.

Solche getränkte Papiere sind noch anderweitig empfohlen. Die Oliviers Reagenspapiere sind mit sehr konz. Lösungen von Zitronensäure, von Ferrocyankalium, von Kaliumquecksilberjodid, von wolframsaurem Natrium getränkt oder die Papiere sind sogenannte zusammengesetzte, mit Säure und Fällungsmittel getränkte (Pikrinsäure, wolframsaures Natrium, Kaliumquecksilberjodid + Zitronensäure).

Von der chemischen Fabrik von Eugen Dieterich in Helfenberg werden Eiweiß- und Zuckerreagenspapiere hergestellt, die sich in einem hübschen Etui befinden und denen die genaue Gebrauchsanweisung beigegeben ist (Preis des Etuis 2,20 M.).

Beurteilung.

Hierzu 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.

3. Stützsche Kapseln.

Die Gelatinekapseln enthalten Quecksilberchlorid, Chlornatrium und Zitronensäure. Man gibt den Inhalt der Kapsel in 3—4 ccm des Harnes, der eventuell noch mit dem gleichen Teile Wasser verdünnt wird. Da überschüssiges Eiweiß den Niederschlag löst, so muß der Harn genügend verdünnt angewendet werden.

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 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 allzu scharfen Methoden ja das im normalen Harne vorhandene Eiweiß nun auch angezeigt wird; ein solcher Befund darf aber niemals ohne die genaue mikroskopische Prüfung eines vorhandenen Sedimentes als pathologisch angesprochen werden.

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. In allen Fällen wird man sich über das Bestehen oder Nichtbestehen einer Albuminurie unterrichten können; nicht zu vergessen ist, worauf ich wiederholt hinweisen muß, auch die genaue mikroskopische Prüfung selbst der geringsten vorhandenen Trübung.

Zur raschen Orientierung für den Arzt am Krankenbette mögen die Proben mit Reagentien im trockenen Zustande in Anwendung kommen mit der Vorsicht, daß man den Ausfall mit den vorgenannten genauen Eiweißreaktionen kontrolliert; doch möchte ich dem Arzte für seine Zwecke besonders die Anwendung der Sulfosalizylsäure, da dieselbe in der Kristallform bequem mitzuführen ist, ebenso das Rieglersche Reagens anempfehlen. Diese Proben sind sehr empfindliche und genaue.

Die Farbenreaktionen kommen in der Praxis nicht in Betracht; sie sind als charakteristische Reaktionen der Eiweißstoffe überhaupt von Wert und können, wie bereits angeführt, zur weiteren Bestätigung, daß die erhaltenen Fällungen aus Eiweiß bestehen, Anwendung finden.

Quantitative Bestimmung des Eiweißes.

Über die Anwesenheit größerer oder geringerer Mengen Eiweiß geben bereits die qualitativen Reaktionen Aufschluß; ja 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.

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 allen Eiweißes hängt wesentlich von dem hierfür geeigneten Grade der Azididät 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.

Ausführung.

Man bringt 100 ccm des ursprünglichen oder von dem entsprechend verdünnten Harne in ein Becherglas, prüft die Reaktion und macht, falls derselbe nicht schon so sauer ist, denselben durch vorsichtigen Zusatz einiger Tropfen ganz verdünnter Essigsäure ganz schwach sauer (durch zu viel Essigsäure wird Eiweiß wieder gelöst). Man erhitzt den Harn im kochenden Wasserbade — das Becherglas mit Harn stellt man im Wasserbade auf einen darin befindlichen 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 Ab-

scheidung erfolgt, so kann man diese durch Zusatz eines oder zweier Tropfen ganz verdünnter Essigsäure, die man am besten mit einem Glasstabe einbringt, und nochmaliges Kochen erreichen.

Der Niederschlag wird möglichst rasch, um das Antrocknen des Eiweißes an die Glaswand zu verhindern, auf einem vorher bei 110—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 mit Hilfe eines Stückchen Schlauches und heißen Wassers entfernt werden. Das Filter wird noch mit heißem Wasser und nachher mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110—120° getrocknet und nach dem Wägen im Platintiegel vorsichtig unter Erhitzen der Wandseite des Tiegels verbrannt, verascht und gewogen; die Asche (mit dem Eiweiß mitgerissene Phosphate) wird von dem gewogenen Eiweiß in Abzug gebracht. Der Rest ist Eiweiß, das auf 100 Teile ursprünglichen Harnes oder auf die ganze Tagesmenge berechnet wird. Das ausgewaschene koagulierte Eiweiß kann man aber auch nach Kjeldahl behandeln und den Stickstoff desselben bestimmen. Gef. N × 6,25 (richtiger 6,3) = Eiweiß.

Beurteilung.

Diese allerdings etwas umständliche Methode liefert die einzig richtigen Resultate.

Um das Eiweiß bei jeder Reaktion — d. h. sauer muß der Harn sein — und vollständig zur Abscheidung bringen zu können, hat L. Devoto vorgeschlagen, dasselbe durch Ammonsulfat auszusalzen. Auf 100 ccm des sauer reagierenden Harnes (stark eiweißreicher wird ebenso wie bei der Scherer-schen Methode verdünnt) werden 75 g Ammonsulfat 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.

Beurteilung.

Bei harnsäurereichen Harnen ist aber dieses Verfahren nicht zu gebrauchen, zumal bei geringem Eiweißgehalt, da Urate mit ausgefällt und gewogen werden.

2. Nach J. Jolles.[1])

Prinzip.

Das abgeschiedene Eiweiß wird mit Permanganat in schwach saurer Lösung zu Harnstoff eventuell Ammoniak und Kohlensäure oxydiert und der

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1902. **41.** 589.

Stickstoff in einem Azotometer durch unterbromigsaures Natron freigemacht und gemessen. Durch Multiplikation des Stickstoffes mit dem durch Versuche gefundenen Faktor 7,68 berechnet sich der Eiweißgehalt.

Ausführung.

100 ccm Harn (von eiweißreichem 25 oder 50 ccm) werden in einem Becherglase nach vorsichtigem Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure mit etwas Kochsalzlösung versetzt und unter beständigem Umrühren zum Sieden erhitzt. Die auf einem Filter gesammelte und chlorfrei gewaschene Eiweißfällung (s. bei 1) wird vom Filter mit warmem destilliertem Wasser in ein ca. 500 ccm fassendes Becherglas vollständig abgespritzt, so daß der Inhalt des Becherglases ca. 300—400 ccm enthält, 5 ccm einer Schwefelsäure (spezif. Gew. 1,4 = ca. 50 %) hinzugesetzt und der auf einem Drahtnetze erwärmte Inhalt des Glases bei ruhigem Kochen dann so lange mit je 1 ccm einer Kaliumpermanganatlösung (8 g : 1 Liter) auf einmal versetzt, bis der letzte Permanganatzusatz bei weiterem Kochen nicht mehr vollständig verschwindet, sondern sich unter Abscheidung von Braunstein zersetzt. Man dampft dann die Flüssigkeit bis zur vollkommenen Lösung des abgeschiedenen Braunsteins ein und wiederholt nun den Zusatz der Permanganatlösung in der erwähnten Weise und angegebenen Menge, bis die neuerdings bedingte Braunsteinabscheidung nach ca. $^1/_4$- bis $^1/_2$stündigem Kochen nicht mehr verschwindet. Sollte der Glasinhalt auf 100 ccm sich konzentriert haben und der Oxydationsprozeß (bei eiweißreichem Harne könnte dies der Fall sein) noch nicht beendet sein, dann verdünnt man die 100 ccm auf ca. 300–400 ccm und oxydiert nochmals in der geschilderten Weise.

Dann entfernt man die geringe Braunsteinabscheidung mit einigen Kristallen reiner Oxalsäure, konzentriert die Lösung auf ca. 50 ccm und setzt zu der erkalteten und beständig gekühlten Flüssigkeit in Kubikzentimetern 33 % Natronlauge (335 g NaOH : 1 Liter) hinzu, bis ein flockiger Niederschlag sich abscheidet und Lackmuspapier gebläut wird. Die Flüssigkeit wird dann in der S. 127 und 157 genau geschilderten Weise im Azotometer mit unterbromigsaurem Natron versetzt und das entwickelte Stickstoffvolumen gemessen; das aus der Tabelle S. 112 und 113 gefundene Gewicht des Stickstoffes mit 7,68 multipliziert, ergibt die in den angewendeten Kubikzentimetern des Harnes vorhandene Eiweißmenge.

Beurteilung.

Die Methode ist nach einiger Übung in kurzer Zeit durchführbar und kann für klinische Zwecke empfohlen werden, zumal da nach den Versuchen von Jolles mit dieser volumetrischen Methode recht brauchbare Zahlen erhalten werden.

3. Bestimmung durch Polarisation.

Ausführung.

Man bestimmt die Linksdrehung des schnell filtrierten, eventuell mit etwas Blutkohle behandelten und filtrierten Harnes direkt und dann die des vom Eiweiß befreiten Harnes. Die Differenz ergibt den Eiweißgehalt. Liegt zuckerhaltiger Harn vor, so bestimmt man die Drehung des Harnes direkt und dann ebenfalls die des vom Eiweiß befreiten Harnes.

Die Entfernung des Eiweißes nimmt man in der S. 27 angegebenen Weise vor.

Eiweißlösungen drehen die Polarisationsebene 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 (eventuell 189,4 mm-Rohr beim Gebrauch des Laurentschen Apparates) + 2,9°, nach dem Entfernen des Eiweißes + 3,3°, so wäre der Gehalt an Zucker 3,3 %, an Eiweiß 0,4 %.

Beurteilung.

Die Methode kann keine absolut sicheren Resultate geben, da das Drehungsvermögen der verschiedenen Eiweißstoffe (Albumin, Globulin) ein verschiedenes ist, gleichwohl ergibt diese Bestimmungsart immer noch zufriedenstellendere Resultate, wie andere für klinische Zwecke empfohlene und als genügend erachtete Methoden, wobei der Vorzug der Schnelligkeit der Ausführung der Probe noch in Betracht kommt.

4. Die densimetrische Bestimmung des Eiweißes.

Das Prinzip dieser von Lang, Haebler und Bornhardt, Budde, Huppert und Zahor in Anwendung gezogenen, näher studierten und modifizierten Methode beruht darauf, daß man das spezifische Gewicht des Harnes vor und nach der Abscheidung des Eiweißes durch Koagulation mittels des Pyknometers genau bestimmt und die Differenz in dem spezifischen Gewichte mit der Zahorschen Zahl (400) multipliziert.

Th. Lohnstein[1]) hat diese Methode wesentlich modifiziert; und zwar wird das ausgeschiedene Eiweiß 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

[1]) Arch. ges. Physiol. 1895. **59.** 479 und nach übersandtem Separat-Abdruck aus Medizinalkalender 1901.

von den beiden Lösungen das spezifische Gewicht mittels des genauen, von Lohnstein konstruierten Aräometers 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 Eiweißniederschlage nochmals in der schon angegebenen Weise verfahren; schließlich bringt man das Eiweiß auf das Filter und wäscht dieses mit heißem Wasser gut aus.

Den Filterrückstand, das Eiweiß, spritzt man dann, 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. = ca. 15 %) und löst eventuell unter gelindem Erwärmen im Wasserbade das Eiweiß auf. Nach dem Abkühlen bringt man diese Lösung am besten vermittelst eines Kapillartrichters 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 geaicht wurde, auf. Ein zweites Meßkölbchen, oder wenn man nur über eines verfügt, das von der Eiweißlösung mittels des gleichen Trichters 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 u. s. w. In den beiden Lösungen (also Eiweißlösung in Lauge und Lauge für sich verdünnt) bestimmt man mit dem Lohnsteinschen Präzisionsurometer (S. 231) das spezifische Gewicht, nachdem man die Gefäße mit den beiden Lösungen 5—10 Minuten in ein Wasserbad bei ca. 15° eingestellt hat.

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.

Beispiel: $s_1 = 1017{,}8 \quad t_1 = 18°$ C.
$s_2 = 1016{,}5 \quad t_2 = 18{,}5°$ C.

$$s - s_2 = 1{,}3; \text{ Temperaturkorrektion} = \frac{0{,}5}{5} = 0{,}1;$$

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 10-fache, 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 kontrolliert und dieselbe für ganz brauchbar befunden. Ich habe allerdings die Bestimmung des spezifischen Gewichtes mit dem Pyknometer, in welchem die Eiweißlaugenlösung und die Lauge allein nach S. 314 aufgefüllt war, vorgenommen. Bemerkt mag sein, daß man das spezifische Gewicht der Laugenlösung nur hie und da zu kontrollieren braucht.

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 Bestimmungsmethoden in Vorschlag gebracht worden, wozu zu bemerken ist, daß man mit jeder derselben 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	ca. 2—3 %
„ solches über die Hälfte	„ 1 „
„ Koagulum zu $^1/_3$	„ 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 „

Beurteilung.

Diese Methode ist nur eine ganz rohe.

b) Die approximative Bestimmung von Roberts und Stolnikoff, modifiziert von Brandberg.

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 Reagensgläser, hinter denen ein schwarzer Hintergrund (Glanzpapier) sich befindet, mittels einer Pipette, ohne die Glaswandungen zu benetzen, eine ca. 1 cm hohe Schicht konzentrierter Salpetersäure und fügt dann vermittelst eines in eine sehr feine Spitze ausgezogenen Glasröhrchens etwa das gleiche Volumen des verschieden verdünnten Harnes 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 welcher die Ringbildung innerhalb 2—3 Minuten eintritt, für die Berechnung zu Grunde.

Von dem zu prüfenden Harne hat man sich eine 10fache Verdünnung hergestellt, wobei man von dem Harne 10 ccm mit einer Pipette abmißt, in einen 100 ccm-Kolben gibt und bis zu 100 ccm mit destilliertem Wasser auffüllt. Mit dieser Verdünnung stellt man die erste Probe an; erscheint der Ring zu frühe, dann ist der Harn weiter zu verdünnen; man mißt in Reagensgläser je 10 ccm destilliertes Wasser, läßt hiezu der Reihe nach je 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u. s. w. ccm des 10fach verdünnten Harnes zufließen und mischt. Nun stellt man mit diesen Verdünnungen die Ringprobe an und beobachtet, welche Probe den Ring etwas zu früh und welche denselben 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 Trü-

bung 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 welcher die Reaktion eintritt, 0,0033 g Eiweiß vorhanden sind.

Beurteilung.

Daß die erhaltenen Resultate keine genauen sein können, liegt auf der Hand; indes vermag die Methode in der Praxis für schnelle Vergleichsanalysen immerhin Aufschluß zu geben.

c) Die Senatorsche Essigsäure-Ferrocyankalium-Probe 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 % Ferrocyankaliumlösung eine diffus stark ausgesprochene Opaleszenz geben.

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 eines mit dem 5fachen Volumen destillierten Wassers versetzten Quantums 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 % Eiweißlösung eine hinreichende Übung in der Beurteilung des Grades der Opaleszenz, um für annähernde Zwecke auch ohne Vergleichslösung auszukommen.

Ausführung.

Man verdünnt eine Probe des zu untersuchenden Urins so, daß eine Probe dieser Verdünnung im Reagensglase — man bedient sich gleich dicker Reagensgläser — mit $^1/_5$ Volumen konz. Essigsäure und 1 Tropfen 5 % Ferrocyankaliumlösung versetzt, die gleiche Opaleszenz gibt, wie dieselbe Menge der 0,01 % Normallösung in gleich dickem Reagensglase mit derselben Menge der Reagentien behandelt. War hierbei eine

[1]) Archiv ges. Physiolog. 1895. **59.** 479.

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.

d) 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 verdünnter Essigsäure, mit 2—3 Tropfen einer 10% Ferrocyankaliumlösung versetzt, entsteht.

Rößler verwendet aber neuerdings das Reagens von Spiegler-Jolles (S. 304), mit welchem man schärfere und ungefärbte Ringe erhält.

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 stärker wird die weiße Zone eintreten, deren Höhe man stets in der gleichen Zeit (nach 10 Minuten) und in gleichweiten Reagensgläsern vermittelst eines Zirkels abnimmt und die man auf eine gerade Linie auftragen kann.

Da die Höhe der Zone in direktem Verhältnis zum jeweiligen Eiweißgehalt 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 u. s. w.

Mit Hilfe dieser graphischen Darstellungen konnte Kußmaul, für welchen Rößler dieses Verfahren ausgearbeitet hatte, wichtige Schlüsse auf die Natur der Krankheit und auf die Beeinflussung der Eiweißmengen durch die Lebensweise ziehen.

e) E. Riegler[2]) gründet auf die vollständige Fällung des Albumins durch ein Gemisch gleicher Teile Asaprol und Zitronensäure eine annähernde Bestimmungsmethode des Eiweißes. In den Zylinder (Fig. 40) gibt man von dem Gemisch (dem Reagens) so viel, als der zum Apparate gehörende Löffel faßt. Man füllt bis A mit Wasser, schüttelt, um das Reagens zu lösen, und gießt dann bis U Harn in den Zylinder. Man

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1903. **29.** 335.
[2]) Apoth. Ztg. **72.** 89.

verschließt mit dem Kautschukstopfen und dreht den Zylinder zehnmal langsam um. Nach 24 stündigem Stehen gibt die Zahl des Teilstriches am Zylinder, welchen der Niederschlag erreicht, die Gramme Albumin in einem Liter Harn an. Das Asaprolreagens kann auch als 10 % Lösung angewendet werden.

Beurteilung.

Die Methode ist, wie alle anderen ähnlichen, selbstverständlich keine exakte; dieselbe wird aber für den Arzt zur Orientierung bei vergleichenden Versuchen immerhin brauchbaren Aufschluß geben.

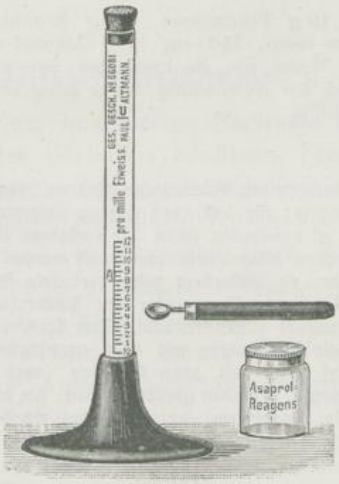


Fig. 40.

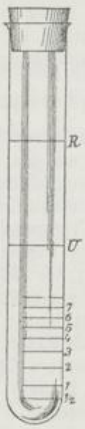


Fig. 41.

f) Bestimmung nach Esbach.

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 welchem das Eiweiß gefällt wird, ist eine Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Zitronensäure im Liter Wasser. Harn mit höherem spez. Gewicht wie 1,008 und einem Eiweißgehalte über 0,4 % ist entsprechend zu verdünnen.

Ausführung.

Sauer reagierender Harn — wenn dies nicht der Fall ist, so säuert man ihn deutlich mit Essigsäure an — wird in ein graduiertes Rohr (Albuminimeter), das inzwischen in verschiedenen Formen zur Anwendung gelangt (Fig. 41) bis zur Marke *U* eingegossen, darauf bis zur Marke *R* die Reagenslösung nachgefüllt, das Glas mit dem Kautschukstopfen ver-

schlossen und, ohne zu schütteln, 10—12mal langsam, zur Vermeidung von Luftblasen, umgekehrt. Man läßt es 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 diese von Einfluß ist; bei vorgenommener Verdünnung ist der Verdünnungsgrad in Rechnung zu ziehen.

Gawalowski empfiehlt 10 g Pikrinsäure, 20 g Zitronensäure in 500 ccm destillierten Wassers zu lösen, 350 ccm 95% Alkohol zuzusetzen und auf 1 Liter aufzufüllen. Wenn die Reaktion bei 40—60° C. vorgenommen wird, so verkürzt sich bei Anwendung dieses Reagenses die Zeit der Resultatablesung um die Hälfte.

Beurteilung.

Das Verfahren ist wie die vorigen ein Schätzungsverfahren, das nicht viel genauer ist, als das unter a genannte; für halbwegs genaue Untersuchungen ist es nicht zu empfehlen. Vor allem ist notwendig, wenn das Verfahren zur Diagnose bei der physiologischen und zyklischen Albuminurie verwendet werden soll, stets bei gleicher Temperatur zu arbeiten, da außerdem ganz verkehrte Resultate erhalten werden können, indem bei höherer Temperatur der Niederschlag infolge Verminderung der Viskosität sich stärker zusammenballt. Zum Schlusse mag noch aufmerksam gemacht sein, daß die Gradteilung mit dem quantitativen Eiweißgehalte nicht immer übereinstimmt, und daß auch Alkaloide (nach Einnehmen solcher) sowie Basen, ferner Harnsäure, Kreatinin gefällt werden, die meist kristallinisch (besonders Chinin, Antipyrin, Harnsäure) ausgeschieden werden; zweckmäßig wäre deshalb den Niederschlag noch mikroskopisch zu prüfen; die Eiweißfällung ist amorph.

g) Maßanalytische Bestimmungsmethoden.

Boedeker verwendet eine Ferrocyankaliumlösung in essigsaurer Lösung von bestimmtem Gehalte zum Ausfällen des Eiweißes, Tanret fällt mit einer Lösung von 3,32 g Jodkalium und 1,35 g Quecksilberchlorid in 100 ccm Wasser das Eiweiß aus, Wassilyew verwendet die Salizylsulfonsäure.

Beurteilung.

Die drei maßanalytischen Methoden geben aber unrichtige Resultate, sind unbrauchbar.

Wahl der Methode für die quantitative Eiweißbestimmung.

Genaue Resultate gibt die Methode 1, gute und brauchbare Zahlen erhält man mit den Methoden 2, 3 und 4; für klinische Zwecke genügt eine der annähernden Bestimmungsmethoden 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 Eimeißmenge schätzen lernt. Ich empfehle hiezu die Methoden 5b und 5c; die Probe 5d wird für die dort angegebenen Zwecke sehr vorteilhaft benützt werden können.

Trennung des Albumins vom Globulin. Nachweis des letzteren.

Das Globulin ist fast 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.

Qualitativer Nachweis.

1. Zum qualitativen Nachweis kann man die Eigenschaft des Globulins benützen, beim Verdünnen des Harnes durch eine Ausscheidung sich bemerkbar zu machen, da ja 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. Der Nachweis gelingt auch durch Einleiten von Kohlensäure in schwach mit Essigsäure angesäuerten Harn, wobei nach längerem Stehen flockige Ausscheidung erfolgt.
3. Man kann die Anwesenheit von Globulin auch noch daran erkennen, daß bei der Ferrocyankaliumessigsäureprobe oder 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 stark sauer reagieren und keine Albumosen enthalten; stark saure Harne versetzt man daher bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit Kali- oder Natronlauge, läßt einige Zeit stehen und filtriert einen entstandenen Phosphatniederschlag ab; harnsäurereiche Harne kühlt man einige Stunden auf 1° ab und filtriert die ausgeschiedene Harnsäure ab.

1. Von dem so vorbereiteten Harn mißt man nach Hammarsten[1]) je nach dem Eiweißgehalt 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 nun in den Harn mehr Magnesiumsulfat in fein gepulvertem Zustande ein (auf 100 ccm etwa 80 g), als er zu lösen vermag und rührt die Mischung sanft um. Nimmt nach 24 Stunden die Menge des ungelöst gebliebenen Magnesiumsulfats nicht mehr ab, — man kann auch in der Wärme bei 40° behandeln, es geht die Lösung schneller vor sich, nur muß man erkalten lassen, damit überschüssig gelöstes Salz erst vor dem Filtrieren auskristallisiert — so bringt man die Flüssigkeit mit den Globulinflocken auf ein gewogenes, vorher mit Bittersalzlösung angefeuchtetes Filter, rührt alsdann das zurückbleibende Salz wiederholt mit gesättigter Bittersalzlösung an und bringt auch diese Lösung auf das Filter, bis die Magnesiumsulfatlösung nach dem Verrühren des salzigen Bodensatzes klar bleibt. Das Filter wäscht man so lange mit gesättigter Bittersalzlösung aus, bis das Filtrat weder beim Erhitzen für sich, noch nach Zusatz von etwas Salpetersäure getrübt wird. Hierauf wird Trichter samt Filter mehrere Stunden bei 110° im Trockenschrank getrocknet, um das Paraglobulin in den unlöslichen Zustand überzuführen, sodann durch Auswaschen mit heißem Wasser vom Magnesiumsulfat vollständig befreit, mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und schließlich gewogen. Das Filter mit Rückstand verascht man und bringt die Asche vom gefundenen Globulin in Abzug. 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, — da bei saurer Reaktion auch das Serumalbumin gefällt wird — vom entstandenen Phosphatniederschlag wird abfiltriert und das Filtrat mit dem gleichen Volumen einer kalt gesättigten Ammoniumsulfatlösung versetzt.

[1]) Pflügers Archiv. **17.** 431 und 447; **22.** 437.
[2]) Archiv exp. Patholog. 1886. **20.** 426.

Sobald sich der weiße, flockige Niederschlag abgesetzt hat (nach einer Stunde), bringt man ihn mit 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. Dann behandelt man weiter wie oben angegeben.

Beurteilung.

Die zweite Methode ist einfacher; ein Verstopfen des Filters durch auskristallisierendes 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.

Will man eine ganz genaue Trennung der beiden Eiweißstoffe bei Gegenwart der Albumosen durchführen, dann löst man das durch Koagulation abgeschiedene Eiweiß in einer Neutralsalzlösung und nimmt dann eine der beiden Trennungen vor. Das auf dem Filter gesammelte Eiweiß läßt sich ohne Verlust leicht durch Abspritzen mit Wasser in das Becherglas bringen.

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 Globulin bestimmt; dieser gefundene Eiweißgehalt von dem Gesamteiweißgehalt in Abzug gebracht, ergibt als Rest Globulin.

C. *Fibrin.*

Fibrin kann neben Paraglobulin bei Erkrankungen der Nieren, bei Blutungen in den Harnwegen, sowie bei Chylurie, auch bei hochgradigen Exsudationsprozessen der Harnwege, bei Nierentuberkulose und bei Diphtherie, nach Gebrauch von Kantharidenpflaster vorkommen; dasselbe wird manchmal schon durch das Fibrinferment in der Blase koaguliert (Fibringerinnung) und in Flocken ausgeschieden, oder es koaguliert erst nach der Entleerung, indem aus der fibrinogenen Substanz festes flockiges oder gallertartiges Fibrin sich abscheidet, das mitunter mit Blut vermischt als feineres oder gröberes Blutkoagulum erscheint. (Fibrinurie.)

Nachweis.

1. Wenn sich Gerinnsel im Harn vorfindet, sei es in Flocken oder Fasern, so sammelt man dies auf einem Filter und wäscht den Rückstand tüchtig mit 5—10% thymolisierter Kochsalzlösung zur Entfernung von Blutfarbstoff aus, bis die Lösung keine Eiweißreaktion mehr gibt. Ein bleibender Rückstand deutet auf Fibrin, der

in der Wärme, nicht in der Kälte, mit 1% Sodalösung oder 0,5% Salzsäure digeriert, sich 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 Gegensatz 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. *Albumosen, Propeptone (Peptone).*

Bevor wir mit der Besprechung dieser digestiven Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe beginnen, muß, um alle Mißverständnisse ein für allemal zu beseitigen, erwähnt werden, daß unter dem Namen Pepton, Harnpepton nicht das typische Pepton, das wir als Endprodukt der Verdauung ansehen, zu verstehen ist, da dieses nach den Untersuchungen Stadelmanns u. a. sich nie im Harne vorfindet, sondern es handelt sich hier um eine Vorstufe desselben, jedenfalls um eine Deuteroalbumose.

Nach Neumeister ist es ebenfalls sehr unwahrscheinlich, daß überhaupt nachweisbare Mengen von echtem Pepton — übrigens ist Pepton auch kein einheitlicher Körper — im Harn vorkommen; des weiteren sind auch unsere existierenden Methoden zum Nachweis bezw. der Trennung von eventuell vorkommendem Peptone von den Albumosen ungeeignet.

Die klinische Bezeichnung „Pepton" hat nur Bezug auf das Propepton, Harnpepton.

Mit dem Namen Albumosen oder Propeptone (Proteosen, Hemialbumose) bezeichnet man ein Gemenge verschiedener Eiweißkörper, die als Übergangsprodukte bei der Pepsinverdauung zwischen Acidalbuminen und Peptonen entstehen, und zwar bildet sich hierbei als erstes Umwandlungsprodukt dieser hydrolytischen Spaltung des Eiweißes das Syntonin, aus welchem als weitere Spaltungsprodukte zunächst zwei verschiedene primäre Albumosen, die Protalbumose und die Hemialbumose, hervorgehen.

Aus jeder dieser primären Albumosen entsteht infolge weitergehender Umwandlung durch die Pepsinverdauung je eine unter sich wenig verschiedene Deuteroalbumose, die durch weitere Spaltung in die eigentlichen Peptone, womit die Wirkung der Magenverdauung ihr Ende erreicht hat, übergehen.

Mit Dysalbumose bezeichnet man eine Modifikation der Heteroalbumose, in welche diese bei längerem Stehen unter Wasser oder durch Trocknen übergegangen ist. Diese eben genannten vier Albumosen kennt man auch unter dem Namen „Verdauungsalbumosen".

Vorkommen.

Mit Hinweis auf die eingangs erwähnte Tatsache, daß das wirkliche Pepton bisher im Harne nicht nachgewiesen wurde, dürfen wir auch nicht von einer eigentlichen Peptonurie reden, sondern diese Peptonurie ist eben eine Albumosurie, bedingt durch das Vorkommen verschiedener Albumosen und albumoseartiger Stoffe, wohl vorwiegend Deuteroalbumose, die in einer besonderen Weise isoliert wurde.

Albumosen finden sich nicht selten im Harne, und zwar im pathologischen, wenn eine Rückverwandlung dieser Stoffe infolge ulzeröser Prozesse des Darmes in der Darmwand zu Eiweiß nicht oder ungenügend stattfindet; diese im Organismus nicht assimilierbaren Stoffe werden unverändert aus der Blutbahn durch die Nieren in den Harn befördert (Neumeister).

Eine solche Bildung findet statt bei Geschwüren des Darmes, bei Magengeschwüren, bei Magenkrebs; dieses Vorkommen der Albumosen und Propeptone hat man als enterogene Peptonurie bezeichnet, als pyogene, wenn sich diese Stoffe vorfinden infolge bakterieller Tätigkeit bei Eiterungsprozessen, bei großen Abszessen, bei tuberkulösen Prozessen, bei kroupöser Pneumonie, bei eitriger Phthise u. dergl., wobei die aus dem Eiweiß entstandenen Albumosen in den Kreislauf und zur Ausscheidung durch den Harn gelangen. Eine endogene, hämatogene Peptonurie beobachtet man bei Stoffwechselstörungen nach Phosphorvergiftungen, bei akuter Leberatrophie, bei Leberkarzinomen u. dergl.

Albumosen (Deuteroalbumosen) sind nachgewiesen bei fast allen fieberhaften Krankheiten, bei Pneumonie, bei Scharlach, bei Influenza, bei Diphtherie, bei Typhus, bei Tuberkulose, bei Masern (Albumosurie, Propeptonurie).

Was die Mengen betrifft, die ausgeschieden werden können, so sind solche von 0,06—0,6 % beobachtet worden, letztere Zahl bei Empyem und bei kroupöser Pneumonie.

Eigenschaften.

Die Albumosen bilden, wie die Eiweißstoffe, luftbeständige amorphe Pulver, sie sind leicht löslich wie die Eiweißstoffe, und zwar löst sich die Protalbumose 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. Sie lösen sich aber alle leicht in schwach sauren oder alkalischen Flüssigkeiten und in nicht zu konzentrierten Neutralsalzlösungen; durch Sättigen mit Ammonsulfat werden sie ausgeschieden, unvollständig die aus der Protalbumose entstandene Deuteroalbumose. Alkohol fällt die Albumose 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° bis 68,7° (Kühne und Chittenden) für die Heteroalbumose, 70,5—81,2° für die anderen Albumosen, wie man sieht, große Schwankungen.

Von den Eiweißstoffen unterscheiden sie sich 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 etwas verschieden verhalten, was auch zu ihrer Trennung wieder Verwendung finden kann.

Von den primären Albumosen wird die Heteroalbumose aus ihrer neutralen Lösung durch Kochsalzzusatz fast ganz, die Protalbumose zur Hälfte ausgeschieden, die sekundären Albumosen werden hierdurch 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 der Probe mit Pikrinsäure; erstere fallen leicht aus, die sekundären sehr schwierig und ganz unvollständig; ganz charakteristisch ist nach Neumeister das Verhalten gegen 2 % Kupfersulfatlösung, indem mit dieser noch Spuren der Protalbumose (1 : 10,000), dann auch aus der Lösung mit Neutralsalzen die Heteroalbumose gefällt werden, während die Deuteroalbumose selbst in konzentrierter Lösung durch die Kupfersulfatlösung 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 Kühnschen Peptons im Überschuß des Reagenses löslich, wenn salzfreie Lösungsflüssigkeit vorhanden ist (Kutscher). Von den Farbenreaktionen kommen die sämtlich S. 307 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 Ausscheidung erst nach Säurezusatz; bei Gegenwart von Neutralsalzen erfolgt durch Essigsäure und Ferrocyankalium keine Fällung (Verhalten wie das der sekundären Albumosen); Ammonsulfat gibt einen Niederschlag. Tannin fällt bei Gegenwart von Neutralsalzen, Phosphorwolframsäure bei Vorhandensein einer Mineralsäure das Harnpepton leicht aus.

Salpetersaures Quecksilberoxyd, Bleiacetat und Ammoniak, Platinchlorid scheiden das Harnpepton ebenfalls aus. Die Farbenreaktionen gibt dasselbe 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 durch Dialysieren von Kochsalz befreit, dann konzentriert und in viel absoluten Alkohol einfließen lassen. Diese ausgeschiedene Deuteroalbumose filtriert man ab, wäscht dieselbe 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 Protalbumosen getrennt; die letzteren, ebenso die Heteroalbumose, erhält man rein, wie bei der Gewinnung der Deuteroalbumosen angegeben ist.

Nachweis.

Beim Nachweis dürfte man nach den vorhandenen 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 Methoden unzureichend sind. Die nach diesen Methoden isolierten, als Peptone angesprochenen Eiweißprodukte sind eben keine eigentlichen Peptone, sondern Verdauungsalbumosen gewesen, die sich beim Abscheiden ganz und gar verschieden verhalten.

Der ganz sichere einwandfreie Nachweis der Albumosen, zumal kleinerer Mengen, bedingt die Entfernung vorhandener Eiweißstoffe, des Albumins und Globulins, des Mucins, des Nukleoalbumins, da wir zum Nachweise der Umwandlungsprodukte der eigentlichen Eiweißstoffe auch die allgemeinen Eiweißproben in Anwendung ziehen. Auf die Anwesenheit der Albumosen kann allerdings schon geschlossen werden, wenn die Kochsalzprobe, die Ferrocyankaliumprobe und die Salpetersäureprobe 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. Zur klinischen Vorprüfung auf Albumosen genügen die nachstehenden Proben; bei allen diesen findet aber die Abscheidung der Albumosen meistens in Form von Trübungen, nicht in Form von Flocken, wie beim Eiweiß, statt.

1. Kochprobe.

Man erhitzt 5—10 ccm Harn eventuell unter Zusatz einer Spur Essigsäure und filtriert heiß. Sind

Albumosen vorhanden, so trübt sich das Filtrat, welche Trübung durch Zusatz von Ammonsulfat dann noch verstärkt wird. Das erkaltete Filtrat gibt nach Zusatz von Kalilauge und von einem Tropfen Kupfersulfatlösung rotviolette Biuretreaktion. Besser gelingt noch die Reaktion mit der Kochsalzprobe; man verfährt, wie S. 304 angegeben, und filtriert sofort noch heiß.

2. Man nimmt die Ferrocyankalium-Essigsäureprobe vor; einen auf Zusatz von Essigsäure entstandenen Niederschlag filtriert man erst ab. Eine beim Erwärmen verschwindende, beim Erkalten wieder auftretende Trübung beweist die Anwesenheit von Albumosen.

Beurteilung.

Die Trübung ist in überschüssiger Essigsäure löslich; allein die Prüfung auf die Löslichkeit ist nicht immer sicher; mit Ausnahme der Heteroalbumose sind die Albumosen auch in Neutralsalzlösungen und infolgedessen auch in Ferrocyankalium löslich; deswegen sei man mit diesem Zusatz bei der Ausführung der Probe sparsam und vorsichtig. Die Prüfung der Löslichkeit der Trübung oder Fällung beim Erwärmen ist ebenfalls mit Vorsicht aufzunehmen, da Ferrocyanwasserstoff beim Erwärmen für sich einen weißen Niederschlag erzeugt, der an der Luft rasch blau wird. Wenn es sich um salzreiche Harne mit wenig Albumosengehalt handelt, kann die Reaktion ausbleiben; durch Verdünnen des Harnes gewinnt die Reaktion an Deutlichkeit.

3. Probe mit Salpetersäure.

Albumosehaltiger Harn gibt auf Zusatz von wenig Salpetersäure einen Niederschlag, der beim Schütteln verschwindet; bei weiterem Salpetersäurezusatz entsteht ein beim Erwärmen sich lösender, beim Erkalten aber wieder auftretender Niederschlag.

Wird solcher Harn nach dem Kochen mit etwas Salpetersäure versetzt, so entsteht bei Albumosenanwesenheit beim Erkalten oder Abkühlen ein weißer oder gelber Niederschlag, beim Erwärmen sich lösend.

Beurteilung.

Nicht ganz sichere Reaktion; albumosearmer Harn darf nur mit wenig Salpetersäure versetzt werden, wenn eine Trübung entstehen soll; bei der Einwirkung der Säure auf Eiweiß kann sich auch eine geringe Menge von Albumosen bilden.

Hat man mit diesen Reaktionen die Anwesenheit der Albumosen konstatiert, dann ist es nicht unwichtig, diesen Befund durch einen weiteren genaueren und

einwandfreien Nachweis noch bestätigt zu sehen. Man hat dann am besten die Albumosen und Propeptone zu isolieren, wozu folgende Methoden zu empfehlen sind.

In erster Linie hat die Entfernung der oben erwähnten Eiweißstoffe stattzufinden. Mucin und Nukleoalbumin kann man in der bei diesen angegebenen Weise zur Abscheidung bringen. Das Eiweiß soll man nach der Hofmeisterschen Methode entfernen; hiebei werden aber auch primäre Albumosen mit ausgefällt und auch die bei der Biuretreaktion störenden Farbstoffe nicht vollständig entfernt.

4. Verfahren nach Hofmeister.[1])

Nach F. Hofmeister wird ein halbes Liter Harn mit 10 ccm einer konzentrierten Lösung von Natriumacetat versetzt und dann tropfenweise eine konzentrierte Lösung von Eisenchlorid hinzugefügt, bis die Flüssigkeit bleibend rot geworden ist. Bei stark saurem Harn neutralisiert man beinahe, kocht und bringt nach dem Erkalten aufs Filter. Im Filtrate darf weder Eisen, noch Eiweiß vorhanden sein. Das Filtrat wird nun mit $^1/_{10}$ seines Volumens konzentrierter Salzsäure und dann mit einer sauren Lösung von Phosphorwolframsäure (man löst 200 g wolframsaures Natron und 120 g phosphorsaures Natron in 1000 ccm Wasser und versetzt diese Lösung mit 100 ccm konzentrierter Schwefelsäure) versetzt, solange ein Niederschlag entsteht. Der abfiltrierte, mit ca. 5 % Schwefelsäure enthaltendem Wasser gewaschene Niederschlag wird feucht mit festem Barythydrat verrieben, nach Zusatz von etwas Wasser kurze Zeit schwach erwärmt, bis die anfängliche Grünfärbung in ein reines Gelb übergegangen ist und die Mischung schließlich filtriert. Das Filtrat wird durch verdünnte Schwefelsäure vom Baryt befreit, das Filtrat eingeengt, die Lösung alkalisch gemacht und unter Umschütteln vorsichtig und tropfenweise mit verdünnter 1 % Kupfersulfatlösung versetzt; bei Anwesenheit von Harnpepton (nicht unter 0,1 g) tritt eine zuerst rosa, dann violett werdende Färbung auf (Biuretreaktion). Man kann den Phosphorwolframsäureniederschlag auch in kohlensaurem Natron lösen; man hat dann keinen Baryt auszufällen. Enthält der Harn Mucin, so entfernt man dieses durch Zugeben einer kleinen Menge (kein Überschuß) Bleiessig oder Bleizuckerlösung.

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1880. 4. 253; 1881. 5. 195; 1882. 6. 51. 264.

5. Nach Salkowski[1]) und v. Aldor.[2])

6—10 ccm Harn werden mit 1—2 Tropfen Salzsäure und mit soviel 5 % 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 durchschüttelt und abermals zentrifugiert; dies wird mit frischem Alkohol mehrmals wiederholt, bis derselbe farblos, bis das Urobilin entfernt ist. Der vom Alkohol befreite Bodensatz wird in etwas Wasser verteilt, in konzentrierter Natronlauge gelöst und Kupfersulfat zugesetzt.

Durch Vermeiden des Erhitzens und Entfernung des Urobilins, welches die Biuretreaktion vortäuschen kann, werden Fehlschlüsse vermieden.

6. Nach A. Jolles.[3])

10 ccm eiweißarmer Harn werden mit etwas Blutkohle kräftig durchschüttelt; das Filtrat wird mit 2 Tropfen Bleiessig versetzt und filtriert. Von eiweißreichem Harn (über 0,1 %) versetzt man 10 ccm mit einigen Tropfen 10 % Essigsäure, läßt aufkochen, neutralisiert mit einigen Tropfen 10 % 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.

Gibt brauchbare, für klinische Zwecke genügend empfindliche Resultate. In ganz ähnlicher Ausführung wurde die Methode auch von G. Freund[4]) empfohlen.

7. Zum Nachweise der Albumosen und Peptone neben Nukleoalbuminen kann man nach R. Neumeister verfahren, welche Methode auch wohl gestattet, die Art einer etwa vorhandenen Albumose festzustellen.

---

[1]) Centralbl. med. Wissensch. 1894. Nr. 7.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1899. **36.** 764 u. 785.
[3]) Pharm. Centralh. 1896. **37.** 432.
[4]) Centralbl. inn. Mediz. **22.** 647.

Ausführung.

Man konzentriert bei genau neutraler Reaktion bei 60—70° die Menge des Tagesurins auf ca. 1 Liter und übersättigt das Filtrat mit Ammoniumsulfat.

Ein sich ausscheidender Niederschlag A, der Nukleoalbumine und Albumosen enthalten kann, wird abfiltriert; das Filtrat prüft man noch weiter, ob sich nicht nach Zusatz von Alkali oder Säure, also bei alkalischer und saurer Reaktion, noch etwa Deuteroalbumosen ausscheiden; diese Fällung B und C filtriert man dann ebenfalls ab; das Filtrat dient zum Peptonnachweis (s. unten).

Den aus dem neutralen Harn gewonnenen Niederschlag A löst man in Wasser und prüft mit einer geringen Menge dieser Lösung, ob in derselben durch die Biuretreaktion Eiweißkörper überhaupt nachweisbar sind. Tritt die Reaktion ein, dann teilt man die Lösung in zwei gleiche Teile I und II.

Teil I wird in einem Dialysator dialysiert, bis das immer zu erneuernde Wasser keine Schwefelsäureaktion mehr gibt.

Ist Heteroalbumose vorhanden, so fällt diese bei der Dialyse aus und kann durch Filtration getrennt und durch die Biuretreaktion als solche identifiziert werden. Vorhanden gewesenes Nukleoalbumin wird beim vorsichtigen Zusatz von Essigsäure zum Filtrate ausgeschieden und kann näher charakterisiert werden (s. Nukleoalbumin).

Das Filtrat vom Nukleoalbumin dient noch zur weiteren Prüfung und Feststellung der Art der vorhandenen Albumosen, wenn die Prüfung des Teiles II mit den allgemeinen Reaktionen auf Albumosen ein positives Resultat ergeben hat. Dieses Filtrat — wenn Nukleoalbumin nicht vorhanden war, das von der abgeschiedenen Heteroalbumose oder der dialysierte Teil I überhaupt — wird genau neutralisiert und auf dem Wasserbade noch konzentriert; in die in einem Bechergläschen befindliche Lösung werden Steinsalzstückchen bis zur Sättigung eingestellt. Klarbleibende Lösung zeigt das Fehlen primärer Albumosen an; sind solche vorhanden, so

filtriert man eine Trübung oder Fällung ab und gibt zum Filtrate kochsalzgesättigte Essigsäure; eine Fällung oder Trübung zeigt das Vorhandensein von Deuteroalbumosen an. Diese letzte Reaktion wendet man an, auch wenn die allgemeinen Reaktionen auf Albumosen mit II nicht positiv ausgefallen sind, da Deuteroalbumosen vorkommen, die nur gefällt werden, wenn man in ihre saure Lösung Steinsalz bis zur Sättigung bringt.

Das Filtrat der Ammonsulfatfällung (s. oben) muß erst genau neutralisiert werden; dann wird es nach dem Verdünnen mit gleichen Teilen Wasser mit frischbereiteter Gerbsäurelösung vorsichtig tropfenweise versetzt; keine Veränderung der Flüssigkeit nach 24stündigem Stehen (Trübung oder Fällung) schließt das Vorhandensein der Peptone (?) aus. Ein entstandener Niederschlag wird filtriert, Filter mit Rückstand nach dem Trocknen über Schwefelsäure in einem Porzellanschälchen zerrieben, mit Barytwasser und noch etwas Ätzbaryt versetzt und ganz kurze Zeit (5 Minuten) auf dem kochenden Wasserbade erwärmt. Man filtriert, fällt das Filtrat mit Bleiacetat und stellt in der vom Blei befreiten Lösung die Biuretreaktion an.

8. Weitere Verfahren bezwecken die Abscheidung der Albumosen zum Nachweis des Harnpeptons. So werden nach Devoto[1])-Bang[2]) 20 ccm Harn mit 16 g feingepulvertem Ammonsulfat in der Wärme behandelt einmal aufgekocht und unmittelbar nach dem Aufkochen zentrifugiert; die Flüssigkeit gießt man ab, extrahiert den zerriebenen Rückstand einige Male mit Alkohol und erhitzt den mit einigen ccm Wassers versetzten Rückstand zum Sieden. Das Filtrat wird nach dem Ansäuern mit einigen Tropfen Schwefelsäure mit Chloroform geschüttelt, um die Spuren Urobilin noch zu entfernen, das Chloroform wird abpipettiert und die wässerige Lösung zur Biuretreaktion verwendet.

Nach anderen Angaben werden Albumosen durch Ammonsulfat aus dem neutralen Harn kalt ausgeschieden und das gesättigte Filtrat mit Gerbsäure auf Pepton geprüft.

Beurteilung.

Diese Verfahren berücksichtigen aber nicht das Vorhandensein der verschiedenen Albumosen und das ganz verschiedene Verhalten derselben.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. 15. 465.
[2]) Skand. Arch. Physiol. 1898. 8. 272.

Wahl der Methode.

Für klinische Zwecke sind, wie schon erörtert, die allgemeinen Reaktionen 1—3 genügend. Für wissenschaftliche Zwecke und zu einem einwandfreien Resultate bediene man sich der unter 4—7 angegebenen Verfahren.

Die Bence-Jonessche Albumose.

Bei der Gruppe der Albumosen haben wir noch zu erwähnen die Fälle von Albumosurie, bei welchen der Heteroalbumose ähnliche Eiweißkörper beobachtet werden konnten, so die Fälle von Bence-Jones, Byrom-Bromwell und Noel Paton, Huppert und Kahler, Kühne, Mathes und Neumeister, Rilbink. Bei dem von Byrom-Bromwell und Noel Paton, auch bei dem von Huppert beobachteten Falle schied sich nach einigem Stehen der Eiweißkörper sogar kristallinisch aus.

Die von den einzelnen Forschern beobachteten Eigenschaften dieser aufgefundenen Eiweißkörper stimmen selbstverständlich nicht überein, was ja auch gar nicht Wunder nehmen kann, wenn wir nur z. B. das ganz verschiedene Verhalten der verschiedenen Albumosen betrachten; weiter haben wir uns die Frage vorzulegen, werden diese Eiweißkörper einheitliche Körper sein? Gewiß ebensowenig, wie die Peptone.

Auffallend ist, daß dieser Körper meist in größerer Menge, bei Bence-Jones sogar zu 6,7 %, vorgefunden wurde, während sonst die Albumosen nur in geringerer Menge vorzukommen pflegen.

Nach Huppert, Kühne kommt diesen Körpern der Charakter einer Albumose zu oder sie sind als eine der Heteroalbumose ähnliche Substanz zu betrachten, nach Neumeister, Mathes ist diese Substanz aber mit keiner der bekannten Verdauungsalbumosen identisch, sondern muß als eine Substanz von eigener Art betrachtet werden.

Nach Neumeister entsteht dieser Bence-Jonessche Körper offenbar endogen und liegt es unter den obwaltenden Umständen — die Erkrankten litten an Osteomalacie — nahe, als Bildungsstätte das Knochenmark zu betrachten.

Nachweis und Darstellung.

Die Bence-Jonessche Albumose, wie nun einmal diese Proteinsubstanz genannt wird, ist leicht an dem ganz charakteristischen Verhalten beim Erhitzen des Harnes zu erkennen,

so daß sie nicht übersehen und auch nicht mit gewöhnlicher Albumose verwechselt werden kann.

Wird nämlich deutlich sauer reagierender Harn, der auch genügenden Salzgehalt besitzt — eventuell setzt man noch etwas konzentrierte Kochsalzlösung zu — bis auf 50° C. erhitzt, so trübt sich der Harn anfangs milchig und scheidet dann bei ca. 60° 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 welcher beim Abkühlen dieser Eiweißkörper wieder ausgeschieden wird. Mikroskopisch stellt der Niederschlag Kugeln ohne kristallinische Struktur dar. Hie und da wurde die Abscheidung eines kristallinischen starken Niederschlages beobachtet.

Zur Darstellung verfährt man nach R. Neumeister. Man salzt diese Albumose durch Ammonsulfat aus, preßt ab und trägt den noch feuchten Niederschlag in 3 % 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 diese Albumose 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 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, abfiltriert, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Eigenschaften.

Die so hergestellte Albumose ist phosphorfrei; (direkt aus dem Harn abgeschieden, konnte Phosphor nachgewiesen werden). Nicht getrocknet ist sie in kaltem Wasser in erheblicher Menge löslich; zu lange Berührung mit absolutem Alkohol veranlaßt ihre Unlöslichkeit in neutralen Lösungsmitteln; sie ist dann nach Zusatz von etwas Natriumkarbonat in Lösung zu bringen. Getrocknet ist sie in heißem Wasser nach Zugeben einiger Tropfen Sodalösung löslich.

Diese Lösungen bleiben bei der Dialyse unverändert; sie scheiden sich nicht ab (Unterschied von der Heteroalbumose); beim Einstellen von Steinsalzstückchen entsteht keine Trübung, erst nach Säurezusatz erfolgt Fällung (Unterschied von Proto- und Heteroalbumose). Mit Salpetersäure (Hellersche Probe) entsteht, ohne daß Salze zugegen sind, die charakteristische Fällung der Albumosen (Unterschied von Deuteroalbumosen). Bei Gegenwart von Säure und Salz entsteht bei 50—60° die Koagulation in der eben erwähnten, charakteristischen Form; ohne Säure- und Salzzusatz findet eine Koagulation nicht statt.

E. *Nukleoalbumine.*

Nukleoalbumine sind Verbindungen der Nukleine mit Eiweiß und kommen mit den anderen Eiweißstoffen im Protoplasma und in den tierischen und pflanzlichen Zellkernen vor. Nach K. A. H. Mörners[1]) Untersuchungen ist das Nukleoalbumin, das in nicht seltenen Fällen beim Zusatz von Essigsäure zum Harn als Trübung oder Niederschlag sich bemerkbar macht, nicht schon als solches vorhanden, sondern es wird erst durch den Zusatz von Säure erzeugt in der Weise, daß sich die im Harne in kleinen Mengen vorkommenden Säuren, die Chondroitinschwefelsäure, sowie die Nukleinsäure, auch die Taurocholsäure (diese besonders im ikterischen Harne vorkommend) mit den in jedem Harne vorhandenen Spuren Albumin zu einer unlöslichen Eiweißverbindung vereinigen.

Daß das reichlichere Auftreten dieses Nukleoalbumins durch einen Zerfall der Zellen und infolgedessen auch durch

[1]) Skand. Archiv. 1895. **6.** 338.

eine vermehrte Bildung von Nukleinen bedingt wird, ist erwiesen; denn wir finden eine solche Vermehrung bei allen fieberhaften Krankheiten, bei anderen pathologischen Zuständen, bei Katarrhen der Harnwege, der Blase, bei Leukämie, bei allen Nierenaffektionen, hier neben Eiweiß, auch bei Tuberkulose, bei Pneumonie, bei akutem Magenkatarrh, bei Chlorose. Daß die Nukleoalbumine ferner Phosphor enthalten, ist ebenfalls feststehende Tatsache, sie müssen also Verbindungen mit Nukleinen darstellen.

Nachweis und Darstellung.

Das Vorhandensein des Nukleoalbumins kann ebenfalls wie das der Albumosen schon bei der Vornahme der allgemeinen Prüfungen auf Eiweiß nicht unschwer erkannt werden.

1. Wir haben bei der Ausführung dieser Methoden gesehen, daß, wenn die sorgfältig vorgenommene Kochprobe negativ und die Hellersche Probe positiv ausfällt, entweder Nukleoalbumine oder Albumosen (ausgenommen Deuteroalbumose) vorliegen müssen, und daß diese beiden leicht zu trennen oder auseinander zu halten sind. Bei Anwesenheit von Nukleoalbuminen wird nämlich der Urin schon durch wenig Essigsäure allein gefällt, und zwar tritt diese Reaktion, ebenso die Hellersche um so deutlicher ein, wenn der Harn mit dem ca. 3fachen Volumen Wassers verdünnt war. Vor allem verraten die Nukleoalbumine ihre Anwesenheit dadurch, daß die Zonenreaktionen nicht scharf begrenzt erscheinen, sondern daß eine gleichmäßige Opaleszenz des überschichteten Harnes entsteht. Da nun noch zu unterscheiden ist, ob der hierbei entstandene Niederschlag von Mucin oder Nukleoalbumin herrührt, so verfährt man in folgender Weise:
2. Man verdünnt den Harn mit der dreifachen Menge Wassers zur Verhinderung der lösenden Wirkung der Harnsalze auf die Nukleoalbumine und versetzt mit Essigsäure; ein entstehender Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, gewaschen und in wässerigem Alkali gelöst. In die Lösung trägt man Magnesiumsulfat bei 30° ein, löst den entstandenen Niederschlag in Wasser, fällt nochmals mit Essigsäure und schmilzt den Niederschlag endlich

mit Soda und Salpeter. Ist in der Schmelze Phosphorsäure nachweisbar (S. 69), dann ist die Anwesenheit der Nukleoalbumine erwiesen.

Das Nukleoalbumin unterscheidet sich noch dadurch vom Mucin, daß dieses letztere ein sogenanntes Glykoproteid ist, eine Verbindung von Eiweiß mit einer Kohlehydratgruppe darstellt, während das Nukleoalbumin Phosphor enthält. Kocht man den auf Essigsäurezusatz erhaltenen Niederschlag mit verdünnter Salzsäure, macht mit Natronlauge schwach alkalisch und gibt Kupfersulfat zu, so tritt beim Erwärmen Reduktion ein, wenn im Niederschlag Mucin enthalten war. (Siehe noch S. 342.)

3. Nach Guérin geben Nukleoalbumine mit 10 % wässeriger Sozojodollösung in der Kälte schwache Trübung, beim Erwärmen werden sie vollständig gefällt.

Die Fällung mit Albumosen, Alkaloiden verschwindet beim Erwärmen.

Eigenschaften.

Die Nukleoalbumine besitzen noch ausgeprägter den Charakter von Säuren, als die Eiweißstoffe; sie sind unlöslich in Alkohol, in Äther und in Chloroform u. s. w., fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in wenig Alkali. Zum Unterschiede von Mucin lösen sich die Nukleoalbumine in starker Essigsäure; durch Magnesiumsulfat, bis zur Sättigung eingetragen, werden sie aus ihren Lösungen gefällt. (Unterschied von Nukleohistonen.)

Durch Behandeln mit Salzsäure, ebenso durch den Magensaft erfolgt schon in der Kälte Lösung, wobei sie aber gespalten werden in Acidalbumin, bezw. Albuminat und Nuklein.

F. *Die Nukleohistone.*

Zu den Nukleoalbuminen im engeren Sinne gehören die Nukleohistone, Substanzen, die nach Lilienfeld in allen Zellkernen vorkommen und die nach demselben Forscher unter gewissen Umständen im Organismus in ihre Komponenten, in ein Kernnuklein, Leukonuklein und in eine albumoseartige Substanz, Histon genannt, zerfallen. Besonders kann diese Umwandlung statthaben bei Krankheiten, bei denen ein ge-

steigerter Zerfall von Blutkörperchen nachzuweisen ist (bei Fieber nach Krehl und Mathes). Im Harne wurde in einem Falle von Leukämie von Kolisch und Burian und in einem solchen von Pseudoleukämie, sowie in eitrigen Harnen von A. Jolles Nukleohiston aufgefunden.

Nachweis und Bestimmung im Harne.

1. Nach A. Jolles[1]) werden 600—1200 ccm Harn etwa $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade bis 60—70° erwärmt und dann filtriert. Das Filtrat wird in einem Schüttelzylinder mit Essigsäure vorsichtig und, um den fein verteilten Niederschlag zum Absetzen zu bringen, mit etwas Kieselguhr geschüttelt. Der abgesetzte Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, mit Filter in ein Erlenmeyerkölbchen gebracht, mit ca. 4 % Natronlauge digeriert und dann filtriert. Aus dem Filtrat wird erneut durch Essigsäure der Eiweißkörper gefällt und die Reinigung desselben noch zweimal wiederholt. Bei der letzten Fällung mit Essigsäure wird das Gemisch mit Alkohol versetzt und der nach kräftigem Schütteln abgeschiedene Niederschlag auf einem Filter gesammelt, mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Filter mit Niederschlag wird mit Salpeter und Soda verascht und in der Asche nach S. 69 die Phosphorsäure bestimmt.

   Gefundenes $Mg_2P_2O_7 . 0{,}2783 = P$.

   Nach Lilienfeld zeigt das reine Nukleohiston einen Phosphorgehalt von 3,025 %.

Es unterscheidet sich von den Nukleoalbuminen 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 Nukleohistons im Harne bei Eiterungsprozessen.

   50—100 ccm eiweißfreier Harn werden nach J. Jolles[2]) mit 4 % Essigsäure schwach angesäuert, dann wird 10 %

[1]) Berl. Berichte. 1897. 33. 172.
[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1898. 25. 236.

Chlorbaryumlösung zugesetzt, bis keine Trübung entsteht, umgerührt und absitzen lassen. Man filtriert und bringt den Niederschlag mit Filter (dieses nicht auswaschen!) in ein Becherglas, übergießt den Niederschlag mit 10 ccm 1 % Salzsäure und läßt 3—4 Stunden stehen. Zur Ausfällung des Chlorbaryums setzt man festes Natriumkarbonat 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 Kieselguhr, das den mit Essigsäure hervorgerufenen Eiweißniederschlag mit niederreißt. Den abfiltrierten Niederschlag behandelt man samt Filter mehrere Stunden mit 1 % 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, eventuell durch Koagulation, in der Hitze Histon nachgewiesen werden.

3. Der Nachweis des Histons, zugleich Eigenschaften desselben.

Die Abspaltung der Nukleinsäure und Isolierung 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 ca. 1 % Salzsäure mehrere Stunden behandelt, dann filtriert und zu einem Teile des salzsäurehaltigen Filtrates Ammoniak zugesetzt. Starker flockiger Niederschlag oder Trübung ist für das Histon sehr 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 u. s. w. gefällt. In Wasser ist Histon löslich. Salpetersäure gibt einen Niederschlag, der beim Erwärmen verschwindet, beim Erkalten wieder kommt.

Eigenschaften des Nukleohistons.

Das Nukleohiston ist in Wasser löslich, ebenso in überschüssigen 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 Farkenreaktionen der Eiweißstoffe, schwach die Biuretreaktion. Mit Salzsäure behandelt spaltet es sich in Histon und in ein in überschüssiger Salzsäure und in verdünnten Neutralsalzlösungen lösliches Nuklein, Leukonuklein, das weiter in Eiweiß und Leukonukleinsäure zerlegt werden kann.

G. Mucin, Schleim, Harnmukoid.

Mucine sind Verbindungen der Eiweißstoffe mit Substanzen der Kohlehydratgruppe; dieselben kommen im Harne, besonders in dem der Frauen, häufig vor und stammen aus der Schleimhaut der Harnwege. Wir bemerken das Vorhandensein von Mucin schon an den sich bildenden Wölkchen (nubeculae) beim längeren Stehen des Harnes. 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.

K. A. H. Moerner[1]) unterscheidet auf Grund seiner Versuche eine ohne Anwendung von Wärme durch Absetzenlassen des mit Chloroform sterilisierten Harnes gewonnene und eine durch die Wärme veränderte, in Wasser lösliche Mucinsubstanz und bezeichnet diese mit dem Namen Harnmukoid.

Um Irrungen zu vermeiden, soll die alte gebräuchliche Bezeichnung beibehalten werden.

---

[1]) Skand. Archiv. 1895. 6. 338.

Nachweis.

Das Mucin wird, wie wir gesehen haben, bereits nach Zusatz von überschüssiger Essigsäure aus dem Harn ausgeschieden; bei der Hellerschen Probe erhält man, wenn Mucin vorhanden ist, einen opalisierenden Ring, der sich aber beim Umschütteln löst. Mucin ist also zum Unterschied von Eiweiß in Salpetersäure löslich. Was die Abscheidung betrifft, so verfährt man, wie bei der des Nukleoalbumins (S. 337), an welcher Stelle auch der Unterschied und die Trennung der Mucinsubstanz vom Nukleoalbumin angegeben ist. Nukleoalbumin enthält Phosphor, Mucinsubstanz ist frei davon, scheidet aber nach dem Erwärmen mit Salzsäure, wodurch seine Kohlehydratgruppe abgespalten wird, und nach dem Kochen mit alkalischer Kupferlösung behandelt nach einiger Zeit rotes Kupferoxydul ab.

Beurteilung.

Es ist nötig, daß vor dem Anstellen dieser letzten Probe die Substanz mit Alkohol zur Entfernung allenfalls vorhandenen Zuckers gewaschen wird. Zur Unterscheidung dieser Mucinsubstanz von der Eiweißverbindung mit Chondroitinschwefelsäure, die auch reduzierend auf alkalische Kupferlösung einwirkt, dient die Tatsache, daß die Chondroitinschwefelsäure bei der Behandlung mit Salzsäure Schwefelsäure bildet, die eigentliche Mucinsubstanz nicht. Man prüft deshalb die Lösung nach der Behandlung mit Salzsäure auf Schwefelsäure.

Übrigens gibt das Proteid der Chondroitinschwefelsäure in schwach essigsaurer Lösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung beim Kochen einen Niederschlag. Sulfosalizylsäure, Trichloressigsäure geben im Überschusse Eiweißfällungen, die im 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; beim Kochen tritt keine Koagulation ein. Große Mengen Salze können die Abscheidung durch sehr wenig Essigsäure oder Mineralsäure verhindern. Mucine geben die Farbenreaktionen der Eiweißstoffe. Bleiessig fällt das Mucin, ebenso Jodjodkali und Salzsäure.

Gang zum Nachweise der einzelnen Eiweißstoffe im Harne.

Ich empfehle folgende Arbeitsweise:

Man behandelt 30 ccm des vollkommen klaren, eventuell vorher filtrierten (Vorsicht s. S. 300) Harnes, der am zweckmäßigsten mit dem gleichen Volumen Wassers verdünnt wird, mit 3—4 Tropfen Essigsäure und läßt nach dem Um-

mit 5 p. c. Kochsalz, säuert mit Essigsäure an und bringt zum Kochen behufs Koagulierung des Albumins. Dann filtriert man und unterwift den klaren Harn der Biuretreaktion. Wenn diese positiv ausfällt, so gibt man zu 10 ccm Filtrat 1 ccm 5 prozentig. Ferrocyankaliumlösung und 10 Tropfen Essigsäure. Eine Trübung oder Niederschlag, welche beim Erhitzen verschwinden, beim Erkalten aber wiederkehren, zeigt die Anwesenheit primärer Albumosen an. In diesem Falle neutralisiert man 20 ccm der filtrierten Flüssigkeit und sättigt sie in der Kälte mit pulverisiertem Kochsalz, wobei die primären Albumosen ausfallen. Man filtriert und säuert das Filtrat mit Salpetersäure an. Ein beim Erhitzen verschwindender, in der Kälte wieder auftretender Niederschlag zeigt sekundäre Albumosen an. Falls diese beiden Reaktionen versagen, die Biuretreaktion aber trotzdem eintritt, so sind echte Peptone (Pepton Kühne) vorhanden. In diesem Falle sättigt man den frischen Harn mit Ammoniumsulfat, bringt ihn zum Kochen und filtriert, wobei die Albumosen auf dem Filter bleiben. Im Filtrat stellt man dann die Biuretreaktion an, event. nach Verdünnung und Entfärbung durch tropfenweises Hinzufügen von essigsaurer Tanninlösung.

Quantitative Bestimmung. 1. Totaleiweiß. Man gibt 50 ccm des filtrierten Harns in eine Porzellanschale, fügt 1 ccm Essigsäure und 2—3 g Kochsalz hinzu, bringt zum Kochen und rührt dabei einige Sekunden mit einem Glasstabe um, worauf man unter sorgfältigem Abspülen des Niederschlages diesen auf einem gewogenen Filter, welches man mit kochendem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion mit Wasser, dann mit Alkohol, endlich mit Äther auswäscht, bei 105° trocknet und wägt.

2. Globulin und Serin. In einem graduierten, mit Glasstöpsel verschlossenen Zylinder von 250 ccm Inhalt gibt man 100 ccm neutralisierten Harns und 80 g pulverisiertes Magnesiumsulfat und schüttelt bis zur Lösung des Salzes, wobei sich das Globulin in Form von Flocken abscheidet. Man läßt absetzen und liest das Volumen der Flüssigkeit ab (ca. 147—148 ccm). Die Hälfte der Flüssigkeit filtriert man ab, säuert das Filtrat mit Essigsäure an und bringt behufs Koa-

ıg zeigt die Anwesenheit von
deren Trennung und Nachweis
ıt.
direkt, enthält er Mucin und
:ehenlassen des unverdünnten
das Filtrat. Eine Probe des
en der Eiweißproben (S. 309)
anden, dann fällt man nach
fort (heiß filtrieren!) auf
in Becherglas, löst das Eiweiß
·al und trennt Albumin und
mmoniumsulfat nach S. 322.
iltrat von dem ausgeschiedenen
rhanden, dann scheiden sich
öst ihn in wenig Wasser und
ise. Die Bence-Jonessche
erhalten des Harnes beim Er-
hen, noch mit gewöhnlicher

n man auch zur Prüfung auf
nsulfat sättigen. Eine Fällung
noch besser genau nach der

Filtrat der Albumosenfällung
Wassers mit frisch bereiteter
arnpepton nicht vorhanden;
eine Deuteroalbumose bedingt
, allerdings umständliche Ab-

Flüssigkeit (Blutplasma)
ter dem Mikroskope er-
jen Blutkörperchen, die
en; aus der Ader aus-
Ausscheiden von Fibrin,
chen bildet; die übrig-

en den die Farbe des
n roten Farbstoff, das
ämatokristallin), das
Hämoglobin übergeht,
ses Hämoglobin, das
rundsubstanz des Oxy-
eignete Oxydationsmittel
verden. Hämoglobin,
aus einer Verbindung
dem Blutfarbstoff im

Zur Ermittlung der verschiedenen Eiweißstoffe im Harn gibt Grimbert (Journ. de Pharm. d'Anvers 1912, Nr. 13) genaue Anleitungen, nachdem er vorher die vielen Irrtümer beleuchtet hat, die durch schematische Harnuntersuchung entstehen. In Anbetracht der Wichtigkeit des Gegenstandes geben wir seine Ausführungen hier etwas ausführlich wieder:

Im Vorversuche fügt man zu 10 ccm filtrierten Harns 10 ccm einer gesättigten Kochsalzlösung und 2 Tropfen Salpetersäure. Es bildet

de
10-8-12

sich eine Trübung oder ein Niederschlag. Man bringt nun zum Kochen. Verschwindet dabei die Trübung, so handelt es sich nur um primäre Albumosen, bleibt sie bestehen, so hat man es mit Serin, Globulin oder essigsäurelöslichem Albumin zu tun. Nun filtriert man. Bleibt die filtrierte Flüssigkeit nach dem Erkalten klar, gibt aber die Biuretreaktion, so handelt es sich um sekundäre Albumosen oder Peptone. Gibt sie die Biuretreaktion nicht, so sind diese nicht vorhanden. Trübt sich die Flüssigkeit beim Erkalten und gibt sie die Biuretreaktion, so sind primäre Albumosen vorhanden.

Ausführung. 1. Echtes Eiweiß. 50 ccm Harn werden in einem Probierzylinder mit 15 g Natriumsulfat kalt gesättigt, worauf man mit einigen Tropfen Essigsäure deutlich ansäuert, in ein Reagenzglas filtriert, das man bis zu drei Vierteln anfüllt und dieses seitlich bis zum beginnenden Kochen erwärmt. Beobachtet man gegen eine schwarze Unterlage auch nur eine Trübung, so zeigt diese echtes Eiweiß an.

2. Essigsäurelösliches Eiweiß. Man bringt mit 2 p. c. Kochsalz versetzten Harn zum Kochen. Eine Trübung kann herrühren von Erdsalzen, von echtem Eiweiß, von essigsäurelöslichem Eiweiß oder einem Gemische dieser Substanzen. Man gibt nun einen schwachen Überschuß von Essigsäure hinzu. Verschwindet darauf die Trübung, so gibt man etwas Essigsäure (ca. $^1/_{20}$) hinzu und erhitzt von neuem; entsteht jetzt eine Trübung oder ein Niederschlag, so ist essigsäurelösliches Eiweiß vorhanden, andernfalls hat man es mit Erdsalzen zu tun. Bleibt die Trübung nach dem Essigsäurezusatz und Kochen bestehen, so handelt es sich um echtes Eiweiß. Man filtriert dieses ab und prüft das Filtrat auf essigsäurelösliches Eiweiß wie oben.

3. Serin und Globulin. Der Harn wird mit verdünnter Natronlauge (Phenolphthalein als Indikator) genau neutralisiert und mit Magnesiumsulfat übersättigt, worauf sich das Globulin flockig abscheiden würde. Man filtriert nun, säuert das Filtrat mit Essigsäure an und bringt zum Kochen. Ein Niederschlag besteht aus Serin.

4. Albumosen und Peptone. Nur mit frischem Harn ausführbar. Man versetzt den Harn mit 5 p. c. Kochsalz, säuert mit Essigsäure an und bringt zum Kochen behufs Koagulierung des Albumins. Dann filtriert man und unterwift den klaren Harn der Biuretreaktion. Wenn diese positiv ausfällt, so gibt man zu 10 ccm Filtrat 1 ccm 5 prozentig. Ferrocyankaliumlösung und 10 Tropfen Essigsäure. Eine Trübung oder Niederschlag, welche beim Erhitzen verschwinden, beim Erkalten aber wiederkehren, zeigt die Anwesenheit primärer Albumosen an. In diesem Falle neutralisiert man 20 ccm der filtrierten Flüssigkeit und sättigt sie in der Kälte mit pulverisiertem Kochsalz, wobei die primären Albumosen ausfallen. Man filtriert und säuert das Filtrat mit Salpetersäure an. Ein beim Erhitzen verschwindender, in der Kälte wieder auftretender Niederschlag zeigt sekundäre Albumosen an. Falls diese beiden Reaktionen versagen, die Biuretreaktion aber trotzdem eintritt, so sind echte Peptone (Pepton Kühne) vorhanden. In diesem Falle sättigt man den frischen Harn mit Ammoniumsulfat, bringt ihn zum Kochen und filtriert, wobei die Albumosen auf dem Filter bleiben. Im Filtrat stellt man dann die Biuretreaktion an, event. nach Verdünnung und Entfärbung durch tropfenweises Hinzufügen von essigsaurer Tanninlösung.

Quantitative Bestimmung. 1. Totaleiweiß. Man gibt 50 ccm des filtrierten Harns in eine Porzellanschale, fügt 1 ccm Essigsäure und 2—3 g Kochsalz hinzu, bringt zum Kochen und rührt dabei einige Sekunden mit einem Glasstabe um, worauf man unter sorgfältigem Abspülen des Niederschlages diesen auf einem gewogenen Filter, welches man mit kochendem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion mit Wasser, dann mit Alkohol, endlich mit Äther auswäscht, bei 105° trocknet und wägt.

2. Globulin und Serin. In einem graduierten, mit Glasstöpsel verschlossenen Zylinder von 250 ccm Inhalt gibt man 100 ccm neutralisierten Harns und 80 g pulverisiertes Magnesiumsulfat und schüttelt bis zur Lösung des Salzes, wobei sich das Globulin in Form von Flocken abscheidet. Man läßt absetzen und liest das Volumen der Flüssigkeit ab (ca. 147—148 ccm). Die Hälfte der Flüssigkeit filtriert man ab, säuert das Filtrat mit Essigsäure an und bringt behufs Koagulierung des Serins zum Kochen, worauf man dieses unter allen Vorsichtsmaßregeln sammelt, auswäscht usw. Das Gewicht des Globulins ermittelt man aus der Differenz zwischen Totaleiweiß und Serin.

3. Albumosen. Man gibt zu dem vom Albumin befreiten Harn 80 p. c. Ammoniumsulfat, bringt zum Kochen, filtriert, wäscht mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung, dann mit kochendem Alkohol aus, trocknet bei 100° und wägt, worauf man vom Gewicht die im Filter zurückgehaltene Menge Ammoniumsulfat abzieht, die man durch Auswaschen mit heißem Wasser und Titrieren mit Bariumsulfat bestimmt. Die Peptone lassen sich quantitativ nicht bestimmen.

deren Verkauf bes…

Auf Grund der §§ 43, 137 u. 139 des Ges… über die allgemeine Landesverwaltung … 30. Juli 1883, der §§ 6, 12 u. 15 des Gesetzes … die Polizeiverwaltung vom 11. März 1850 … der §§ 1 u. 2 des Gesetze vom 19. Juni 1883 …

selbst unmittelbar nach dem Trocknen nicht klebrig sein.

Eisengallusschreibtinte. Tinten, welche tiefdunkle Schriftzüge liefern, die nach achttägigem Trocknen an der Luft beim Auswaschen mit Wasser und Alkohol (85 und 50 p. c) tiefdunkel bleiben. „Tiefdunkel" entspricht etwa der Färbung einer Vergleichstinte von folgender Zusammensetzung: 1,56 g Tannin, 5,1 g Gallussäure (krist.), 20,0 g Eisenvitriol, 10,0 g Gummi arabicum, 2,5 g Salzsäure und 1,0 g Karbolsäure im Liter. Der Gehalt an wasserfreier Gerb- und Gallussäure soll mindestens 18 g, an Eisen (auf Metall berechnet) mindestens 2,6 g im Liter betragen. Anderseits darf der Eisengehalt bei der Gegenwart von 18 g wasserfreier Gerb- und Gallussäure 4 g im Liter nicht übersteigen. Das Verhältnis von wasserfreier Gerb- und Gallussäure: … 5 : 1

Nr. 980. ***Extr. Gland. Thyreoid. Dr. Kütt*** Ist die Zusammensetzung resp. Bereitungswe… von Extr. Gland. Thyreoid. nach Dr. Kütte … kannt?

Nr. 981. ***Dr. G. Fischers Normallösu…*** Ist die Zusammensetzung der Normallösung na… Dr. Guido Fischer bekannt? Dieselbe enth… Suprarenin und wird in der Zahnpraxis v… wandt.

Nr. 982. ***Hienfong-Essenz färben.*** Won… färbt man Hienfong-Essenz dauernd schön grü… Anilingrün hat sich nicht bewährt.

Antwort. Zum Färben von Hienfon… Essenz wird außer Anilingrün u. a. auch Chlor… phyll verwendet.

Nr. 983. ***Kindermehle.*** Bitte um Mitteilun… der Zusammensetzung von Kufekes und Nestl… Kindermehl.

Antwort. Die als Nährmittel für Kinde… benutzten sogen. Kindermehle sind im allg… meinen Gemische von eingedampfter Milch m… besonders präparierten, aufgeschlossenen Mehle… von Getreide oder Hülsenfrüchten. Einige en… halten auch keine Milch, in anderen ist da… Stärkemehl unverändert. Das Aufschließen d… Mehle geschieht zuweilen durch Durchfeuchte… mit verdünnten Säuren, die dann mit Calciu… karbonat wieder abgestumpft werden, oder durc… Behandeln mit Malz. Nestles Kindermehl wi… dargestellt aus Weizenmehl, das bei einer Te… peratur von 150 ° unter hohem Druck erhitz… um die Stärke des Mehles in Dextrin umzuwa… deln, dann mit einer gewissen Menge Kuhmilc… vermischt und bei niederer Temperatur unte… 40 ° eingetrocknet wird. Kufekes Kindermel… gehört zu den milchfreien Mehlen.

Nr. 984. ***Kunsthonig.*** Bitte um Mitteilun… einer Vorschrift zur Herstellung von Kunsthoni… im großen.

Antwort. Einen haltbaren Kunsthonig, de… dem reinen Bienenhonig ähnlich und zum Backe… usw. sehr geeignet sein soll, erhält man nach de… Angaben in Pharm. Ztg. 1910, Nr. 9 auf folgend… Art: Man löst wie beim Bonbonkochen 2 kg g… mahlenen Raffinadezucker in ca. einem halbe… Liter oder etwas mehr Wasser auf, bringt dies… auf schnelles Feuer und kocht wie beim Bonbo… kochen, schäumt den Zucker ab und läßt ihn … lange kochen, bis kleine Blasen erscheinen, worau… man 4 kg Stärkesirup hinzufügt und noch einm… aufkochen läßt. Sollte sich nochmals Schau… zeigen, so muß dieser entfernt werden, währen… das Kochen fortgesetzt wird, bis das Ganze kl… ist. Dann wird vom Feuer genommen und noc… während des Kochens eine Mischung von 25… bis 30,0 Ameisensäure und 50,0 Heliotropesse… oder Honigaromaessenz hinzugetan und inn… verrührt. Darauf wird der „Honig" sofort … Büchsen gegossen, die nach dem Erkalten z… verschließen sind. Solcher Kunsthonig da… natürlich nur unter entsprechender De… klaration, die seine Herkunft e… kennen läßt, gehandelt werden.

Nr. 985. ***Magenbittern.*** Um eine brauchbar… Vorschrift zu einem guten Apothekerbittern, s… wie zu Kurfürstlichem Magenbittern wird g… beten.

Antwort. Eine gute Vorschrift zu eine… nur durch Mischung herzustellenden Apothe… kerbittern ist folgende: Tinct. aromatic. 5,… — Gentian., — Calami aa 3,0, — Zingib., — Auran… cort., — Fruct. Aurant. immatur. aa 2,0, — China… cpst., — amar. aa 1,0, Aqu. amygd. amar., Spi… Angelic. cpst. aa 2,0, — Lavand., — Melissae cpst… aa 1,0, Spirit. 90 proz. 140,0, Aqu. dest. 160,0, Si… spl. 175,0. Sign.: Flittergold. Im übrigen finde… sich Vorschriften zu Apothekerbittern wohl i… jedem Apothekenmanual. — Kurfürstliche… Magenbitter soll nach einer Mitteilung i… Pharm. Ztg. 1909, Nr. 81 nach folgender Vorschri… erhalten werden können: 900,0 unreife Pomera… zenfrüchte, 350,0 geschälte Pomeranzenschale… 36,0 Nelken, 55,0 Cassia, 9,0 Kardamomen, 90… Ingwer werden mit 6 l Spiritus von 60 p. c. 8 b… 10 Tage digeriert, filtriert und das Filtrat m… 2 kg Raffinade versüßt.

Nr. 986. ***Mundwasser D. R. W. Nr. 3.*** Bit… um Bekanntgabe der Vorschrift zur Herstellu… des Mundwassers des zahnärztlichen Vereins … Hamburg, D. R. W. Nr. 3 bezeichnet.

Nr. 987. ***Perhydrolzahnpulver.*** Um Anga… einer Vorschrift zur Herstellung von Perhydr… zahnpulver wird gebeten.

Antwort. Sauerstoffabgebende Zahnpulv… erhält man nach einer Mitteilung in einer frü… ren Nummer der Pharm. Ztg. nach folgend… Vorschriften: I. 2500,0 kohlensaurer Kalk, 42… kohlensaure Magnesia, 150,0 Natriumperbo… werden innig gemischt, worauf man 70,0 Pfeff… minzöl und 4,0 Anisöl zusetzt und das Ganze no… mals durch ein feines Sieb treibt. — II. Kohl… saurer Kalk 1000,0, Magnesiumsuperoxyd 1… Seifenpulver 20,0, Menthol 1,0, Anethol 1,0, Be… mottöl 5,0. Bereitungsweise wie bei I. Ebe… kann zur Darstellung natürlich auch Magnesi…

schütteln ruhig stehen; eine Trübung und Fällung zeigt die Anwesenheit von Nukleoalbumin, Nukleohistonen, Mucin an, deren Trennung und Nachweis in der angegebenen Weise nach S. 338—342 erfolgt.

Bleibt der Harn klar, so verwendet man ihn direkt, enthält er Mucin und Nukleoalbumin, dann scheidet man diese durch Stehenlassen des unverdünnten Harnes mit 3—4 Tropfen Essigsäure ab und nimmt das Filtrat. Eine Probe des Filtrates prüft man dann im Reagensglase mit einigen der Eiweißproben (S. 309) auf die Anwesenheit von Eiweiß; ist dieses vorhanden, dann fällt man nach Probe 4 das Eiweiß und sammelt die Fällung sofort (heiß filtrieren!) auf einem Filter, wäscht aus, spritzt den Filterinhalt in ein Becherglas, löst das Eiweiß mit etwas Lauge (Normallauge), macht dann neutral und trennt Albumin und Globulin voneinander durch Magnesium- oder Ammoniumsulfat nach S. 322. Den nicht eiweißhaltigen, erhitzten Harn oder das Filtrat von dem ausgeschiedenen Eiweiß läßt man erkalten; sind Albumosen vorhanden, dann scheiden sich dieselben aus. Man sammelt den Niederschlag, löst ihn in wenig Wasser und prüft diese Lösung in der S. 334 empfohlenen Weise. Die Bence-Jonessche Albumose wird an dem ganz charakteristischen Verhalten des Harnes beim Erhitzen (S. 335) erkannt und ist weder zu übersehen, noch mit gewöhnlicher Albumose zu verwechseln.

Das Filtrat vom abgeschiedenen Eiweiß kann man auch zur Prüfung auf Albumosen neutralisieren und die Lösung mit Ammonsulfat sättigen. Eine Fällung wird abfiltriert und kann in der angegebenen oder noch besser genau nach der S. 332 erwähnten Methode 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; man müßte dann die S. 332 angegebene, allerdings umständliche Abscheidung versuchen.

H. *Blut und Blutfarbstoffe.*

Das Blut besteht aus einer klaren Flüssigkeit (Blutplasma) mit zahlreichen darin suspendierten, unter dem Mikroskope erkennbaren Gebilden, den roten und weißen Blutkörperchen, die bikonkave Scheiben ohne Kern darstellen; aus der Ader ausgetreten gerinnt das Blut leicht unter Ausscheiden von Fibrin, das mit den Blutkörperchen den Blutkuchen bildet; die übrigbleibende Flüssigkeit ist das Serum.

Die roten Blutkörperchen enthalten den die Farbe des Blutes bedingenden, stark eisenhaltigen roten Farbstoff, das Oxyhämoglobin (Hämatoglobin, Hämatokristallin), das leicht seinen Sauerstoff verliert und in Hämoglobin übergeht, das sich im venösen Blut findet. Dieses Hämoglobin, das zu den Eiweißstoffen zählt, ist die Grundsubstanz des Oxyhämoglobins; beide können durch geeignete Oxydationsmittel in Methämoglobin umgewandelt werden. Hämoglobin, Oxy- und Methämoglobin bestehen aus einer Verbindung eines Eiweißkörpers mit Hämatin, dem Blutfarbstoff im engeren Sinne.

Zum besseren Verständnis der Methoden des Blutnachweises müssen erst die einzelnen Eigenschaften der hauptsächlich in Betracht kommenden Körper des Blutes voraus Erwähnung finden (siehe S. 345).

Im Harn kann sich vorfinden unverändertes Blut mit noch nicht zerstörten Blutkörperchen, in welchem Falle die Farbe des Blut enthaltenden Harnes je nach der Menge desselben heller oder dunkler sein kann; 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 nur vom Blute oder noch von anderen pathologischen Zuständen herrührt. Häufig zeigt ein bluthaltiger Harn eine schmutzig braune, oft ganz dunkle Färbung, die Folge der Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin; auch kann blutiger Harn grünlichgrau erscheinen, wenn er alkalisch reagiert und zugleich Eiter in beträchtlicher Menge enthält.

Das Sediment, das sich beim Stehen eines solchen Harnes vorfindet, ist meist rotgefärbt und lassen sich in demselben unter dem Mikroskope die charakteristischen roten Blutkörperchen, wohl auch noch Blutzylinder, 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 Harnzylinder damit gefärbt. Die Erscheinung, bei welcher wirkliches Blut im Harn vorgefunden wird, bezeichnet man als Hämaturie.

Enthält der Harn nur Blutfarbstoff, Hämoglobin, Methämoglobin aus den gelösten Blutkörperchen, keine intakten Blutkörperchen, 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 Harn ist hier rot, schwarzrot (Methämoglobin), eiweißhaltig, enthält neben ausgeschiedenem Hämoglobin (Hämoglobinkörnern) auch Blutfarbstoff (kristallinisch), oxalsauren Kalk, öfters Gallenfarbstoff, Epithelzylinder.

Oxyhämoglobin	Hämoglobin	Methämoglobin	Hämatin
Kristallisierbarer, 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 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 Eiweißkörpers mit Hämatin; geht mit Sauerstoff in das Oxyhämoglobin über. Kristallisiert in violettroten, im durchfallenden Lichte in grünen Kristallen; 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. Eine Spur Hämoglobin mit Eisessig und einer Spur Kochsalz gibt Hämin (der salzsaure Ester des Hämatins, dunkelbraune rhombische Täfelchen), S. 348.	Kristallisiert in braunen, mikroskopischen Nädelchen oder Tafeln. Die Lösung ist braun, besitzt dieselbe Zusammensetzung, wie das Hämoglobin und zeigt ein charakteristisches Spektrum (Spektraltafel). Unterscheidet sich vom Oxyhämoglobin u. Hämoglobin dadurch, daß es durch Bleiessig gefällt 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 Karbonaten. Zeigt in saurer und alkalischer Lösung, sowie nach der Reduktion charakteristische Absorptionsstreifen (Spektraltafel). Durch Einwirkung konz. Schwefelsäure und 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.

Die Quelle der Blutung bei der Hämaturie ist eine verschiedene und kann das Blut aus den verschiedensten Teilen der Harnwege stammen; eine Kenntnis des Ursprunges der Blutung ist für die Beurteilung von großem diagnostischen Werte und entscheidet hier eine Untersuchung mit dem Mikroskope. Für eine Nierenblutung spricht eine geringe und gleichmäßige Blutmenge, innig mit dem roten, rotbraunen, auch fleischwasserfarbenen Harne gemengt ohne makroskopisch sichtbare Gerinnsel; im Sedimente finden sich die charakteristischen aus geronnenem Blute bestehenden Abgüsse der Harnkanälchen, Blut- und Faserstoffzylinder mit eingeschlossenen Blutkörperchen neben weißen, wie roten, in ihrer Gestalt öfters veränderten (kugelig, zum Teil zertrümmert) Blutkörperchen und neben anderweitigen Epithelzylindern, Nierenepithel, das manchmal fettig entartet ist; auch ist hier meist eine größere Menge Eiweiß vorhanden, als dem Blutgehalte entspricht.

Solche Blutungen finden sich bei akuter Nephritis, bei Intoxikationen mit nierenreizenden Giften (Kantharіden, Sublimat), bei Nierenkrebs, bei Tuberkulose der Nieren, bei hämorrhagischer Diathese.

Bei Blutungen aus dem Nierenbecken und aus den Ureteren finden sich stets Eiter, auch Blutgerinnsel, da diese Blutungen meistens durch Nierensteine veranlaßt werden, ferner Kristalle von Harnsäure, von oxalsaurem Kalk.

Bei Blasenblutungen fehlen die organisierten Stoffe (Zylinder) und die innige Mischung von Harn und Blut; wir beobachten einen geringen Eiweißgehalt, das Vorhandensein von Epithelien der Blase auch von geronnenem Blute (Fibrin); hier kommt es vor, daß der Harn anfangs klar gelassen wird und 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.

Bei Blutungen aus der Harnröhre endlich kommt Blut meist im Anfange der Entleerung des Harnes; auch werden durch Gerinnung des Blutes im Urethralkanal wurmförmige Gerinnsel ausgeschieden.

Hämoglobinurie wird veranlaßt besonders bei Vergiftungen nach Amylnitrit, Karbol, Arsen, Schwefelwasserstoffgas, nach chlorsaurem Kali, Naphtol, Bakteriengiften, bei schweren In-

fektionskrankheiten (Scharlach, Syphilis, Blattern), auch nach

Vereinfachung der Haemin-
Blutprobe n. Teppe.
Kal. bromat.
Kal. jodat.
Kalium chlorid aa 0,1
Eisessig 100,
Von dieser Lösung bringt
man einige Tropfen zu der
Blutprobe u. verfährt mit
aufgelegtem Deckglas, bis
eine Verfärbung eintritt.
Man saugt dann unter dem
Mikroskop schon bei kleiner
Vergrößerung die Lösung
der Erystalle. Der Rückstand
der Lösung kann abgespült
und aufbewahrt werden.

(Chemiker-Zeitung 1912, S. 994.)

llich nicht vergessen, daß Blut im weiblichen
ühren kann.

ist als brauchbarste Methode die mikro-
örperchen zu nennen; zur Ermittelung der
roskopischen Prüfung der chemische Nachweis.
Hämoglobins, Methämoglobins, Hämatins von-
e Prüfung fast die einzig und allein richtige

n Harn wie zum Nachweis des
ien und fügt Spuren Salpeter-
heint das koagulierte Eiweiß nicht
oder minder braun gefärbt, da
l Methämoglobin koaguliert werden
veiß ausgeschieden wird.

h.

rs Probe) den Harn mit Natron-
und erwärmt, so gibt Hämoglobin
Protein und Hämatin (nach
chromogen), das von den ab-
osphaten aufgenommen wird; der
weiße oder grauweiße Niederschlag
oder schön blutrot, der wegen des
natins (Hämochromogen) bei auf-
grünlich erscheint, Dichroismus
e Niederschlag kann zur Hämin-
werden. Man löst die im Nieder-
Phosphate der Erdalkalien in Essig-
uet das ungelöste Hämatin zur Dar-
hmannschen Kristalle.

ch, so sind die Erdphosphate meist schon aus-
ie gefärbte Hämatinverbindung mit den Erdphos-
an vor dem Erwärmen diesen Harn entweder mit
n- oder Chlorcalciumlösung oder mit dem gleichen
Harnes.
enna, Rheum, Santonin, Purgatin in den Harn
assen auch eine Rotfärbung der Erdphosphate;
jedoch fehlt hier die Erscheinung des Dichroismus. Die Farbstoffe dieser Arznei-

Vereinfachung der Halmin-Kristallprobe n. Kippe.

Kal. bromat.
Kal. jodat.
Kalium chlorid aa 0,1
Eisessig 100,0

Der diese Lösung bringt man einige Tropfen zu der Blutprobe u. verdampft mit aufgelegtem Uhrglas, bis eine Verfärbung eintritt.

Man hebt dann unter dem Mikroskop schon bei kleiner Vergrößerung die Bildung der Krystalle. Der Verlauf der Lösung kann verfolgt oder verzeichnet werden.

Nachweis von Blut in Harn und in anderen physiologischen Flüssigkeiten.

Von Dr. Franz Michel - Luxemburg.

Die Empfindlichkeit der Guajakblutprobe läßt in Harnen bekanntlich häufig zu wünschen übrig. Verfasser konnte die Empfindlichkeit der Reaktion durch einen Zusatz von Pyridin erheblich erhöhen. Es werden dazu 4—5 ccm Harn mit ½—1 ccm alkoholischer Guajakharzlösung, ½ ccm Pyridin und 2 Tropfen 1%igen Wasserstoffsuperoxyds in 2%iger essigsaurer Lösung vermischt. Es ist auf diese Weise Blut durch die bekannte Grünblaufärbung noch in einer Verdünnung von 1:10—20 000 zu erkennen, und zwar tritt die Reaktion weit schneller ein als nach dem alten Verfahren.

Eine weitere verschärfte Reaktion, bei der der Blutfarbstoff durch Calciumchlorid und Natriumphosphat gefällt und das Guajakharzreagens durch das Leukomalachitreagens ersetzt wird, findet sich im Original beschrieben. Es soll sich nach dieser Methode Blut noch in einer Verdünnung von 1:200 000 nachweisen lassen, doch berichtet Verfasser, daß nach ihr auch normale Harne Grünfärbungen geben. —e.

(Chemiker-Zeitung 1912, S. 994.)

ein Rezept zur Anfertigung übergeben, welches von einem damals in Berlin anwesenden Arzte aus Nauheim stammte. Das sehr unleserlich geschriebene Rezept lautete auf eine sterilisierte Morphinlösung. Der Angeklagte hatte jedoch statt Morphin Atropin gelesen und demgemäß verwendet. Die Signatur des Arzneimittels war von einem anderen Assistenten derselben Apotheke, der auch das Rezept entgegengenommen hatte, geschrieben worden. Die Patientin — nebenbei gesagt die Frau des verordnenden Arztes selbst — erlitt infolge der äußerlichen Anwendung des Mittels einen leichten Ohnmachtsanfall; irgend welche weitere Schädigungen traten nicht ein. Die Verwechselung wurde angezeigt, und der Angeschuldigte hatte sich wegen fahrlässiger Körperverletzung zu verantworten. Vor der Ferienstrafkammer bestritt er, fahrlässig gehandelt zu haben, und schob die Schuld vielmehr auf den Mitarbeiter, welcher die Signatur geschrieben hatte. Er habe deutlich Atropin gelesen und geglaubt, es mit Augentropfen zu tun zu haben.

Die Sachverständigen gaben an, daß bei der niedrigen Gabe von einer ernstlichen Schädigung nicht geredet werden könne, und erkannten auch an, daß die Schrift so unleserlich sei, daß man recht wohl Atropin an Stelle von Morphin hätte lesen können. Stutzig hätte den Angeklagten aber nach der Ansicht des einen Sachverständigen der Zusatz

fektionskrankheiten (Scharlach, Syphilis, Blattern), auch nach starken Verbrennungen.

Nachweis.

Man darf selbstverständlich nicht vergessen, daß Blut im weiblichen Harne von Menstruationen herrühren kann.

Für die Erkennung des Blutes ist als brauchbarste Methode die mikroskopische Prüfung auf rote Blutkörperchen zu nennen; zur Ermittelung der Blutfarbstoffe dient außer der 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.

2. Macht man (Hellers Probe) den Harn mit Natronlauge stark alkalisch und erwärmt, so gibt Hämoglobin gleichfalls hierbei Protein und Hämatin (nach A. Arnold Hämochromogen), das von den abgeschiedenen Erdphosphaten aufgenommen wird; der bei normalem Harne weiße oder grauweiße Niederschlag ist dann braunrot oder schön blutrot, der wegen des ausgeschiedenen Hämatins (Hämochromogen) bei auffallendem Lichte grünlich erscheint, Dichroismus zeigt. Der erhaltene Niederschlag kann zur Häminprobe (4) verwendet werden. Man löst die im Niederschlage vorhandenen Phosphate der Erdalkalien in Essigsäure und verwendet das ungelöste Hämatin zur Darstellung der Teichmannschen Kristalle.

Beurteilung.

Reagiert der Harn alkalisch, so sind die Erdphosphate meist schon ausgeschieden, sedimentiert; um die gefärbte Hämatinverbindung mit den Erdphosphaten zu erhalten, vermischt man vor dem Erwärmen diesen Harn entweder mit einigen Tropfen einer Chlorbaryum- oder Chlorcalciumlösung oder mit dem gleichen Volumen eines normalen sauren Harnes.

Die bei Einnehmen von Senna, Rheum, Santonin, Purgatin in den Harn übergehenden Farbstoffe veranlassen auch eine Rotfärbung der Erdphosphate; jedoch fehlt hier die Erscheinung des Dichroismus. Die Farbstoffe dieser Arznei-

mittel können noch nach den bei den Arzneimitteln (s. d.) angegebenen Methoden identifiziert werden.

3. Kleine Mengen von Hämoglobin lassen sich nachweisen, wenn man nach Struve[1]) den Harn in einem Reagensgläschen 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 kristallisiert herstellen.

Harn mit alkalischer Fäulnis kann für diese Probe nicht verwendet werden.

4. Mikroskopisch chemischer Nachweis durch die Teichmannsche Häminprobe (Häminkristalle).

Man erwärmt auf einem Objektträger eine Spur Hämoglobin oder bluthaltigen Harn oder 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. Bei Gegenwart von Hämatin färbt sich die Flüssigkeit allmählich braunrot. Man läßt dann das Präparat bis auf 45° erkalten und bei dieser Temperatur allen Eisessig langsam verdunsten. Dann betrachtet man die braunen Stellen unter dem Mikroskop. Die hierbei entstandenen Häminkristalle erkennt man an ihren Farbennüancen zwischen rotbraun, kaffeebraun und hellbraun und an ihrer Form; sie bilden rhombische Täfelchen, die oft sehr dünn, der Länge nach ausgezogen und zu zweien oder mehreren über Kreuz liegen (Fig. 42). Noch deutlicher treten die Kristalle hervor, wenn man Glyzerin zum Präparate gibt. Verwendet man statt



Fig. 42. Häminkristalle (ca. 350fache Vergr.).

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1872. 11. 29.

Kochsalz Jodnatrium, so erhält man Kristalle von dunklerer Farbe. (Jodwasserstoffsaure Ester des Hämatins.)

5. Nach Lecanu kann man das gefärbte Koagulum (bloß kochen, eventuell nach Zusatz von etwas Eiweißlösung) im Harne 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 in Rot (Spektraltafel).

6. Guajakprobe Alméns (Almén-Schönbein).

Dieselbe beruht auf der Eigenschaft des Hämoglobins zu den sogenannten Ozonträgern, denen es das Ozon leicht entzieht, um es an andere Stoffe, hier an das Guajakharz abzugeben.

Man schüttelt gleiche Volumina frisch bereiteter (1 Teil Harz : 100 Teile absolutem Alkohol) Guajaktinktur und altes verharztes Terpentinöl 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 Anwesenheit von Blut und Blutfarbstoff. Beim Umschütteln wird die Mischung mehr oder weniger blau.

Beurteilung.

Die Probe ist sehr empfindlich, jedoch nicht absolut beweisend, zumal auch die Nukleoproteide des Eiters und Oxydationsmittel 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.

7. Nach O. Rossel.[1])

Der mit Essigsäure stark angesäuerte Harn wird mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit einigen Tropfen Wassers und mit 15—30 Tropfen alten Terpentinöls oder mit 5—10 Tropfen frischen Wasserstoffsuperoxyds geschüttelt und dann mit 10 bis 20 Tropfen einer ca. 2% stets frisch zu bereitenden Barbadosaloinlösung (in 70—90% Alkohol) geschüttelt.

[1]) Schweiz. Wochenschr. Pharm. 1901. **39.** 557.

Bei den minimalsten Blutfarbstoffmengen tritt nach ganz kurzer Zeit deutliche Rotfärbung der wässerigen Schicht ein.

8. 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.

Fig. 43 zeigt einen größeren Spektralapparat (Kirchhoff-Bunsen). Derselbe besteht aus einem Prisma P und aus drei auf einem Stativ ruhenden Röhren.

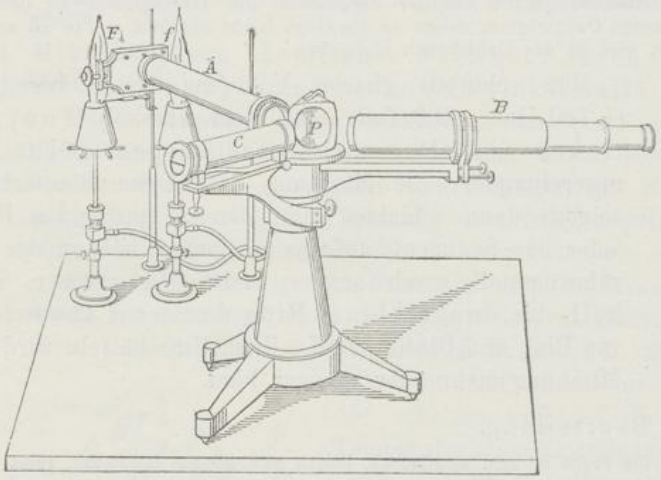


Fig. 43.

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—8 maliger Vergrößerung wird das Spektrum beobachtet. Um in demselben zum Messen geeignete feste Punkte herzustellen, befindet sich in dem Rohr C eine durchsichtige Skala, die von außen durch eine Flamme beleuchtet ist und deren Strahlen, nachdem sie durch eine Linse parallel gemacht sind, von der Vorderfläche des Prismas in das Fernrohr reflektiert werden und so mit dem Spektralbündel in das Auge gelangen, wodurch dieses die Teilstriche an verschiedenen Stellen des Spektrums sieht.

Zur richtigen Einstellung des Apparates entfernt man das Prisma P und sieht durch das Kollimatorrohr bei mäßig geöffnetem Spalte; man zieht das Rohr mit dem Spalte so weit aus, bis die Ränder des letzteren scharf

begrenzt erscheinen; das Fernrohr *B* wird so eingestellt, daß man weit 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 soweit ein, daß die Teilstriche der Skala durch das Fernrohr scharf zu erkennen sind.

Zur Untersuchung des Harnes wird der filtrierte und nach Bedarf verdünnte Harn, der bei alkalischer Reaktion mit Essigsäure schwach anzusäuern ist, in ein Gefäß mit zwei planparallelen farblosen Glaswänden — Hämatinometer — (Reagensgläser können auch benützt werden) gebracht und dieses dicht vor den Spalt des Kollimatorrohres *A* so gestellt, daß die Strahlen der hinter dem Glasgefäß befindlichen stark leuchtenden Gas- oder Petroleumlampe senkrecht durch die Flüssigkeit hindurch gehen müssen.

Durch eine Lampe wird die Skala (Rohr *C*) beleuchtet und durch das Fernrohr *B* wird die Beschaffenheit des Spektrums und die Lage der Absorptionsstreifen mit der beleuchteten Skala bestimmt.

Ausgezeichnete Dienste leisten die eben so genaue Resultate gebenden und viel leichter zu handhabenden Taschenspektroskope von Browning oder Vogel; ja dieselben zeigen die Absorptionserscheinungen meist noch deutlicher und schärfer, als die großen Apparate. Man gibt in die Glasröhre den zu untersuchenden, filtrierten und eventuell verdünnten Harn, befestigt diese an dem Halter am Apparate, der vorher eingestellt wird, und sieht dann gegen eine Lampe, nicht ins direkte Sonnenlicht. Die im folgenden erwähnten Spektroskope können beide sehr empfohlen werden.

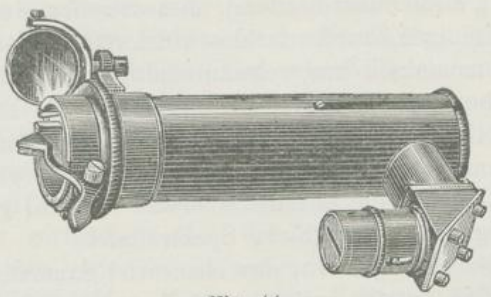


Fig. 44.

Die Fig. 44 zeigt ein Vogelsches Spektroskop,[1]) bei welchem das Vergleichsprisma nicht horizontal, sondern parallel ausgeschalten wird, wo-

[1]) Zu beziehen durch die Firma Hans Heele in Berlin.

durch das Vergleichsprisma stets in ein und dieselbe Lage zu dem Hauptspektrum zu stehen kommt und das Arbeiten ungemein erleichtert wird. Der Preis für dieses sehr empfehlenswerte Spektroskop beträgt 74 Mark.

Fig. 45 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 Rohr befindlichen mit dem Kollektivglase fest verbundenen Knopf wird die Fokuseinstellung für die verschiedenen Augen leicht bewerkstelligt. Der vorn am Rohr befindliche Spalt ist mit einer Glasplatte vor Staub geschützt, so daß das Spektrum stets rein ohne Querlinien erscheint. Eine beigegebene Vorrichtung ermöglicht das Halten von Reagiergläsern bei Absorptionsuntersuchungen. Dieses Spektroskop[1]) kostet nur 18 Mark.

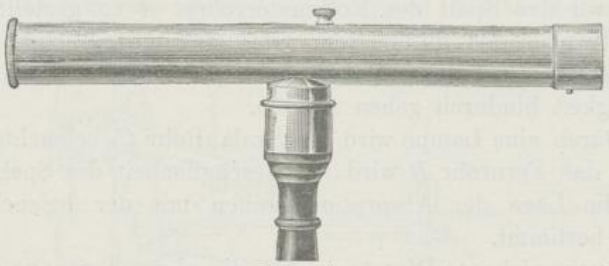


Fig. 45.

Neuerdings hat die gleiche Firma ein Universal-Spektroskop mit veränderlicher Dispersion konstruiert, das gestattet, mit verschiedener starker und schwacher Zerstreuungskraft zu arbeiten. Das Instrument ist mit verstellbarem Spalt, mit Skala mit beweglichem Beleuchtungsspiegel, mit Vergleichsprisma und mit Reagierglashalter ausgestattet.

Normales frisches Blut zeigt das Oxyhämoglobinspektrum, das auch immer noch entsteht, wenn Blutkörperchen vorhanden sind, 2 Absorptionsstreifen in 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 (Stockessche 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, und das unter der Einwirkung oxydierender Agentien, sowie von Säuren und sauren Salzen im Harne aus dem Hämoglobin und Oxy-

[1]) Zu beziehen durch die Firma Hans Heele in Berlin.

hämoglobin entsteht und das bei Hämaturie, meist aber bei Hämoglobinurie sich findet, zeigt in saurer und neutraler Lösung deutlich einen Absorptionsstreifen in Rot rechts von der Fraunhoferschen Linie *C*; drei andere schwächere liegen im gelben, grünen und blauen Teil des Spektrums. Dasselbe Spektrum zeigt Hämatin in saurer Lösung. In alkalischer Lösung zeigt das Methämoglobin drei Streifen, einen neben der Linie *D* am Anfange des Gelb, die beiden anderen sind den Streifen des Oxyhämoglobins ähnlich.

Durch Behandeln mit alkalischen Reduktionsmitteln (Schwefelammonium) geht das Methämoglobin in Hämoglobin (breiter Streifen) und dieses durch Schütteln mit Luft in Oxyhämoglobin über.

Eine weitere Probe des filtrierten Harnes kann man mit Essigsäure sauer machen und sowohl direkt, als auch nach dem 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 Stockesscher Lösung werden die beiden Streifen des reduzierten Hämatins (Hämochromogen) sichtbar, besonders der scharf begrenzte zwischen *D* und *E*. Die Streifen des reduzierten Hämatins stehen dem violetten Teil des Spektrums näher, als die ähnlichen Streifen des Oxyhämoglobins.

In bluthaltigem Harne wird man also, wenn noch Blutkörperchen vorhanden sind, die Streifen des Oxyhämoglobins sehen, oder es ist neben diesen Streifen der Methämoglobinstreifen (dieser auch allein) zu finden; endlich kann man nach dem breiten Streifen des reduzierten Hämoglobins sehen, das jedenfalls durch beginnende Fäulnis im Harn aus dem Methämoglobin entstanden ist. Sieht man

letztere Streifen, so kann man durch Schütteln der Harnlösung an der Luft die Oxyhämoglobinstreifen erzeugen.

Sicher ist der Nachweis des Hämoglobins im Harn, wenn es gelingt, nach Zusatz von Schwefelammonium zum Harne das Spektrum des sauerstofffreien Hämoglobins zu erhalten oder das Spektrum des reduzierten Hämatins zu erzeugen.

J. *Hämatoporphyrin.*

Das Hämatoporphyrin, eisenfreies Hämatin, dessen Bildung bereits S. 345 erwähnt wurde, und das in Spuren im normalen Harne vorkommt, wurde im Harne bei verschiedenen Krankheiten (Rheumatismus, Addisonscher Krankheit, Lebercirrhose, Leberkrebs, bei paroxysmaler Hämoglobinurie nach Bleivergiftungen) aufgefunden; besonders charakteristisch ist das Auftreten desselben nach längerem Sulfonalgebrauch, bei chronischer Sulfonalvergiftung; auch nach Trionalgebrauch ist im Harn Hämatoporphyrin vorhanden.

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 fast stets stark sauer. An der Wäsche entstehen braune Flecken mit violett schimmernden Rändern.

Darstellung und Nachweis.

Um den Farbstoff zu eliminieren, werden nach E. Salkowski[1]) 20—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. Oder man versetzt den Harn mit dem fünften Teil seines Volumens mit 10% Natronlauge und wäscht den Phosphatniederschlag ebenso aus. Aus den auf die eine oder die andere Weise erhaltenen Niederschlägen zieht man durch wiederholtes Aufgießen eines erwärmten Gemisches von 10 Teilen absoluten Alkohols mit 6—8 Tropfen Salzsäure das Hämatoporphyrin aus, oder man vermischt durch Verreiben des gefällten Niederschlages denselben mit einigen Tropfen Salzsäure und Alkohol, läßt einige

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1891. 15. 286.

Zeit stehen, erwärmt auf dem Wasserbade und filtriert die dann rotviolette Lösung.

Bei geringem Gehalt des Harnes an Hämatoporphyrin fällt man größere Mengen Harn mit Bleiessig und verfährt mit dem Bleiniederschlag wie angegeben (Behandeln mit salzsäurehaltigem Alkohol). Das gefärbte Filtrat wird nach dem Neutralisieren mit Ammoniak mit Baryt und Chlorbaryumlösung gefällt und dann weiter, wie angegeben, verfahren.

Man hat bei der Darstellung, besonders der letzten, darauf zu achten, daß der Alkoholauszug nicht mehr als einige Kubikzentimeter (bei reichlicher Anwesenheit 10 ccm) beträgt; alkalisch gewordener Harn (durch ammoniakalische Gärung) muß zum Lösen der Phosphate erst angesäuert werden.

Nachweis.

1. Die saure Lösung wird in einem Reagensglas mittlerer Breite bezw. in vierkantigen Gefäßen (S. 351) im Spektralapparat geprüft; es zeigt sich (Spektraltafel) ein Streifen vor *D* und ein zweiter breiter Streifen zwischen *D* und *E*; man macht dann die Lösung durch Ammoniakzusatz alkalisch; hierbei nimmt die Lösung einen gelben Farbenton an und zeigt im Spektrum vier Streifen vom roten bis zum violetten Ende des Spektrums und zwar folgt auf je einen schmalen Streifen ein breiter. (Spektraltafel.)
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 eventuell nach dem Verdünnen in einem engeren Reagensglase, zeigen sich die Streifen recht zart und undeutlich, dann benütze man die breiten vierkantigen Gefäße (Hämatinometer).

Bestimmung.

Eine ungefähre quantitative Bestimmung kann durch Vergleich des sauren alkoholischen Auszuges mit einer Lösung, die eine bestimmte Menge Hämatoporphyrin in saurem Alkohol gelöst enthält, vorgenommen werden.

Eigenschaften.

Das Hämatoporphyrin, isomer mit dem Bilirubin, ist eisenfrei und bildet braunrote, amorphe Flocken, die sich fast nicht in Wasser, in Äther, Benzol und in Chloroform, leicht in Alkohol, in ätzenden und kohlensauren Alkalien und in verdünnten Säuren lösen. Vom Hämoglobin unterscheidet es sich, daß seine Lösung in Essigsäure mit Guajakharztinktur und Terpentinöl keine blaue Färbung gibt. Die Hellersche Probe auf Blutfarbstoff tritt mit hämatoporphyrinhaltigem Harn ein; doch gibt solcher zum weiteren Unterschied von Hämoglobin keine Eiweißreaktionen, wenn nicht außerdem Eiweiß vorhanden ist. Hammarsten konnte aus mehreren Harnen das Hämatoporphyrin in Kristallen darstellen. Die alkoholischen Lösungen sind rot, ebenso die in verdünnten Säuren; Ammoniak bewirkt gelbliche Färbung. In warmer rauchender Salpetersäure löst es sich mit roter Farbe, die aber bald grün, dann blau und endlich gelb wird. Durch Kochen mit Zinn und Salzsäure wird es in einen Körper übergeführt, der Ähnlichkeit mit Hydrobilirubin hat. Mit Salzsäure bildet es ein in braunen Nadeln kristallisierendes Salz ($C_{16}H_{18}N_2O_3 \cdot HCl$), das durch Wasser zersetzt wird. Mit Natron bildet es kleine, braune, doppeltbrechende Kristalle ($C_{16}H_{17}NaN_2O_3 + H_2O$), in Wasser leichter löslich als das Chlorid. Mit essigsauren Salzen der Schwermetalle gibt es unlösliche, amorphe, rote oder braune Niederschläge. Hämatoporphyrin zeigt in saurer und alkalischer Lösung das schon erwähnte charakteristische Spektrum; das Hämatoporphyrin und seine Verbindungen sind sehr leicht veränderlich.

Nach Hammarsten[1]) scheinen verschiedene Hämatoporphyrine im Harne vorzukommen, da in einem Falle der isolierte Farbstoff in seinem spektroskopischen Verhalten kleine Abweichungen zeigte.

K. *Urorubrohämatin und Urofuscohämatin*

sind im Harne eines Leprakranken aufgefunden worden; der Harn war tief dunkelrot und wurde allmählich braun, zuletzt fast schwarz; der rote Harn zeigte das Oxyhämoglobinspektrum; überhaupt scheinen die beiden Farbstoffe mit dem Blutfarb-

[1]) Skand. Archiv. Physiol. 1891. 3. 319.

stoff in irgend einem Verhältnis zu stehen, Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und aus dem Hämatin durch Aufnahme von Wasser entstanden zu sein.

Kurzer Gang zum Nachweis von Blut im Harne und Wahl der Methode.

1. Man läßt eine größere Menge Harn in einem zylinderförmigen Glase mehrere Stunden stehen, gießt die klare Flüssigkeit ab und untersucht den etwa vorhandenen Bodensatz mit dem Mikroskope auf die Anwesenheit von Blutkörperchen, Blutzylinder.

2. Man stellt die altbewährte Hellersche Probe (Nr. 2) und dann Probe 4, die Teichmannsche Häminprobe, an.

3. Erfolgt die spektroskopische Prüfung, besonders wenn die vorerwähnten Proben keine positiven Resultate gaben.

35. Die Harnfarbstoffe.

Daß der normale mehr oder weniger gelb gefärbte Harn mehr als einen Farbstoff enthält, ist wohl als sicher anzunehmen, wenn auch diese Farbstoffe noch nicht alle eliminiert und charakterisiert werden konnten. — Außer den fertigen Farbstoffen (den präformierten) enthält der Harn noch eine Reihe sogenannter Chromogene, Farbstoffbildner, welche erst bei der Einwirkung der Luft, durch Oxydation, Farbstoffe erzeugen.

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.

A. Urochrom.

Als eigentlichen Farbstoff des Harnes müssen wir nach den Untersuchungen von A. E. Garrod[1]) das Urochrom betrachten, das dem Harne die gelbe Farbe erteilt und das in dem gefärbten Sedimente neben Uroerythrin stets vorhanden zu sein pflegt.

Das Urochrom scheint in naher Beziehung zum Urobilin zu stehen, da es bei vorsichtiger Oxydation in dieses übergeführt werden konnte.

Darstellung.

Die Darstellung, bei welcher nur ein geringer Teil gewonnen wird, beruht darauf, daß durch Ammonsulfat, mit dem der Harn gesättigt wird, Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin ausgefällt, das Urochrom aber zum größten Teil in Lösung gehalten und durch absoluten Alkohol (20—30 ccm : 100 ccm gesättigten Harn) entzogen werden kann.

Die alkoholische Lösung wird zur Reinigung in viel Wasser gegossen, mit Ammonsulfat gesättigt und die wieder abgeschiedene alkoholische Farbstofflösung mit festem Ammonsulfat unter schwachem Erwärmen entwässert, worauf man sie nach Zusatz von etwas Ammoniak (die Lösung muß alkalisch bleiben) auf dem Wasserbade erwärmt. Der zur Entfernung von Indoxylschwefelsäure mit Essigäther behandelte Rückstand wird wieder mit absolutem Alkohol stehen gelassen, dann eingeengt und 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.

Eigenschaften.

Das in Wasser und in gewöhnlichem Alkohol leicht lösliche Urochrom ist braun, amorph. Seine Lösung zeigt spektroskopisch weder Absorption noch Fluoreszenz. Durch Säuren zersetzt es sich leicht unter Bildung von braunen oder schwarzen Farbstoffen; mit Aldehyd entsteht ein dem Urobilin nahe stehender oder ähnlicher Farbstoff.

---

[1]) Proced. of the Roy. Soc. 1894. **55.** 394.

Die Entstehung brauner oder schwarzer Farbstoffe aus dem Harne durch Einwirkung von Säuren ist schon von Udránszky nachgewiesen worden und findet nun ihre Erklärung; ein Teil dieser Farbstoffe rührt aber, wie der genannte Forscher angegeben hat, auch von der Einwirkung der Säuren auf die Kohlehydrate 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.)

B. Uroerythrin (Purpurin).

Dieser Farbstoff bedingt die ziegelrote Färbung der Uratsedimente, des sedimentum lateritium und tritt sowohl im normalen Harne, reichlicher nach starkem Genuß von Speisen und besonders von Alkohol, nach starken Schweißen, besonders 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 Garrod[1]) 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 eventuell unter Erwärmen in etwas Wasser 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 mit 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 nun das Uroerythrin aufnimmt. Die mit Wasser gewaschene Chloroformlösung läßt man im Dunkeln verdunsten.

[1]) Journ. of Physiolog. 1895. **17.** 439.

Nachweis.

1. Ein an diesem Farbstoffe reicher Harn zeigt meist eine auffallende matt orangerote Färbung.
2. Eine verdünnte alkoholische Lösung 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 fluoreszieren nach Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung nicht, wie Urobilin.

   Charakteristisch ist, daß die Lösung bei Lichteinwirkung bald verblaßt und daß auch der Streifen bei *D* und *E* besonders leicht verschwindet.
3. Konzentrierte Schwefelsäure bewirkt karminrote, Alkalien (nicht Ammoniak) verursachen eine grüne (zuerst purpurne-blaue) Färbung.

Eigenschaften.

Das isolierte Uroerythrin ist amorph, rosa (krebsrot) gefärbt, leicht in Amylalkohol und in verdünntem Alkohol, schwer in Wasser löslich. Die Lösungen werden im Lichte bald gebleicht und zeigen die beim Nachweise angegebenen weiteren charakteristischen Eigenschaften.

C. Urospektrin.

Als eigentlichen Harnfarbstoff hält Saillet[1]) das Urospektrin. Genaueres ist jedoch über diesen Farbstoff noch nicht bekannt.

D. Urobilin.

Das Urobilin, von Jaffé zuerst aus dem Harn dargestellt, ist nach Saillet[2]) im normalen Harne eigentlich nicht vorhanden, sondern entsteht erst unter der Einwirkung des Lichtes und des Luftsauerstoffes aus dem Chromogen, dem Urobilinogen. Die gelbe Harnfarbe ist nicht, wie manchmal angenommen wird, durch diesen Farbstoff bedingt. Spuren des gebildeten Urobilins (0,02—0,08 in der Tagesmenge) können im normalen Harn wohl vorhanden sein. Vermehrt ist das Urobilin

[1]) Rev. de med. 1896. **16.** Nr. 7.
[2]) Ebenda. 1897. **17.** 114.

bei allen Krankheiten, durch welche ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlaßt wird, bei inneren Blutungen, bei Einwirkung blutzerstörender Gifte, bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten, bei Pyämie, Pneumonie, Skorbut, Malaria, bei Scharlach (im Gegensatz zu Diphtherie), ferner bei vermehrter Darmfäulnis, bei Gallenstauungen, bei Lebererkrankungen (Urobilinikterus), bei Bleikolik. Was die Entstehung und Bildung des Urobilins anbelangt, so erfolgt eine solche aus dem Blute und aus den Gallenfarbstoffen durch Bakterieneinwirkung auf das Bilirubin im Darme; hiefür spricht die Tatsache, daß das Urobilin beim Beginne oder beim Ausgange von Ikterus wesentlich vermehrt ist und daß Harn, der

[illegible] äußeren Merkmale

Ueber die Trennung des Urobilins von seinem Chromogen.

Von L. Grimbert.

Frischer Harn enthält bekanntlich kein freies Urobilin, sondern dessen Chromogen, das Urobilinogen, welches beim Schütteln des Harns mit Chloroform in diesen übergeht und nach vorausgegangener Oxydation zu Orobilin mittels alkoholischer Zinkacetatlösung durch die grüne Fluoreszenz nachgewiesen werden kann. Man kann das Urobilinogen auch durch Erhitzen seiner Chloroformlösung mit dem Ehrlichschen Reagens in Gegenwart von Alkohol erkennen; bei Anwesenheit von Urobilinogen färbt sich die Flüssigkeit purpurrot, während freies Urobilin keine derartige Färbung gibt. Schüttelt man eine Chloroformlösung von Urobilinogen mit einer gegen Phenolphthalein neutralen Lösung von

der Löschung des Brandes tätig gewesen, eine eingehenden Desinfektion unterziehen. — In der chemischen Fabrik von Mühling in Breslau entstand eine heftige Explosion. Ein Arbeiter wurde getötet, der Besitzer Herr Dr. Mühling erlitt erhebliche Verletzungen. — In der chemischen Fabrik von Dr. Wagner in Pfiffligheim bei Worms ereignete sich eine Kesselexplosion, wodurch Feuer ausbrach. Ein Arbeiter wurde lebensgefährlich verletzt. — Die Ärzte Dr. Biermans und Gothein, die sich zum Studium der Pest in China befinden, haben Zeitungsberichten zufolge bei einem Eisenbahnunfall in der Nähe von Tetschou Beinbrüche erlitten. — Die Ortskrankenkasse für Leipzig und Umgegend verausgabte im Jahre 1910 799 918 M. für Arznei und sonstige Heilmittel, 1 490 617 M. für ärztliche Behandlung. — Die Wurmkrankheit der Bergleute tritt, wie die Zeitungen berichten, im westfälischen Bergrevier wieder in vermehrtem Umfange auf und hat neue Untersuchungen notwendig gemacht. — Auf Grund des Quellenschutzgesetzes ist zum Schutze der als gemeinnützig anerkannten Quellen des Rhenser Sprudels und der Kaiser-Ruprechtquelle in Rhens ein weiterer und ein engerer Schutzbezirk errichtet worden. — Wegen wiederholter Diebstähle von Reißzeugen in der Technischen Hochschule in Charlottenburg wurde der rumänische Student

in die wässerige Flüssigkeit wird das Urobilinogen [illegible], wenn man stark verdünnt mit 10%iger Natronlauge. Der letzteren Lösung [illegible] ansäuern mit Phosphorsäure gezogen.

[illegible] den Harn mit Chloroform, schüttelt und versetzt das

[illegible] lischen Zinkacetatlösung, [illegible] verschwunden ist. Eine [illegible] Urobilin an. In diesem [illegible] entimetern einer Phenolphthaleinlösung ausgeschüttelt. [illegible] acetat keine Fluoreszenz [illegible], wenn das Chloroform [illegible] rendus 152, 727—28.)

[illegible] cheidetrichter abgelassene [illegible] Scheidetrichter behandelt [illegible] fflösung vorsichtig ver- [illegible] rmlösung fällt man mit [illegible] Urobilin auf einem Asbest- [illegible] in Chloroform und ver-

Zur Bestimmung von Urobilin im Harn wird von M. C. Carrez ein neues Verfahren vorgeschlagen, das wie folgt ausgeführt wird: 45 ccm Urin werden zunächst mit 30 ccm einer sauren Quecksilbersulfatlösung nach Denigès versetzt und nach dem Umschütteln filtriert. 50 ccm des Filtrates werden mit 1,0 Talkum geschüttelt und gleich filtriert, der Talk, der das Urobilin absorbiert hat, wird mit Wasser ausgewaschen und auf dem Filter mit dem Reagens von Oliviéro (Zinc. chlorat. 10,0, Liqu. ammon. caust. q. s. ad. solut., Spiritus 90 proz. 80,0, Aether acet. 20,0) behandelt. Bei Anwesenheit von Urobilin erhält man sogleich eine schön grün fluoreszierende Flüssigkeit. Man kann auch so verfahren, daß man den Talk mit 10 ccm mit Salzsäure angesäuerten Alkohols behandelt, das Filtrat im Scheidetrichter mit 5 ccm Chloroform nach Zugabe von 100—150 ccm Wasser durchschüttelt. Setzt man zum Chloroform nun nach dem Abtrennen und Filtrieren tropfenweise eine alkoholische Lösung von Zinkacetat 1 : 1000,0, so erscheint bei Anwesenheit von Urobilin ebenfalls eine schön grüne Fluoreszenz. (Répert. de Pharmacie 1911, Nr. 4.)

der Löschung des Brandes tätig gewesen, einer eingehenden Desinfektion unterziehen. — In der chemischen Fabrik von Mühling in Breslau entstand eine heftige Explosion. Ein Arbeiter wurde getötet, der Besitzer Herr Dr. Mühling erlitt erhebliche Verletzungen. — In der chemischen Fabrik von Dr. Wagner in Pfifflig-heim bei Worms ereignete sich eine Kessel-explosion, wodurch Feuer ausbrach. Ein Arbeiter wurde lebensgefährlich verletzt. — Die Ärzte Dr. Biermans und Gothein, die sich zum Studium der Pest in China befinden, haben Zeitungsberichten zufolge bei einem Eisenbahnunfall in der Nähe von Tetschou Beinbrüche erlitten. — Die Ortskrankenkasse für Leipzig und Umgegend verausgabte im Jahre 1910 799 918 M. für Arznei und sonstige Heilmittel, 1 490 617 M. für ärztliche Behandlung. — Die Wurmkrankheit der Bergleute tritt, wie die Zeitungen berichten, im westfälischen Bergrevier wieder in vermehrtem Umfange auf und hat neue Untersuchungen notwendig gemacht. — Auf Grund des Quellenschutzgesetzes ist zum Schutze der als gemeinnützig anerkannten Quellen des Rhenser Sprudels und der Kaiser-Ruprechtquelle in Rhens ein weiterer und ein engerer Schutzbezirk errichtet worden. — Wegen wiederholter Diebstähle von Reißzeugen in der Technischen Hochschule in Charlottenburg wurde der rumänische Student

Ueber die Trennung des Urobilins von seinem Chromogen.

Von L. Grimbert.

Frischer Harn enthält bekanntlich kein freies Urobilin, sondern dessen Chromogen, das Urobilinogen, welches beim Schütteln des Harns mit Chloroform in diesen übergeht und nach vorausgegangener Oxydation zu Orobilin mittels alkoholischer Zinkacetatlösung durch die grüne Fluoreszenz nachgewiesen werden kann. Man kann das Urobilinogen auch durch Erhitzen seiner Chloroformlösung mit dem Ehrlichschen Reagens in Gegenwart von Alkohol erkennen; bei Anwesenheit von Urobilinogen färbt sich die Flüssigkeit purpurrot, während freies Urobilin keine derartige Färbung gibt. Schüttelt man eine Chloroformlösung von Urobilinogen mit einer gegen Phenolphthalein neutralen Lösung von Dinatriumphosphat, so geht das Chromogen nicht in die wässerige Flüssigkeit über, wohl aber freies Urobilin. Andererseits wird das Urobilinogen von der wässerigen Flüssigkeit glatt aufgenommen, wenn man stark verdünnte Natronlauge oder eine mit einigen Tropfen 10% iger Natronlauge versetzte Dinatriumphosphatlösung verwendet. Der letzteren Lösung wird das Urobilinogen nach vorausgegangenem Ansäuern mit Phosphorsäure durch Schütteln mit Chloroform wieder entzogen.

Zur Ausführung der Trennung schüttelt man den Harn mit Chloroform aus, filtriert den Auszug durch trockene Watte und versetzt das Filtrat tropfenweise mit einer 0,1% igen, alkoholischen Zinkacetatlösung, bis die anfangs entstandene Trübung wieder verschwunden ist. Eine grüne Fluoreszenz zeigt die Gegenwart von freiem Urobilin an. In diesem Falle wird das Chloroform mit einigen Kubikzentimetern einer Phenolphthalein gegenüber neutralen Dinatriumphosphatlösung ausgeschüttelt. Das abgetrennte Chloroform gibt jetzt mit Zinkacetat keine Fluoreszenz mehr, wohl aber auf Zusatz einer Spur Jod, wenn das Chloroform Urobilinogen enthält. (Compt. rendus 152, 727—28.)

ausfallende Amylose nahezu die Gesamtmenge des Amylopektins mit nieder.

(Compt. rendus 152, 785—88.)

Ueber einen neuen pflanzlichen Farbstoff. Das Thujorhodin.

Von Tsvett.

Die Blätter der Thujaceen und verschiedener anderer Coniferen erleiden im Winter eine teilweise Verfärbung, indem der der Sonne zugekehrte Teil braun oder rot wird. Diese Erscheinung ist nicht auf eine Modifikation des Chlorophylls, sondern auf eine Neubildung eines roten Farbstoffes, welchen Verfasser Thujorhodin nennt, zurückzuführen. Die Lösung dieses Farbstoffes in Schwefelkohlenstoff ist rot, in Alkohol rosa, in Petroläther gelb. Das Absorptionsspektrum der Schwefelkohlenstofflösung besitzt 4, dasjenige der Petrolätherlösung 3 Bänder. Durch konzentrierte Schwefelsäure wird das Thujorhodin indigoblau gefärbt, durch Aetzalkalien nicht verändert. Das Thujorhodin findet sich außerdem in den roten Blättern von Cryptomeria japonica und zwar in großer Menge, ferner in den Blättern von Cupressus Naitnocki, Retinospora plumosa, Juniperus virginiaca und Taxus baccata, obgleich die letzteren grün bleiben.

(Compt. rendus 152, 788—89.)

Methode haftet ein Mangel an, der sich aber bei vorsichtigem Arbeiten

bei allen Krankheiten, durch welche ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlaßt wird, bei inneren Blutungen, bei Einwirkung blutzerstörender Gifte, bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten, bei Pyämie, Pneumonie, Skorbut, Malaria, bei Scharlach (im Gegensatz zu Diphtherie), ferner bei vermehrter Darmfäulnis, bei Gallenstauungen, bei Lebererkrankungen (Urobilinikterus), bei Bleikolik. Was die Entstehung und Bildung des Urobilins anbelangt, so erfolgt eine solche aus dem Blute und aus den Gallenfarbstoffen durch Bakterieneinwirkung auf das Bilirubin im Darme; 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 u. s. w.) zeigt, nur Urobilin enthalten kann.

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.

Darstellung und quantitative Bestimmung.

1. Man gewinnt das Urobilin aus dem Harne gewöhnlich nach dem von Méhu und Hoppe-Seyler angegebenen Verfahren.

100—500 ccm Harn werden je nach der Menge des vorhandenen Urobilins mit 0,2—1 g Schwefelsäure angesäuert und mit Ammonsulfat (auf 100 ccm Harn 30 g) gesättigt; es wird nach mehrstündigem Stehen filtriert, das auf einem Filter (Asbestfilter) gesammelte, in roten Flocken abgeschiedene Urobilin mit gesättigter Ammonsulfatlösung 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 ver-

dunstet in einem vorher gewogenen Glasschälchen oder Kölbchen bei mäßiger Wärme — am besten aber bei gewöhnlicher Temperatur — das Chloroform, worauf man nach mehrstündigem Stehen des Schälchens im Exsikkator 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 Chlorbaryumlösung (auf 100 Teile Harn 30 Teile einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Baryumchloridlösung und 2 Vol. gesättigten Barytwassers) versetzt, filtriert, zum Filtrate konzentrierte Natriumsulfatlösung zur Entfernung des überschüssigen Baryts zugesetzt, mit Schwefelsäure nahezu neutralisiert und das Filtrat mit Ammonsulfat gesättigt. Der abfiltrierte mit gesättigter Ammonsulfatlösung einmal behandelte Farbstoffniederschlag wird aus 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 Absitzen abgelassen. Dieser Lösung, die noch 1—2 mal 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 auch hiebei gefällt wird; auch sind Verluste an Farbstoff, der besonders auch im Filtrierpapier — ich nehme Asbestfilter, den Goochschen Tiegel — zurückgehalten wird, nicht zu vermeiden.

2. Darstellung nach Jaffé.

Der mit Ammoniak schwach alkalisch gemachte Harn wird vom entstandenen Niederschlag 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 und diese Lösung mit Bleizucker ausgefällt. Den Niederschlag filtriert man ab, wäscht denselben mit Wasser aus, bis sich Farbstoff zu lösen beginnt und digeriert den getrockneten Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol; diese alkoholische Lösung wird mit dem halben Volumen Chloroform und viel Wasser kräftig geschüttelt, die Chloroformlösung mit wenig Wasser gewaschen (es geht leicht Farbstoff ins Wasser!) und das Chloroform ab-

destilliert. Der Rückstand wird mit Äther noch gereinigt, der eine Menge fremder Stoffe aufnimmt und Urobilin hinterläßt.

Urobilinarme Harne werden nach Jaffé mit Bleiessig gefällt und der abfiltrierte, ausgewaschene und getrocknete Niederschlag 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.

100 ccm des frischgelassenen, im Dunkeln verwahrten Harnes werden mit 10 Tropfen Eisessig 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 vorhandene Urobilinogen wird durch Stehenlassen der Essigätherlösung im Sonnenlichte in Urobilin übergeführt und ebenfalls wiederholt mit Wasser nach Zusatz von etwas Essigsäure ausgeschüttelt. Das Urobilin kann man durch Chloroform extrahieren oder durch Ammonsulfat, wie angegeben, ausfällen.

Beurteilung.

Der Harn darf kein Eiweiß enthalten; selbstverständlich hat man unter Ausschluß des Sonnenlichtes zu arbeiten.

Nachweis.

Das Urobilin läßt sich nur an seinem spektroskopischen Verhalten und durch die Fluoreszenzprobe erkennen; an Urobilin reicher Harn zeigt dunkle, rote, braunrote Färbung. Solchen Harn prüft man auch auf die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin.

1. Man untersucht den filtrierten und eventuell verdünnten 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 mit Säure 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. Fluoreszenzprobe.

Man versetzt den Harn mit einigen Tropfen (5) 10 % Chlorzinklösung und fügt Ammoniak hinzu, bis der entstandene Niederschlag beim Umschütteln sich löst. Die Lösung zeigt schön grüne Fluoreszenz; besonders hier tritt der Absorptionsstreifen sehr schön auf.

3. Zweckmäßig, zumal bei geringen Urobilinmengen, schüttelt man 50 ccm Harn nach dessen Ansäuern mit einigen Tropfen Salzsäure mit 25 ccm Amylalkohol aus und untersucht die Amylalkohollösung spektroskopisch und nach Zusatz einiger Tropfen einer filtrirten Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol; sehr schöne grüne Fluoreszenz und Absorptionsstreifen.

Ist eine Emulsion entstanden, dann filtriert man durch ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter, man erhält im Filtrate dann die zwei getrennten Schichten.

4. Verfahren nach Jolles.

50 ccm Harn werden mit 5 ccm verdünnter Kalkmilch und 100 ccm Chloroform mehrere Minuten in einem Zylinder geschüttelt; den Bodensatz von Chloroform und den Niederschlag läßt man in eine Porzellanschale abfließen, dampft ein und verreibt den Rückstand mit 5 ccm etwa 30 % Alkohols und einigen Tropfen Salpetersäure, worauf man filtriert. Typisches Urobilin gibt dabei ein braun- bis granatrotes Filtrat, dessen Spektrum den Urobilinstreifen in scharfer Begrenzung zeigt.

Beurteilung.

Durch diese Isolierungsart werden normale Farbstoffe entfernt.

5. 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 schwarzen Hintergrund); beim Umschütteln teilt sich die grüne Fluoreszenz der ganzen Flüssigkeit mit, die bei durchfallendem Lichte rosenrot ist.

Beurteilung der Methoden zum qualitativen Nachweise.

Gelingt der Nachweis nicht, so hätte man aus größeren Harnmengen den Farbstoff zu isolieren; übrigens wäre dies ein Zeichen, daß Urobilin in sehr vermehrter Menge nicht vorhanden ist. Am sichersten sind die Proben 3, 4 und 5.

In stark pigmentierten, gallenfarbstoffhaltigen Harnen gelingt der spektroskopische Nachweis schwer oder gar nicht; man beseitigt durch eine Merkurisulfatlösung (5 g HgO, 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser) die störenden Farbstoffe, indem man zu 10 ccm Harn 5 ccm der Lösung gibt und das klare Filtrat zur spektroskopischen Prüfung verwendet (Denigès).

Quantitative Bestimmung.

Außer der bei der Darstellung (S. 361) angegebenen Bestimmung des Urobilins durch Wägen des isolierten Farbstoffes kann man die Menge desselben auch annähernd bestimmen und zwar durch Vergleich der Chloroformlösung des isolierten Urobilins mit einer Lösung von bestimmtem Urobilingehalte, nach Art der Indikanbestimmung.

Man isoliert den Farbstoff nach F. Müller und Huppert, wie S. 362 erwähnt und löst das aus der ammoniakalischen Lösung durch Säure gefällte Urobilin in einem bestimmten Volumen Chloroform.

Eigenschaften.

Das Urobilin ist amorph, zeigt in dünnen Schichten rosenrote, in dicken bräunlichrote Färbung, im auffallenden Lichte

[1]) Journ. Pharm. Chim. 1900. 6. Ser. **12**. 49.

lebhaft gelbgrünen Metallglanz, wie Rosanilinsalze. Es löst sich wenig in Wasser, leicht in Alkohol, in Äther und in Chloroform, in wässeriger Alkalilauge und in Ammoniak, damit in Wasser und in Alkohol leicht lösliche Salze bildend. Die neutralen Lösungen sind gelb bis gelbrot, die alkalischen mehr gelb, die sauren rosa bis bräunlichrot. Durch basisch essigsaures Blei, durch Ammonsulfat, auch durch Chlorzinklösung wird der Farbstoff gefällt; die ammoniakalische Lösung fluoresziert; durch Chlorzink und andere Zinksalze zeigt sich diese grüne Fluoreszenz auch bei starker Verdünnung sehr vermehrt. Spektroskopisch zeigen die Lösungen die erwähnten charakteristischen Absorptionsstreifen.

Die Quecksilberverbindung hat eine schön rosenrote Farbe; Kupferoxydsalze (auch Kobalt- und Nickelsalze) geben in alkalischer Lösung eine der Biuretreaktion ähnliche Färbung; das Kupfersalz ist in Chloroform mit karminroter Farbe löslich.

E. Das Urobilinogen.

Das Urobilinogen, das erst nach Einwirkung von Sonnenlicht und Luft zu Urobilin wird, ist farblos und zeigt spektroskopisch kein charakteristisches Verhalten; es löst sich in Essigäther, Chloroform u. s. w. wie das Urobilin; nur von Wasser wird es aus der Essigätherlösung nicht aufgenommen, dagegen von Ammonsulfat auch gefällt.

Nachweis (s. S. 363).

F. Urorosein.

Das Urorosein kommt nach Nencki und Sieber 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.

Nachweis.

1. Durch Einwirkung von Salzsäure, schneller von Salpetersäure oder Salzsäure mit sehr wenig Chlorwasser auf den Harn tritt zumal im chromogenreichen Harne eine rote Farbe ein; beim Schichten von Harn auf Salpetersäure entsteht ein rosenroter Ring, der allerdings auch von Indigorot herrühren kann (S. 367).

2. Schüttelt man den beim Ansäuern mit 0,1 Volumen 25 % Schwefelsäure oder Salzsäure rosenrot gewordenen Harn mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff auf. Diese Lösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* im Grün. In größerer Menge erhält man den Farbstoff, wenn man größere Mengen Harn konzentriert, diese ansäuert und den Farbstoff auf entfetteter Wolle, nach reichlichem Zusatz von essigsaurem Natron, fixiert. Aus der Wolle gewinnt man den Farbstoff durch Auskochen mit schwefelsäurehaltigem Alkohol.

Beurteilung.

Unerläßlich ist die spektroskopische Prüfung. Die Trennung von Indigorot s. S. 368.

Eigenschaften.

Der Farbstoff löst sich mit roter Farbe in Wasser, in saurem Alkohol, in Amylalkohol, er ist unlöslich in Chloroform, in Äther (Unterschied von Indigorot), in Benzol. Alkalien entfärben die rote Farbe sofort — Unterschied von Indigorot —; durch Säuren wird die rote Farbe wieder hergestellt. Der Farbstoff ist sehr unbeständig und wird auch durch Fäulnis zerstört.

G. Indigoblau — Indikan (S. 268).

H. Indigorot (Indirubin, Urorubin, Indigpurpurin) $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

H. Rosin[1]) schon hat 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 beobachtet wurde, mit dem pflanzlichen Indigrot (Indirubin), welcher 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 Indoxylverbindung des Urins, welche durch Spaltung mit folgender Oxydation in zwei isomere Substanzen, in das Indigoblau und Indigorot, übergehen.

[1]) Virchows Archiv. 1891. **123.** 519. 538.

Diese Anschauung Rosins hat durch die Versuche von L. Maillard, von Bouma (S. 272, 274, 278) ihre vollständige 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.

Darstellung.

Hiezu müssen große Mengen Harn Verwendung finden. Indikanreicher Harn wird in Portionen zu ca. 5 Liter mit Bleiessig ausgefällt und filtriert, aus dem Filtrate das überschüssige Blei durch Salzsäure entfernt und die filtrierte Lösung nach dem Versetzen mit Salpetersäure (auf 1 Liter ca. 20 g) zum Kochen erhitzt, bis eine dunkel kirschrote Färbung eingetreten ist, worauf man schnell abkühlt und mit Soda die freie Säure möglichst neutralisiert, 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 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 nun behufs Reinigung mit Äther am Rückflußkühler gekocht, wobei Indigorot in Lösung geht, aus welcher der Äther bis zur Abscheidung von Kristallen abdestilliert wird. Die Kristalle werden nach 1—2tägigem Stehen abfiltriert und nochmals umkristallisiert.

Nachweis des Indigorot.

Man neutralisiert zum Nachweise des freien Indigorots 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 rot wird (Rosin).

Der 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.

Eigenschaften.

Der Farbstoff kristallisiert in chokoladebraunen 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, in Äther, in Chloroform, in Benzol, in heißen fetten Ölen u. s. w. mit roter Farbe. 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 u. s. w. zu farblosem Indirubinweiß reduziert.

I. Skatolrot (S. 279).

J. Urohämatin.

Urohämatin ist ein eisenhaltiger, roter Körper aus dem Harne, der nur in Alkohol, in Äther, in Chloroform und in ätzenden Alkalien löslich ist und aus dem konzentrierten und dann mit Alkohol extrahierten Harne durch Fällen mit Kalkmilch in der Siedehitze gewonnen wird. Der Rückstand wird mit Wasser und Alkohol gewaschen, mit Salzsäure zerlegt und dann wieder mit Alkohol ausgezogen. Beim Schütteln der alkoholischen Lösung mit Äther geht in letzteren der Farbstoff, der aber ohne klinische Bedeutung ist.

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.

Darstellung.

Man fällt mit Bleizucker, entfernt das Blei durch Schwefelwasserstoff, diesen durch Erhitzen und schüttelt die mit 0,8 Volumen Salzsäure (1,19 spez. Gew.) versetzte und rot gewordene Flüssigkeit mit Amylalkohol aus. Der Amylalkohol wird mit Wasser gewaschen, dann abdestilliert und der Rück-

[1]) Berl. Berichte. 1887. **20.** 393 (Ref.).

stand mit warmem Wasser und Ammoniak (zur Entfernung von Urobilin) behandelt. Man trocknet, löst den Farbstoff in wasser- und alkoholfreiem Äther und verdunstet die Lösung.

Eigenschaften.

Der Farbstoff ist eine fette, braune Masse, bei 100—120° schmelzend. Die Lösung in Äther und Chloroform besitzt grüne Fluoreszenz. Die Asche besteht fast ganz aus Eisen.

L. Farbstoff nach Kunkel,

auch Harnsäurefarbstoff genannt, findet sich im Harnsäureniederschlage, aus Harn durch Salzsäure ausgeschieden, und erteilt diesem eine braune Farbe. Er ist stark eisenhaltig, ebenfalls ohne klinische Bedeutung.

M. Hämatoporphyrin (S. 354).

II. Im pathologischen Harne vorkommende Farbstoffe.

A. *Blutfarbstoffe* (S. 343).

B. *Gallenfarbstoffe.*

Die Gallenbestandteile (Gallenfarbstoffe und Gallensäuren) werden 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 vorhanden ist. Unter pathologischen Verhältnissen tritt die Galle vermittelst 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 und sind dann im Harne die Gallenfarbstoffe, selten auch die Gallensäuren (gallensauren Salze) vorhanden.

Die Gallenfarbstoffe sind sicher Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und werden durch die Leber aus dem Oxyhämoglobin gebildet, indem dieses in Eiweiß und Hämatin zerfällt, welch' letzteres nach Nencki und Sieber unter Austritt von Eisen und Aufnahme von Wasser in Bilirubin umgewandelt werden soll.

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).

Ob die Entstehung des hämatogenen Ikterus (auch chemischer genannt), die Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoffe außerhalb der Leber, möglich ist, ist zweifelhaft; F. Blumenthal möchte gleichwohl die Leydensche Unterscheidung eines hepatogenen und hämatogenen Ikterus beibehalten wissen und bezeichnet als letzteren einen solchen, bei dem die Entstehung des Farbstoffes aus dem Zerfall von roten Blutkörperchen stattfindet.

Der hepatogene Ikterus tritt stark auf bei akuter gelber Leberatrophie (hier werden noch gefunden Gallensäuren, Eiweiß, Leucin, Tyrosin, Nierenepithelien, Harnzylinder, Fett), beim Verschluß des Gallenganges, bei der Weilschen Krankheit (akuter, fieberhafter Ikterus; hier auch Eiweiß, Blutkörperchen, Zylinder), bei hypertrophischer Leberzirrhose, bei katarrhalischem Ikterus, weniger stark bei Leberkrebs (hier starke Indikanausscheidung), bei Lebersyphilis, bei Leberabszeß.

Ein hämatogener Ikterus wäre zu finden nach Vergiftungen mit Phosphor, mit Arsenwasserstoff, mit Äther, mit Chloroform, mit Anilin u. s. w., nach Infektionskrankheiten (Typhus, Scharlach), bei Karzinom.

Nach Bunge ist auch 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, schäumt stark beim Schütteln mit einem mehr oder weniger gelb oder grünlichgelb gefärbten Schaume (Rheum- und Sennaharne S. 379); 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 und ein Sediment bilden, das aus reichlichem oft gelbgefärbtem Epithel, aus mit Farbstoffkörnern versehenen Zylindern, auch aus freien kleineren oder länglicheren Körnchen von grüner bis schwarzer Farbe, widerstandsfähig gegen Reagentien, aus Leucin,

Tyrosin, bestehen kann. Bilirubin wird nicht selten in dem mit Salzsäure angesäuerten Harne in braunen Nadeln abgeschieden. Von den verschiedenen Farbstoffen ist mit voller Sicherheit im frischen ikterischen Harne nur das Bilirubin (meist als Alkaliverbindung) aufgefunden worden. Dieses ist die Muttersubstanz der übrigen Gallenfarbstoffe, — Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Bilihumin — die sich leicht beim Stehen des Harnes bilden, also als Chromogene aufzufassen sind.

Nachweis der Gallenfarbstoffe.

Enthält der Harn Blut und Blutfarbstoff neben dem Gallenfarbstoff, so fällt man den Gallenfarbstoff durch Bleiessig, filtriert den Niederschlag ab, zersetzt ihn nach dem Auswaschen mit kohlensaurem Natron und benützt das Filtrat oder die durch Ausschütteln mit Chloroform erhaltene Farbstofflösung zum Nachweise von Gallenfarbstoffen.

1. Methode von Gmelin-Tiedemann.

Die Reaktion beruht auf der allmählichen Oxydation des Bilirubins zu Biliverdin (grüne Färbung).

In ein Reagensglas gibt man ca. 5 ccm konzentrierter schwach gelber Salpetersäure (am besten Salpetersäure, der man auf ca. 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 ebensoviel Kubikzentimeter Harn. Es entsteht bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen — bei geringem Farbstoffgehalt nicht immer sofort — an der Berührungsstelle der charakteristische smaragdgrüne Ring, der allmählich höher steigt, 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 Entwickelung ein und die Reaktion wird undeutlich.

Man kann die Probe auch nach Brücke-Fleischl so ausführen, daß man zu dem Harne eine konzentrierte Natriumnitratlösung gibt und dann konzentrierte Schwefelsäure langsam nachfließen läßt. Die Reaktion tritt dann langsam ein und hält längere Zeit an.

Bilirubin $C_{16}H_{18}N_2O_3$	Biliverdin $C_{16}H_{18}N_2O_4$	Biliprasin $C_{16}H_{22}N_2O_6$	Bilifuscin $C_{16}H_{20}N_2O_4$
Kommt in der Galle und in den Gallensteinen vor. Es läßt sich aus seiner Chloroformlösung in roten, rhombischen Tafeln kristallisiert gewinnen. In Wasser ist es unlöslich, wenig löslich in Äther, leichter in Alkohol, leicht in Chloroform; in Alkalien löst es sich leicht und wird durch Säuren daraus wieder abgeschieden. Mit den alkalischen Erden und den Oxyden der Schwermetalle bildet es in Wasser unlösliche Verbindungen. In alkalischen Lösungen verwandelt sich das Bilirubin unter Absorption von Sauerstoff in grünes Biliverdin. Eine Bilirubinlösung in Chloroform färbt sich beim allmählichen Zusatz von Salpetersäure (etwas rauchende enthaltend) oder von Bromwasser erst grün, dann blau, violett, rot und endlich gelb. Nascierender Wasserstoff führt Bilirubin in Hydrobilirubin über.	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 von Biliverdin). In Alkalien ist es leicht löslich mit brauner Farbe, die durch Säure in Grün übergeht (Unterschied von Bilifuscin). Man nimmt deshalb an, daß die braunen, ikterischen Harne, die sich auf Zusatz einer konzentrierten Mineralsäure grün färben, Biliprasin enthalten. Diese beiden Farbstoffe 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. Choletelin ist das letzte Oxydationsprodukt der Einwirkung von Salpetersäure auf Bilirubin.	Nur in Gallensteinen, scheint aber doch 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.

Modifikation nach Rosenbach.

Man filtriert eine größere Menge Harn durch ein kleines Filter und betupft die innere Seite des Filters mit der etwas rauchende Salpetersäure enthaltenden Salpetersäure; man erhält das gleiche Farbenspiel in Form der konzentrischen Ringe wie bei 1, von innen nach außen gelbrot, rot, violett, blau, grün.

Beurteilung.

Charakteristisch für die Gegenwart der Gallenfarbstoffe ist nur die auftretende Grünfärbung, der grüne Ring, da die blaue und rote Färbung auch andere Farbstoffe (Indikan) geben. Alkoholische Lösungen können nicht verwendet werden, da Alkohol auch Färbungen gibt.

Die Salpetersäure darf nicht zu viel salpetrige Säure enthalten, da die Reaktion sonst stürmisch und sehr schnell verläuft; es empfiehlt sich auch die Anwendung der modifizierten Methode von Brücke-Fleischl.

Urine mit geringem Gallenfarbstoffgehalt geben die Reaktion häufig nicht. Übrigens gibt die Rosenbachsche Modifikation sichere Resultate oder ist 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 Harne, die Gallenfarbstoff enthalten, geben die Reaktion mit Salpetersäure nicht, da andere Farbstoffe (Urobilin) die Farbenentwickelung hindern; in solchen Fällen verfährt man nach Methode 5 oder 6.

Aus Harn mit geringen Mengen Gallenfarbstoff und Eiweiß muß letzteres erst entfernt werden.

2. Probe nach Hammarsten.[1])

Erforderliche Lösung.

Ein Gemisch von 19 ccm einer 25 % Salzsäure und 1 ccm einer 25 % Salpetersäure läßt man einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen, bis es etwas gelblich geworden ist.

Ausführung.

1 ccm der Lösung wird vor dem Gebrauch mit 5 ccm Alkohol von 95—96 % verdünnt. Enthält ein Harn reichlich Gallenfarbstoffe, so setzt man zu einigen Kubikzentimetern Harn einige Tropfen des Reagenses; es tritt sofort die charakteristische grüne Färbung auf; sind nur wenig Gallenfarbstoffe neben anderen in größerer Menge vorhandenen Farbstoffen zugegen, so fällt man 10 ccm Harn mit einigen Kubikzentimetern Baryum- oder Calciumchloridlösung, zentrifugiert, gießt die Flüssigkeit vom Bodensatz ab und übergießt diesen mit 1—2 ccm des Reagenses. Es tritt Grün-

[1]) Skand. Archiv f. Physiol. 1899. 9. 313.

färbung ein. Sind Spuren Farbstoff vorhanden, so verwendet man ein Säuregemisch von 1 Teil Salpetersäure und 99 Teilen Salzsäure.

Beurteilung.

Sehr empfindliche Methode. Blutfarbstoff stört nicht.

3. Probe von 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 sicher.

4. Nach Rosin überschichtet man in einem Reagensglase Harn mit 2—3 ccm einer ca. 1 % alkoholischen Jodlösung; es tritt bei Gallenfarbstoffanwesenheit ein charakteristischer grasgrüner Ring an der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten ein. Alkalischer Harn ist mit Essigsäure anzusäuern.

Beurteilung.

Die Methode ist zwar scharf, doch kann nach Jolles nach Antipyringenuß ebenfalls ein grüner Ring entstehen.

5. Um in dunklen, indikanreichen Harnen geringe Mengen Gallenfarbstoffe nachzuweisen, macht man den Harn (100—200 ccm) nach Huppert[1])-Hilger[2]) entweder mit kohlensaurem Natron alkalisch und versetzt ihn mit Chlorbaryum (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 enthält, in ein Reagensglas vom Filter abgespritzt und dann erhitzt, so entfärbt sich der Niederschlag und es entsteht eine sehr

[1]) Archiv der Heilkunde. **8.** 351. 467.
[2]) Archiv Pharm. [3] **6.** 385.

schöne grüne bis blaue Lösung. (Man betrachte zumal bei geringen Mengen im auffallenden Lichte und sehe entweder von oben ins Reagensglas 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 neuerdings empfiehlt, sehr empfindlich (noch 0,00002 Bilirubin in 10 ccm Harn zu erkennen).

6. Probe nach Jolles.[1])

10 ccm Harn werden in einem Probierrohre mit 2—3 ccm Chloroform und 1 ccm einer 10 % Chlorbaryumlösung versetzt, 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 ca. 5 ccm Alkohol kräftig geschüttelt und das Filtrat mit 2—3 Tropfen einer Jodlösung (0,63 g Jod und 0,75 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 sehr scharf und läßt noch 0,1 mg Bilirubin in 100 ccm Harn erkennen.

7. Schüttelt man 30—50 ccm Harn mit Chloroform aus und überschichtet die Chloroformlösung mit Salpeter-

[1]) Wien. klin. Wochenschr. 1903. 491; Pharm. Centralh. 1903. **44.** 478.

säure, die wenig salpetrige Säure enthält, oder mit Bromwasser, so tritt das oben angegebene Farbenspiel bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen ein. Läßt man das Chloroform im Uhrglase verdunsten, so bleiben rotgelbe oder rubinrote Kristalle von Bilirubin zurück, die, mikroskopisch untersucht, auf Zusatz von rauchender Salpetersäure schön die Farbenreaktion geben.

Beurteilung.

Das Chloroform muß frei von Alkohol sein wegen der Färbung desselben mit der Säure (S. 374).

8. F. Pröscher[1]) empfiehlt zum Nachweise von Bilirubin allein die Verwendung der Ehrlichschen Diazoreaktion. Es bildet sich hier Azobilirubin.

Man sättigt 10 ccm Harn mit Ammonsulfat, filtriert den die Farbstoffe enthaltenden Niederschlag ab und zieht das nicht zu groß gewählte Faltenfilter mit 96 % Alkohol aus. Der alkoholische Auszug wird mit Salzsäure stark angesäuert und mit der Diazolösung (S. 391) 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.

9. Triollets[2]) Probe.

50 ccm Harn werden mit 40—50 g Ammonsulfat gesättigt, der Niederschlag wird durch Watte abfiltriert und diese zuerst mit heißem Chloroform (in Lösung Bilirubin und Bilifuscin) und dann mit heißem Alkohol(in Lösung Biliverdin und Biliprasin) behandelt. Die beiden Lösungen werden eingedampft und die

[1]) Centralbl. inn. Medizin. 1901. 22. 169.
[2]) Rep. d. Pharm. 1901. 392.

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 durch diese Probe entfernt.

10. Cholecyaninprobe von Stokvis.

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 Fluoreszenz und im Spektrum charakteristische Streifen bei *C*, *D* und einen schwachen zwischen *D* und *E*.

11. In zweifelhaften Fällen kann man den reduzierbaren Stoff von Stokvis, der bei der vollständigen Oxydation der Gallenfarbstoffe entsteht, nachweisen. Man fällt den sauren Harn mit Bleizucker, wenn nötig mit Bleiessig, und entfernt den Bleiüberschuß durch Oxalsäure. Das Filtrat wird mit Kaliumhydroxyd alkalisch gemacht und gekocht; wird die Flüssigkeit mehr oder weniger rot, so sind Gallenfarbstoffe vorhanden; die Lösung zeigt im Spektroskop zwischen *D* und *E* einen Streifen oder einen verwaschenen Schatten.

Wahl der Methode.

Bei einer Prüfung auf Gallenfarbstoffe wird man stets erst die Gmelinsche Probe 1, eventuell nach Rosenbach, zu Rate ziehen. Bei negativem Ausfall kann man eine von den genauen Methoden (2, 5, 6, 7 event. 10) in Anwendung bringen. Zum Nachweise von Bilirubin allein empfiehlt sich die Probe 8 nach Pröscher.

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.

Quantitative Bestimmung des Bilirubins nach J. Jolles.[1])

Prinzip.

Bilirubin wird bei Einwirkung alkoholischer Jodlösung quantitativ in einen grünen Farbstoff, in das Biliverdin, übergeführt, wobei auf 1 Mol. Bilirubin 2 Atome Jod verbraucht werden.

Erforderliche Lösungen.

$^1/_{100}$ Hüblsche Jodlösung.

Einerseits werden 0,64 g Jod, andererseits 0,8 g Quecksilberchlorid in je 250 ccm 95 % fuselfreien Alkohols gelöst, letztere Lösung, wenn nötig filtriert und sodann beide Lösungen vereinigt. Die Flüssigkeit darf erst nach etwa 10stündigem Stehen in Gebrauch genommen werden. Der Titer der Jodlösung ist immer frisch einzustellen; den Titer der Thiosulfatlösung stellt man nach S. 83 fest.

Ausführung.

Von gallenfarbstoffreichen Harnen werden 10 ccm, von gallenfarbstoffarmen Harnen 20 ccm genau abgemessen und in einen Schüttelzylinder von etwa 200 ccm Inhalt gebracht, der am Boden eine birnenförmige Gestalt und ein möglichst kurzes Ausflußrohr besitzt. Zu dem Harne setzt man 20 ccm Chloroform, 10 ccm 10 % Chlorbaryumlösung und 50 ccm Salzsäure (1 : 5) hinzu und schüttelt das Ganze mehrere Minuten kräftig durch. Nach erfolgtem Absitzenlassen läßt man 15 ccm von der Chloroformlösung in einen geaichten Schüttelzylinder (ca. 25 cm Höhe und 3 cm Weite) abfließen. Die im Ausflußrohre befindlichen zurückgebliebenen Chloroformtropfen läßt man durch Umkehren des Schüttelzylinders und Öffnen des Hahnes zurückfließen. Man bringt weitere 15 ccm Chloroform in den Schüttelzylinder, schüttelt kräftig durch, läßt absitzen und hierauf 12 ccm der Chloroformlösung in den Standzylinder abfließen. Nunmehr setzt man 10 ccm Chloroform von neuem hinzu und nach erfolgtem Schütteln und Absetzenlassen läßt man 8 ccm der Chloroformlösung abfließen. Nach diesem Vorgange sind alle Gallenfarbstoffe extrahiert. Man wäscht den Inhalt des Standzylinders zweimal mit ca. 30 ccm Salzsäure (1 : 1) aus, um mitgerissene Harnbestandteile zu entfernen, indem man wiederholt schüttelt, und pipettiert oder hebert 25 ccm der über

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 27. 83.

dem Niederschlage befindlichen, fast klaren Flüssigkeit ab. Das Schütteln mit 30 ccm Salzsäure, dann das Abhebern der letzteren wird nochmals wiederholt und der Inhalt des Zylinders in eine Stöpselflasche gebracht. Der Zylinder wird noch zweimal mit je 25 ccm Alkohol nachgewaschen, auch diese Waschflüssigkeit der Hauptmenge zugefügt und nun 10 ccm der Hüblschen Jodlösung hinzugesetzt. Man schüttelt ca. 5 Minuten öfters durch, setzt dann 5—10 ccm einer 10 % Jodkaliumlösung zu, verdünnt mit ca. 100 ccm Wasser und titriert mit der $^1/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung zurück, nachdem man Stärkelösung zugegeben hat. Die über dem Chloroform stehende Flüssigkeit muß vollkommen entfärbt sein.

1 ccm der $^1/_{100}$ Jodlösung = 0,00144 Bilirubin.

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 Fellin- und Cholsäure mit Glykokoll und Taurin, aus denen sich durch Alkalien oder Säuren die freien Säuren herstellen lassen. Die Paarung der Gallensäuren geht ebenfalls in den Leberzellen vor sich.

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 Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$ kristallisiert in mikroskopischen Kristallen, schwer in Wasser, leichter löslich in Alkohol und Äther, sehr leicht in Eisessig. Optisch aktiv.

Die Fellinsäure $C_{23}H_{38}O_4$ kristallisiert aus Benzol in glänzenden, rechtwinkeligen Täfelchen; sonst kristallisiert sie nur schwer.

Glykocholsäure und Taurocholsäure kristallisieren in farblosen Nadeln; sie kommen in der Rinds- und Hundsgalle vor.

Die Gallensäuren geben die Pettenkofersche Reaktion und zeigen in alkoholischer Lösung starke Rechtsdrehung.

Nachweis.

Wegen des auch im normalen Harne vorhandenen Indikans und des normalen Vorkommens geringer Mengen von Kohlehydraten, von höheren Kohlenwasserstoffen und Säuren der Fett- und Benzolreihe, welche eine rötliche Färbung bei der Pettenkoferschen Reaktion — einer Furfurolreaktion — veranlassen können, kann der Nachweis von Gallensäuren im ikterischen Harne nicht direkt erfolgen. Man muß daher die Gallensäuren aus dem Harne isolieren und dann die Pettenkofersche Reaktion anstellen.

1. Man fällt nach Plattner den eiweißfreien Harn (100—200 ccm) mit Bleiessig und Ammoniak aus, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen mehrmals mit absolutem Alkohol aus und filtriert heiß. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleies verdunstet man mit einigen Tropfen Sodalösung zur Trockene, kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus und verdunstet die Lösung auf ein kleines Volumen; man schüttelt reichlich mit Äther, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; dieselben verwandeln sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Kristallnadeln. Man versetzt zur Ausführung der Pettenkoferschen Reaktion die wässerige Lösung dieser Kristalle oder die wässerige Lösung des Verdampfungsrückstandes von der alkoholischen Lösung mit Soda (oben) mit einigen Tropfen Rohrzuckerlösung (1 : 10) und setzt dann vorsichtig konzentrierte Schwefelsäure hinzu; man hält die Temperatur auf ca. 70°; es entsteht bei Anwesenheit von Gallensäuren erst eine rote, dann eine sehr schön violettrote Färbung.

   Die mit Wasser oder Alkohol verdünnte Lösung zeigt im Spektrum einen Streifen zwischen *D* und *E* und einen zweiten vor *F*.
2. Nach Udránszky setzt man zu 1 ccm der wässerigen oder alkoholischen Lösung der Gallensäuren 1 Tropfen 0,1 % 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.

Annähernde quantitative Bestimmung.

Man isoliert aus ca. 500 ccm Harn nach Plattner die Gallensäuren. Die alkoholische Lösung derselben wird eventuell

noch mit Tierkohle entfärbt und die alkoholische Lösung polarisiert. Die spezifische Drehung des glykocholsauren bezw. taurocholsauren Natrons in Alkohol beträgt + 25,7 bezw. + 24,5°.

C. *Melanin (Melanogen).*

Dasselbe ist kein normaler Harnbestandteil, sondern kommt nur in pathologischen Verhältnissen, doch ziemlich selten vor — Melanurie. — Der Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, ist entweder gleich nach dem Entleeren dunkel oder nimmt beim Stehen an der Luft 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.

Darstellung.

Man fällt den Harn mit essigsaurem Blei, zersetzt den Bleiniederschlag durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat ein, das dann einen schwarzbraunen Rückstand hinterläßt. Auch kann man den Harn mit Barytwasser fällen und die braungelbe Barytfällung mit Sodalösung behandeln, welche die Farbstoffe aufnimmt, die dann durch Übersättigen der Lösung mit Schwefelsäure ausgeschieden werden. Durch wiederholtes Auflösen in verdünnter Lauge und Fällen mit Essigsäure erhält man die Farbstoffe reiner; einheitliche Substanzen sind dieselben aber nicht.

Nachweis.

1. Beim Ansäuern von Harn mit verdünnter Schwefelsäure und Zusatz von Eisenchlorid oder Kaliumdichromatlösung zum Harn entsteht bei Anwesenheit von Melanin dunkle Färbung. Durch Reduktionsmittel (Zinkstaub und Salzsäure) wird wieder Entfärbung bewirkt.
2. Bei Zusatz von Bromwasser und Schwefelsäure oder von Chlorwasser tritt auch Färbung ein; Überschuß von Brom- oder Chlorwasser entfärbt den Harn, wobei sich ein dichter schmutziggelber Niederschlag absetzt.

Eigenschaften.

Das Melanin ist ziemlich resistent gegen Säuren und Alkalien, durch Bleiessig, nicht durch neutrales Bleiacetat, wird es aus seinen Lösungen gefällt.

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 von Indigorot). Die alkoholische Lösung wurde durch Zinkstaub entfärbt, an der Luft aber wieder violett.

E. *Thormälens Farbstoff.*

Er wurde im Harne einer an Leber- und Milztumor Leidenden und in drei anderen sehr indikanreichen Harnen vorgefunden. Der Harn war dunkelbraun, bei der Indikanprobe trat starke Rotfärbung auf; die Legalsche Acetonprobe (S. 80) ergab nach dem Ansäuern mit Essigsäure sehr schöne Blaufärbung. Aus dem Bleiessigniederschlag erhält man die Substanz nach dem Zersetzen mit Natriumkarbonat. Sie löst sich in Alkohol, Glyzerin, nicht in Chloroform, Benzol, wenig in heißem Äther.

III. Harnfarbstoffe, durch Einwirkung von Arzneien gebildet (S. 4 und bei Arzneien).

36. ***Cholesterin.*** $C_{27}H_{45}.OH + H_2O$.

Das Cholesterin findet sich in allen Zuständen, welche einen reichlichen Gehalt an Fett bedingen (bei Chylurie, bei Lipurie, bei amyloider und fettiger Degeneration der Niere); man kann es sowohl auf der Harnoberfläche schwimmend, als auch im Sedimente in dünnen rhombischen glänzenden Tafeln vorfinden.

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. 91). 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 ca. $^1/_2$ Stunde am Rückflußkühler; hierdurch wird das

Fett verseift und das Lecithin gespalten (in Cholin, Glyzerinphosphorsäure und Stearinsäure). Man verdunstet die Lösung, löst die gebildete Seife in Wasser, schüttelt sie mit Äther aus, verdunstet die Lösung, löst den Rückstand in siedendem Alkohol und überläßt das Filtrat nach dem Verdunsten auf ein kleines Volumen der Kristallisation.

Quantitativ läßt sich das Cholesterin bestimmen, wenn man den Ätherauszug auf einem gewogenen Uhrglase verdunstet, den Rückstand über Schwefelsäure trocknen läßt und dann wägt.

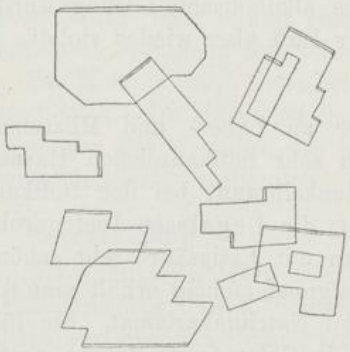


Fig. 46. 350fache Vergr.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Das Cholesterin kristallisiert aus heißem Alkohol mit 1 Mol. Wasser in großen rhombischen Tafeln (Fig. 46). Cholesterin ist unlöslich in Wasser, in Alkalien oder Säuren, auch in kaltem Alkohol, leicht löslich in heißem Alkohol, in Äther, Petroläther, Chloroform.

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 Kristalle auf dem Objektträger mit konzentrierter Schwefelsäure; die Ränder färben sich schön karminrot; mit Jod in wässeriger Lösung (Lugolscher Lösung, s. d.) behandelt, entstehen nacheinander violette, grüne, blaue Farben (prächtiges Bild).
3. Löst man etwas Cholesterin in Chloroform und setzt das gleiche Volumen konzentrierter Schwefelsäure hinzu, so färbt sich nach dem Umschütteln die Chloroformlösung schön blutrot, dann kirschrot bis purpurn. Die Schwefelsäure zeigt gleichzeitig stark grüne Fluoreszenz. Gießt man die Chloroformlösung in eine Schale, so färbt sie sich durch Anziehen von

Wasser aus der Luft schnell blau, dann grün, endlich gelb (Salkowski).

4. Man löst etwas Cholesterin durch Schütteln oder gelindes Erwärmen in wenig (ca. 1 ccm) Essigsäureanhydrid und fügt unter Abkühlen tropfenweise konzentrierte Schwefelsäure hinzu; die zuerst auftretende rosenrote Farbe verschwindet und es entsteht eine schöne blaue, später grüne Farbe (Liebermann, Burchard).

37. 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 dieselbe bei der Bereitung des Harnes entsteht.

Darstellung und Nachweis.

Man fällt ca. 10 Liter Harn mit Barytwasser, filtriert und entfernt durch Einleiten von Kohlensäure den überschüssigen Baryt aus dem Filtrate. Man dampft das Filtrat auf dem Wasserbade, schließlich im Vakuum, ein, extrahiert den Rückstand mit absolutem Alkohol, kocht das ungelöst Gebliebene, den glycerinphosphorsauren Baryt, mit Wasser und etwas Salzsäure oder Schwefelsäure, filtriert und versetzt die Flüssigkeit mit Ammoniak und Magnesiamischung; ein nach 24 bis 48 stündigem Stehen entstandener Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia zeigt die Anwesenheit der aus der Glycerinphosphorsäure abgespaltenen Phosphorsäure an.

Die vom Niederschlag (Tripelphosphat) abfiltrierte Flüssigkeit prüft man auf Glycerin; man dunstet auf dem Wasserbade ein und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus; beim Verdampfen der alkoholischen Lösung bleibt ein süß schmeckender Rückstand, der beim Erhitzen mit saurem Kaliumsulfat Akrolein entwickelt (Glycerin).

Eigenschaften.

Sirupöse Flüssigkeit, die beim Kochen mit Wasser, Säuren und Alkalien in Glycerin und Phosphorsäure zerfällt. Kalk- und Barytsalze sind löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol; durch essigsaures Blei wird die Glycerinphosphorsäure gefällt.

38. *Lecithin.* $C_{42}H_{86}NPO_9$.

Das Lecithin ist als eine esterartige Verbindung von Cholin mit Glycerinphosphorsäure aufzufassen, welche mit Stearinsäure und Palmitinsäure zu einem Glyceride verbunden ist:

$$C_3H_5\begin{cases}O.C_{18}H_{35}O\\O.C_{16}H_{31}O\\O.PO.(OH).O.CH_2.CH_2\end{cases}\begin{matrix}\\\\(CH_3)_3\end{matrix}\Big\}N.OH.$$

Die nach S. 91 hergestellte ätherische Lösung wird mit Wasser gut ausgeschüttelt, um alle Phosphorsäure zu entfernen, der Ätherrückstand mit Soda verrieben und das Gemisch in schmelzenden Natronsalpeter eingetragen. Man löst die Schmelze in Wasser, säuert mit Salpetersäure an, entfernt die salpetrige Säure durch Erwärmen und weist mit molybdänsaurem Ammon die Phosphorsäure nach.

Alle Reagentien müssen frei von Phosphorsäure sein.

Eigenschaften.

Das Lecithin bildet eine wachsähnliche, in Alkohol, Äther und 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.

39. *Ptomaine.*

Selmi bezeichnete mit diesem Namen die bei der Fäulnis von Lecithinen entstehenden alkaloidähnlichen, basischen Substanzen; Brieger versteht unter Ptomainen basische Stoffe, die durch die Lebensprozesse der Mikroorganismen gebildet werden und giftige Wirkung ausüben können.

Es ist festgestellt, daß normaler Harn mehr oder weniger giftig sein kann; in pathologischen Harnen, besonders in solchen von infektiösen Kranken, ist die Giftmenge eine größere und wurden im Harne, besonders bei Personen, die an Cystinurie leiden, alkaloidähnliche Körper aufgefunden, die zur Gruppe der Ptomaine gerechnet werden.

L. Brieger und E. Roos haben auch bei Cholera und Cholerine solche Ptomaine nachweisen können.

Zu diesen Ptomainen, Diaminen gehören das Trimethylamin, das in faulendem Harn, das Tetramethylen-

diamin oder Putreszin, und das Pentamethylendiamin oder Kadaverin, die beide im Harne von Personen, die an Cystinurie leiden, aufgefunden wurden.

Auch eine Reihe anderer Basen, zum Teil unbekannter Natur, wurden aus dem Harne gewonnen, die sich als giftig erwiesen. So hat A. Albu[1]) bei akuten Infektionskrankheiten (Scharlach, Masern, Pneumonie, Erysipelas, Diphtherie, Phtisis) alkaloidähnliche Stoffe (Toxine) aus Harn hergestellt, die möglicherweise Produkte des im Fieber gesteigerten Stoffwechsels im Gesamtorganismus sind.

Auch von Griffiths[2]) wurde in dem Harne eines an Scharlachfieber Erkrankten eine weiße kristallinische, wasserlösliche Base, in dem Harne von Diphtheriekranken ebenfalls ein weißer kristallisierter Körper und in dem Harne eines an der Bräune Erkrankten ebenfalls ein in weißen Nadeln kristallisierendes Ptomain gefunden. Auch aus Harn von an Ekzem Erkrankten, ferner bei Pleuritis, konnte ein Ptomain isoliert werden. Einige dieser Ptomaine, die sämtlich sehr giftig wirken, wurden auch aus Reinkulturen von Bazillen (Mikrococcus scarlatinae und Diphtheriebazillus) gewonnen.

Für die Harnuntersuchung kommen wohl, und auch da nur ausnahmsweise, die erwähnten näher studierten Basen, das Kadaverin und das Putreszin in Betracht, da diese beiden Begleiter der Cystinurie sein können.

Darstellung und Nachweis.

1. Hierzu findet am besten die von Udránszky und Baumann[3]) empfohlene Methode Anwendung.

$1\,^1/_2$ Liter (die Tagesmenge) Harn werden mit 200 ccm $10\,\%$ Natronlauge und 20—25 ccm Benzoylchlorid geschüttelt, bis der Benzoylgeruch verschwunden ist. Penta- und Tetramethylendiamin werden zum größten Teil als Dibenzoylverbindungen neben unlöslichen Phosphaten und Benzoylverbindungen normaler Kohlehydrate abgeschieden. Der abfiltrierte Niederschlag wird in warmem Weingeist gelöst, die konzentrierte Lösung in etwa das 30fache Volumen kalten Wassers gegossen

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1894. 8.
[2]) Compt. rend. 1891. **113.** 656; 1893. **116.** 1206.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1889. **13.** 564.

und nach mehrtägigem Stehen der Niederschlag (Dibenzoylbasen) von der milchig trüben Flüssigkeit abfiltriert und, bis das Filtrat klar abläuft, gut ausgewaschen. Der vom Benzoylniederschlag 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% Natronlauge im Überschusse versetzt und in der Kälte auskristallisieren lassen. Die ausgeschiedenen Kristalle 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 Kristalle mit wenig warmem Weingeist gelöst und die Lösung in das 20fache Volumen Äther gegossen. Die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins kristallisiert aus, die des Kadaverins bleibt in Lösung. Man kristallisiert beide aus Alkohol um.

2. A. B. Griffiths,[1]) der Ptomaine aus dem Harn isolierte, die sich bei einigen infektiösen Krankheiten finden, befolgte zur Isolierung dieser Ptomaine nachstehendes Verfahren.

Der mittels wenig Natriumkarbonat alkalisch gemachte Harn wurde mit dem halben Volumen Äther und die Ätherlösung mit einer Weinsäurelösung zur Bildung löslicher Tartrate ausgeschüttelt. Die Weinsäurelösung wurde nach dem Alkalischmachen mit Soda mit dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung verdunstet; die Ptomaine blieben als Rückstand.

Eigenschaften.

Die beiden Ptomaine bilden farblose Flüssigkeiten vom Spermageruch, rauchen an der Luft, sind leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol und Äther. Kadaverin ist sehr schwer löslich in Äther. Die beiden Diamine sind zweisäurige Basen; sowohl die freie Basis, wie die Chloride geben mit den gebräuchlichen Alkaloidreagentien Niederschläge. Charakteristisch sind die Dibenzoylverbindungen, die kristallisieren.

[1]) Compt. rend. 1891. **113.** 656; 1893. **116.** 1206.

Natriumsulfosalicylatlösung, Eiweißreagens (Frage 223 in Nr. 16). Natriumsulfosalicylat ist das sauere Salz von der Formel:

$$C_6H_3 \begin{cases} OH \\ SO_3Na \\ COOH, \end{cases}$$

da zur Sulfosalicylsäure die Schwefelsäure direkt an den Benzolkern herantritt, wie ja auch aus den äußerst kurzen Angaben auf S. 596, Anlage III (Reagentien und volumetrische Lösungen für ärztliche Untersuchungen) des D. A.-B. V hervorgeht.

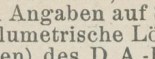
Das Salz soll sich nach Gehe nur in 25 Teilen Wasser lösen. Ich wende das Präparat in 10proz. Lösung an. Es ist wohl mehr Zufall als Absicht, daß gerade das Natriumsalz in das Arzneibuch aufgenommen, da doch die reine Sulfosalicylsäure als scharfes Eiweißreagens entschieden bekannter und die Anwendung bequemer ist. Sie löst sich viel leichter, und die Reaktion ist daher bei der konzentrierteren Lösung auch noch etwas empfindlicher. Einer der in solchen Untersuchungen praktisch wohl erfahrensten Kollegen, Dr. E. Krafft-Kissingen, sagt in seinen „Winken für die Ausführung chemisch-bakteriologischer Arbeiten auf dem Gebiete der Harn-, Sputum-, Faeces usw. Untersuchungen": „Die Sulfosalicylsäureprobe — das Reagens hält sich unbegrenzt — finde ich bisher leider nur in der neuesten Auflage von Spaeths Handbuch: ‚Die chemische und mikroskopische Untersuchung des Harns'. Sie besteht darin, daß man zu ca. 5 ccm filtriertem Harn etwa 10 Tropfen einer 25proz. (Spaeth nimmt eine 20proz.) wässerigen Lösung von Sulfosalicylsäure hinzusetzt; Trübung bezw. nur Opaleszenz im positiven Falle. Die Probe ist eine sehr empfindliche und einfache, auch am Krankenbett leicht vorzunehmende, und ist schon aus diesem Grunde recht zu empfehlen."

Dementsprechend wende ich von der 10proz. Natriumsulfosalicylatlösung etwa 40—60 Tropfen an und finde, daß man am praktischsten verfährt, wenn man das spezifisch schwerere Reagens mit einer Pipette dem selbstverständlich völlig klar filtrierten Harn unterschichtet. Bei positivem Befund zeigt sich an der Berührungsstelle deutlich die Opaleszenz bezw. Trübung, die sich nach mehrstündigem Stehen bei genügender Menge, d. h. wenn mehr als nur Spuren von Eiweiß vorhanden sind, zu feinflockigem Niederschlag verdichtet. *Steinbrück.*

Sudam III, für mikroskopische Untersuchungen (Frage 257 in Nr. 18). Dem Fragesteller ist insofern ein Irrtum unterlaufen, als der in der Mikroskopie gebräuchliche Anilinfarbstoff nicht Sudam, sondern Sudan heißt.

Sudan ist chemisch: Anilinazo-β-Naphthol, ein ziegelrotes Pulver, das in Wasser unlöslich ist, sich in Alkohol aber mit orangegelber Farbe auflöst. Die alkoholische Lösung wird je nach dem Zweck der mikroskopischen Färbung in verschiedener Konzentration gebraucht, meist wohl einbis fünfprozentig. Näheres über Farbstofflösungen für die Mikroskopie im allgemeinen s. Pharm. Ztg. 1910, Nr. 15 S. 149. Es gibt von diesem Farbstoff verschiedene Variationen; die bekanntesten sind das gewöhnliche Sudan-Rot bezw. -Gelb, Sudan 2 G und Sudan III. Letzteres wird besonders zur Fettfärbung nach Daddi gebraucht (näheres s. Zschr. für wissenschaftl. Mikroskopie Band XV pag. 183 [1898] oder Virchows Archiv Bd. CLXIII, 1901). *Steinbrück.*

Natriumsulfosalicylatlösung, Eiweißreagens (Frage 223 in Nr. 16). Natriumsulfosalicylat ist das sauere Salz von der Formel:



da zur Sulfosalicylsäure die Schwefelsäure direkt an den Benzolkern herantritt, wie ja auch aus den äußerst kurzen Angaben auf S. 596, Anlage III (Reagentien und volumetrische Lösungen für ärztliche Untersuchungen) des D. A.-B. V hervorgeht.

Das Salz soll sich nach Gehe nur in 25 Teilen Wasser lösen. Ich wende das Präparat in 10proz. Lösung an. Es ist wohl mehr Zufall als Absicht, daß gerade das Natriumsalz in das Arzneibuch aufgenommen, da doch die reine Sulfosalicylsäure als scharfes Eiweißreagens entschieden bekannter und die Anwendung bequemer ist. Sie löst sich viel leichter, und die Reaktion ist daher bei der konzentrierteren Lösung auch noch etwas empfindlicher. Einer der in solchen Untersuchungen praktisch wohl erfahrensten Kollegen, Dr. E. Krafft-Kissingen, sagt in seinen „Winken für die Ausführung chemisch-bakteriologischer Arbeiten auf dem Gebiete der Harn-, Sputum-, Faeces usw. Untersuchungen": „Die Sulfosalicylsäureprobe — das Reagens hält sich unbegrenzt — finde ich bisher leider nur in der neuesten Auflage von Spaeths Handbuch: ‚Die chemische und mikroskopische Untersuchung des Harns'. Sie besteht darin, daß man zu ca. 5 ccm filtriertem Harn etwa 10 Tropfen einer 25proz. (Spaeth nimmt eine 20proz.) wässerigen Lösung von Sulfosalicylsäure hinzusetzt; Trübung bezw. nur Opaleszenz im positiven Falle. Die Probe ist eine sehr empfindliche und einfache, auch am Krankenbett leicht vorzunehmende, und ist schon aus diesem Grunde recht zu empfehlen."

Dementsprechend wende ich von der 10proz. Natriumsulfosalicylatlösung etwa 40—60 Tropfen an und finde, daß man am praktischsten verfährt, wenn man das spezifisch schwerere Reagens mit einer Pipette dem selbstverständlich völlig klar filtrierten Harn unterschichtet. Bei positivem Befund zeigt sich an der Berührungsstelle deutlich die Opaleszenz bezw. Trübung, die sich nach mehrstündigem Stehen bei genügender Menge, d. h. wenn mehr als nur Spuren von Eiweiß vorhanden sind, zu feinflockigem Niederschlag verdichtet. *Steinbrück.*

Sudam III, für mikroskopische Untersuchungen (Frage 257 in Nr. 18). Dem Fragesteller ist insofern ein Irrtum unterlaufen, als der in der Mikroskopie gebräuchliche Anilinfarbstoff nicht Sudam, sondern Sudan heißt.

Sudan ist chemisch: Anilinazo-β-Naphthol, ein ziegelrotes Pulver, das in Wasser unlöslich ist, sich in Alkohol aber mit orangegelber Farbe auflöst. Die alkoholische Lösung wird je nach dem Zweck der mikroskopischen Färbung in verschiedener Konzentration gebraucht, meist wohl ein- bis fünfprozentig. Näheres über Farbstofflösungen für die Mikroskopie im allgemeinen s. Pharm. Ztg. 1910, Nr. 15 S. 149. Es gibt von diesem Farbstoff verschiedene Variationen; die bekanntesten sind das gewöhnliche Sudan-Rot bezw. -Gelb, Sudan 2 G und Sudan III. Letzteres wird besonders zur Fettfärbung nach Daddi gebraucht (näheres s. Zschr. für wissenschaftl. Mikroskopie Band XV pag. 183 [1898] oder Virchows Archiv Bd. CLXIII, 1901). *Steinbrück.*

standes den Weg zu ebnen". Der ganze Inhalt der Broschüre läuft somit auf eine Verherrlichung des Drogistenstandes, dessen Bedeutung und Bestrebungen hinaus und gipfelt schließlich in der Aufzählung derjenigen Forderungen, deren Erfüllung der Drogistenstand nach Meinung des Verfassers von der Gesetzgebung mit Recht beanspruchen darf. Daß es in der Broschüre an verletzenden und gehässigen Angriffen gegen den Apothekerstand fehlt, darf als ein gewisser Vorzug derselben hervorgehoben werden. Im übrigen aber kann die Darstellung des Verfassers vom pharmazeutischen Standpunkt aus nicht als zutreffend anerkannt werden, insbesondere weil sie nur einseitig die Interessen des Drogistenstandes unterstützt, die Zustände in diesem in übertrieben günstigem Lichte erscheinen läßt und auf die Verhältnisse im Apothekenwesen, die bei der Behandlung der Drogistenfrage eine ganz besondere Beachtung verdienen, nahezu gar keine Rücknimmt.

Den Eingang der Schrift bilden geschichtliche Rückblicke auf die Entwicklung des Drogistenstandes und seiner gesetzlichen Grundlagen, worauf in einem Kapitel „das Wesen des Drogenkleinhandels unserer Zeit und seine Bedeutung für eine rationelle Gesundheitspflege" geschildert werden, freilich in einer etwas merkwürdigen Art, indem es so hingestellt wird, als ob die Drogenhandlungen gewissermaßen die Zentralstellen für die Versorgung des Volkes mit kosmetischen und hygienischen und ähnlichen Artikeln wären. Gleiche Übertreibungen finden sich bei Darstellung der Beziehungen zwischen Drogenkleinhandel und Industrie, sowie der wissenschaftlichen Bestrebungen im Drogistenstande. Hier geht der Verfasser so weit, nach Angabe der gewiß anerkennenswerten, aber rein privaten und daher durchaus unverbindlichen Einrichtungen, die für die Vorbildung der Drogisten im Deutschen Reiche bestehen, eine Gegenüberstellung des Ausbildungsganges des Drogisten und Apothekers zu geben und dabei allen Ernstes zu konstatieren, „daß das verlangte Ausbildungsniveau des Drogistenlehrlings ein vielseitigeres ist als das der Eleven der Pharmazie". Ja, es wird sogar behauptet, daß ein großer Teil der jungen Drogisten die gleiche Schulbildung wie die Apotheker besitzt. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß in dieser ganzen drogistischen Ausbildung nicht der mindeste gesetzliche Zwang vorliegt, daß auf der Braunschweiger Drogisten-Akademie, der einzigen Anstalt dieser Art, in den 30 Jahren ihres Bestehens überhaupt erst im ganzen 1100 Drogisten ausgebildet worden sind, also noch nicht 40 pro Jahr, während anderseits die Zahl der reinen Fachdrogenhandlungen vom Verfasser auf 8000 im Deutschen Reiche angegeben wird — in Wahrheit ist sie viel größer, wurde doch allein in Preußen im Jahre 1908 die Zahl der revisionspflichtigen mit Arzneimitteln und Giften handelnden Geschäfte auf über 25 000 amtlich festgestellt — dann dürfte der Wert dieser Darlegungen in das rechte Licht gerückt sein. Es ist eitel Schaumschlägerei, die wohl nur auf jemanden, der noch nicht selbst hinter die Kulissen des Drogistenbetriebes geschaut hat und die in Wirklichkeit so ganz anderen Verhältnisse, die sich hier oft genug finden, nicht aus eigener Erfahrung kennt, Eindruck machen kann. Die Betonung der angeblich hohen wissenschaftlichen Ausbildung der Drogisten dient für den Verfasser

40. Lösliche Fermente oder Enzyme.

Solche sind im Harne mit Sicherheit nachgewiesen worden: Pepsin, Trypsin, das sog. Steapsin, ein fettspaltendes Enzym des Pankreassaftes und ein diastatisches Ferment Ptyalin (Béchamps Nephrozymase). Ein Labferment kommt nach Grützner[1]) im normalen Harne nur in sehr geringer Menge vor. Pepsin und das diastatische Ferment sind bei Diabetes vermehrt.

Man nimmt an, daß diese Enzyme aus den resorbierten Zymogenen, die in die Blutbahn gelangen, entstehen, indem diese in den Nieren durch Säuren invertiert und als Enzyme durch den Harn ausgeschieden werden. Das Steapsin und Trypsin sind im Harne nie nachweisbar, da sie in der Harnblase durch die Harnsalze schnell zerstört werden (Neumeister).

Nachweis.

Zum Nachweise von Pepsin leitet man durch frischen sauren Harn, nachdem man einige gekochte Fibrinflocken hinzugegeben hat, einen schwachen Luftstrom (mit Hilfe eines Aspirators), um das Fibrin mit dem Enzym in möglichste Berührung zu bringen. Man kann auch dem Harn (200—500 ccm) durch eintägiges Digerieren mit etwas gekochtem, fein verteiltem Fibrin die Fermente entziehen; läßt man dann die auf die eine oder andere Weise mit dem Enzym angereicherten Fibrinflocken mit 0,1 % Salzsäure bei Brutschranktemperatur stehen, so werden diese allmählich infolge des anhängenden Enzyms in Lösung gehen. In dieser Lösung läßt sich dann nach dem Entfernen von Eiweiß und Albumosen Pepton vermittelst der Biuretreaktion nachweisen; Ptyalin soll sich nach Rosenberg auch durch Fibrin dem Harn entziehen lassen.

Das diastatische Ferment oder amylolytische Ferment weist man an der Bildung von Dextrin nach, das entsteht, wenn man den das diastatische Ferment enthaltenden Harn oder den Niederschlag von phosphorsaurem Kalk (gewonnen durch annäherndes Neutralisieren des Harnes mit Kalkwasser), der das diastatische

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1891. Nr. 21.

Ferment mit niederreißt, nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Wasser und wenig frischem Stärkekleister mischt und auch bei Bluttemperatur stehen läßt; durch Jod kann man das Verschwinden der Stärke nachweisen. Eine Bildung von Zucker findet nicht statt; die Stärke scheint nur zu Dextrin umgewandelt zu werden. Dieses Ferment soll besonders im Nachmittagsharn, die anderen sollte im Morgenharn vorkommen.

Die Prüfung auf Labferment erfolgt am besten nach der von Helwes[1]) angegebenen Methode. Man bringt 5 ccm frische Milch, 1 ccm 0,6% Salzsäure und 5 ccm Harn zusammen. Die Milch gerinnt bei Körpertemperatur innerhalb weniger Minuten bei Vorhandensein von Labferment.

Zur Kontrolle führt man die gleiche Probe mit vorher gekochtem Harn aus; hier darf keine Gerinnung eintreten; auch bei den Prüfungen auf die anderen Enzyme nimmt man mit gekochtem Harne eine Kontrolle vor.

41. Ehrlichsche[2]) Diazoreaktion.

Aromatische Diazoverbindungen geben mit verschiedenen im Harne vorhandenen Substanzen schöne Farbenreaktionen, es bilden sich Farbstoffe.

Über die Natur des diese Reaktion veranlassenden Körpers sind verschiedene Ansichten geäußert worden; soviel ist gewiß, daß diese Körper im Organismus nur aus dem Eiweiß stammen können, was neuerdings noch dadurch bewiesen wurde, daß die vor nicht zu langer Zeit aus dem Harne isolierte Oxyproteinsäure (S. 185), ein ganz naher Abkömmling des Eiweißes, die Diazoreaktion sehr deutlich gibt und von seinen Entdeckern als Trägerin und Ursache der Diazoreaktion betrachtet wird. Diese Oxyproteinsäure ist zwar ein Bestandteil jeden normalen Harnes, jedenfalls wird aber die im normalen Harne vorkommende Menge die Diazoreaktion nicht veranlassen, es tritt diese vielmehr erst bei vermehrter Menge dieser Säure ein; da nun alle Krankheiten, bei denen die Diazoreaktion beobachtet

[1]) Pflügers Archiv 1888. **43.** 391.
[2]) Zeitschr. klin. Mediz. 1888. **5.** 285.

wird, von stärkerem Eiweißzerfall begleitet sind, so liegt es ganz nahe, daß bei diesen Krankheiten auch die Oxyproteinsäure, die Trägerin der Diazoreaktion stärker vermehrt sein wird.

Das Auftreten der Diazoreaktion hat nach den verschiedenen Forschern eine diagnostische und prognostische Bedeutung. So spricht eine stark auftretende Reaktion für Typhus, schwere Phthise und für Pneumonie, schwache Reaktion beobachtet man bei vielen fieberhaften Krankheiten. Besonders zur Diagnose von Tuberkulose ist nach Michaelis die Reaktion von ganz hervorragendem Werte. Der positive Ausfall der Probe bei Exanthemen zeigt an, daß es sich um ein akutes infektiöses Exanthem handelt; die positive Diazoreaktion spricht für Masern, negative unter Umständen für Röteln (F. Blumenthal).

Erforderliche Lösungen.

1. Diazoreagens: 0,5 Sulfanilsäure (p-Amidobenzolsulfosäure), 5,0 Salzsäure, 100 ccm Wasser.
2. $^1/_2$% Natriumnitritlösung.

Ausführung.

10 ccm Harn werden mit 10 ccm des Diazoreagenses versetzt, 2 Tropfen der Natriumnitritlösung hinzugegeben und gut durchschüttelt. Man läßt nun einige (2) Kubikzentimeter einer 10% Ammoniaklösung (auf einmal, in einem Schuß) zufließen; es entsteht im positiven Falle eine rosa- bezw. lebhafte karminscharlachrote Färbung der Flüssigkeit, besonders des Schaumes. Eine gelbe-kaffeebraune Farbenänderung ist nicht als 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 dunkelgrüner Niederschlag.

Nach Michaelis werden 49 ccm des Diazoreagenses mit genau 1 ccm der $^1/_2$% Natriumnitritlösung gemischt. Dann wird zu 5—10 ccm Harn die gleiche Menge des stets frisch zu bereitenden Reagenses gegeben und schließlich zu der Mischung ein Zehntel der Gesamtflüssigkeit Ammoniak.

Zur raschen Ausführung der Reaktion sind graduierte Reagensgläschen von Ranke[1]) konstruiert worden.

Beurteilung.

Es sind noch andere Ausführungen der Diazoreaktion empfohlen, die aber keinerlei Vorteile bieten. Wichtig für den positiven oder negativen Ausfall der Reaktion ist der Einfluß gewisser Medikamente.

Opium, Morphin, Chrysarobin, Naphtalin, Heroin und Dionin veranlassen die Diazoreaktion, Harn nach dem Einnehmen von gerbsäurehaltigen Arzneimitteln, auch von Wein, Harn nach Gebrauch von Phenol und dessen Derivaten, von Kresol, Kreosot, Guajakol, Salol gibt die Reaktion nicht mehr.

Diese Tatsache hat man bei der Vornahme der Probe zu berücksichtigen, um so mehr, als bei Typhus, Phthise solche Medikamente gegeben werden.

42. Das Jodabsorptionsvermögen.

Das Jodabsorptionsvermögen des Harnes wurde von K. E. Marung[2]) studiert; die Jodzahl schwankte zwischen 3,175—6,25 pro Liter. Eine besonders hohe Zahl fand sich bei einer Leukämie und bei Cystinurie.

Ein besonderer Wert bei der Beurteilung ist dieser Bestimmung wohl nicht beizumessen.

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 eliminiert werden können, — diese Methoden werden besonders erwähnt — so wird doch zur Entdeckung und Isolierung der Metalle, die als Medikamente therapeutisch genommen oder als Gifte in verbrecherischer Absicht dem Organismus einverleibt, sämtlich zum Teil auch durch den Harn abgeschieden werden, im großen und ganzen die bei der gerichtlichen Analyse befolgte Methode anzuwenden sein, um so mehr, da mehrere Metalle, wie Blei, Kupfer, Quecksilber in organischen Verbindungen im Harn enthalten sein können, und manche andere Harnbestandteile die Fällung der Metalle im Harne direkt hindern (Eiweißstoffe, Zucker).

Im nachfolgenden soll der Gang kurz mitgeteilt werden.

[1]) Zu haben bei P. Altmann, Berlin, Luisenstraße.
[2]) Inaug.-Dissert. Rostock 1901.

Prüfung auf Metalle, Metallgifte.

Man dampft zweckmäßig 1—2 Liter Harn in einer Schale auf ca. 100 ccm ein, bringt den konzentrierten Harn in einen Kolben, setzt nun 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 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 Filterrückstand 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 Zugabe von Natriumbikarbonat verjagt. In das nicht zu stark saure, auf ca. 70° erwärmte Filtrat leitet man langsam bis zur Sättigung reines gewaschenes Schwefelwasserstoffgas, das man am besten aus Schwefelbaryum und reiner verdünnter Salzsäure entwickelt.

Nach 12 stündigem Stehen in dem lose verschlossenen Kolben filtriert man einen entstandenen Schwefelwasserstoffniederschlag ab, leitet ins Filtrat nochmals Schwefelwasserstoff und vereinigt den zweiten Niederschlag mit dem ersten. Die Niederschläge werden auf dem Filter gut mit Schwefelwasserstoffwasser ausgewaschen.

Rückstand von der Zerstörung (Rückstand auf dem Filter) kann enthalten:

Silber (Chlorsilber), Blei (Bleisulfat und Bleichlorid), Baryum (Baryumsulfat).

Im Schwefelwasserstoffniederschlag können vorhanden sein:

Arsen, Zinn, Antimon, Quecksilber, Kupfer, Blei, Wismut.

Im Filtrat vom Schwefelwasserstoffniederschlag: Zink, Chrom, Baryum.

I. Behandlung des Schwefelwasserstoffniederschlages.

Derselbe 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: (I) Arsen, Antimon, Zinn (als Sulfo-

Filtrat = Arsen.	Rückstand auf dem Filter = Zinn, Antimon (Spuren Kupfer).

Arsennachweis.

Das Filtrat wird mit konzentrierter Schwefelsäure eingedampft und 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 Arsennachweis im Marshschen Apparate, eine andere zur eventuellen quantitativen Bestimmung.

Qualitativer Nachweis des Arsens.

1. Im Marshschen Apparate entstehen hinter den Erhitzungsstellen in der Glasröhre stark glänzende, braunschwarze Anflüge von metallischem Arsen, die beim sehr vorsichtigen Durchsaugen von H_2S und vorsichtigem Erwärmen gelb werden, mit Natriumhypochlorit befeuchtet verschwinden.
2. Im Marshschen Apparate entwickelter Arsenwasserstoff färbt konz. Silberlösung (1 : 1) gelb und gibt angezündet beim Darüberhalten eines kalten Porzellandeckels schwarze glänzende Flecken an diesen (met. As).
3. Aus seiner Lösung wird es durch H_2S nach längerem Einleiten unter Erwärmen als Schwefelarsen gefällt.
4. Die Lösung gibt mit Zink und verd. Schwefelsäure Arsenwasserstoff, der durch Filtrierpapier, mit der konz. Silberlösung (1 : 1) getränkt ist, nachweisbar ist (Gelbfärbung — Gutzeits Reaktion).

Quantitative Bestimmung des Arsens.

Ein weiterer Teil der Lösung (50 oder 100 ccm) wird mit Ammoniak übersättigt, Magnesiamixtur zugesetzt, der nach zwölf Stunden abgeschiedene Niederschlag auf gewogenem Filter oder im Goochschen Tiegel gesammelt, mit verd. Ammoniak (1 : 3) ausgewaschen und getrocknet (arsensaure Ammoniak-Magnesia). Gef. $2(MgNH_4AsO_4) + H_2O$. 0,3938 = Arsen. Durch Glühen kann man die arsensaure Ammoniakmagnesia in pyroarsensaure Magnesia ($Mg_2As_2O_7$) überführen.

Gef. $Mg_2As_2O_7$. 0,4827 = Arsen.

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. H_2S erzeugt roten Niederschlag.
2. Die schwach saure Lösung scheidet in einer Platinschale mit Zinkzusatz schwarzes Antimon auf dem Platin ab.
3. Antimon liefert im Marshschen Apparate Antimonflecken, ähnlich wie die Arsenflecken, die aber in Natriumhypochlorit sich nicht lösen.

Quantitative Bestimmung.

Man fällt mit H_2S 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. Gef. Sb_2O_5 . 0,75 = Antimon.

Qualitativer Zinnnachweis.

Die Lösung in Salzsäure wird zu folgenden Reaktionen verwendet:

1. Quecksilberchlorid gibt weiße Fällung, die allmählich in metallisches Quecksilber übergeht.
2. Goldchlorid gibt dunkelrotbraune Färbung oder Niederschlag.
3. H_2S erzeugt braunen Niederschlag.

Quantitative Bestimmung.

Man fällt das Zinn durch H_2S und glüht den mit essigsaurem Ammoniak ausgewaschenen Niederschlag im Porzellantiegel.

Gef. SnO_2 . 0,7874 = Sn.

II. Behandlung des in Schwefelammonium unlöslichen Teiles des Schwefelwasserstoffniederschlages.

Der auf dem Filter verbleibende Rückstand kann die Sulfide des Kupfers, Quecksilbers, Bleies und des Wismutes enthalten. Man behandelt denselben mehrere Male mit warmer Salpetersäure (1 : 2), wo-

Glühen kann man die arsensaure Ammoniakmagnesia in pyroarsensaure Magnesia ($Mg_2As_2O_7$) überführen.

Gef. $Mg_2As_2O_7$. 0,4827 = Arsen.

Trockene gebrachten Rückstand. Das entstandene antimonsaure Antimonoxyd wägt man. Gef. Sb_2O_5 . 0,75 = Antimon.

II. Behandlung des in Schwefelammonium unlöslichen Teiles des Schwefelwasserstoffniederschlages.

Der auf dem Filter verbleibende Rückstand kann die Sulfide des Kupfers, Quecksilbers, Bleies und des Wismutes enthalten. Man behandelt denselben 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, welches die Nitrate des Kupfers und Bleies enthält, wird fast zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit verdünnter Schwefelsäure und Alkohol versetzt. Blei wird als schwefelsaures Blei abgeschieden, Kupfer ist im Filtrat nachzuweisen.

Qualitativer Nachweis von Blei.

1. H_2S gibt schwarzen Niederschlag.
2. Kaliumchromat = gelbe Fällung, in Kali- oder Natronlauge löslich.
3. Jodkali = gelber Niederschlag, in heißem Wasser löslich, beim Erkalten sich in glänzenden Flittern wieder abscheidend.
4. Schwefelsäure = weiße Fällung, 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. 403.

Qualitativer Nachweis von Kupfer.

1. Ammoniak gibt tiefblaue Färbung,
2. Ferrocyankalium rote Fällung oder Färbung.
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 H_2S 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 . 0,7986 = Cu.

Oder man dampft die Kupfernitratlösung in einem gewogenen Porzellanschälchen ein, trocknet u. glüht vorsichtig.

Gef. CuO . 0,799 = Cu.

Nachweis des Quecksilbers (S. 399).

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 H_2S Schwefelquecksilber gefällt, das auf gewogenem Filter oder im Goochschen 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 u. s. w. folgende Reaktionen:

1. Frisch bereitete Zinnchlorürlösung gibt vorsichtig zugesetzt eine weiße, dann grau 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 vom Schwefelwasserstoffniederschlage.

Dasselbe kann enthalten Zink, Chrom, Baryum. Man teilt das Filtrat in drei gleiche Teile:

Nachweis von Zink.

Man versetzt den einen Teil des vom H_2S 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 H_2S, bis diese erkaltet ist. Das ausgefällte und abfiltrierte Schwefelzink wird mit etwas Ammonnitrat enthaltendem Wasser ausgewaschen, vom getrockneten Filter in einen Roseschen Tiegel gebracht, das Filter nach Befeuchten mit gesättigter Ammonnitratlösung verbrannt, die Filterasche in den Tiegel gegeben, der Tiegelinhalt mit Schwefelpulver vermengt und im Wasserstoffstrom (S. 241) — nachdem alle Luft aus dem Apparat und dem Tiegel verdrängt ist — zuerst gelinde, dann stärker geglüht, im Wasserstoffstrom erkalten lassen und das Schwefelzink gewogen.

Gef. $ZnS \cdot 0{,}671 = Zn$.

Qualitativer Nachweis des Zinks.

1. In der mit Natriumacetat versetzten Lösung des Sulfides oder des Oxydes in Salzsäure entsteht durch H_2S ein weißer Niederschlag.
2. Natriumkarbonat gibt weiße Fällung, die mit Kobaltnitrat befeuchtet und geglüht grün wird (Rinmanns Grün).
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.

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. $Cr_2O_3 \cdot 0{,}6846 = Cr$.

Nachweis von Baryum.

Ein dritter Teil wird eingedampft, mit Soda und Salpeter verpufft, die Schmelze mit Wasser aufgenommen und das entstandene unlösliche Baryumkarbonat auf einem Filter gesammelt. In verd. Salzsäure gelöst gibt Baryt dann folgende Reaktionen.

1. Gipswasser = unlöslicher Niederschlag.
2. Schwefelsäure = Baryumsulfat.
3. Grüne Flammenfärbung.

Quantitative Bestimmung.

Als Baryumsulfat.[1])

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

[1]) Man löst das Baryumkarbonat auf dem Filter in verdünnter Salzsäure, wäscht das Filter mit heißem Wasser nach und fällt im Filtrate durch Schwefelsäure den Baryt als Baryumsulfat aus. Der Niederschlag wird gesammelt, ausgewaschen, geglüht und gewogen.

säuren) 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. 395).

Die Schwefelammoniumlösung (I) wird zur Trockne verdampft, mit rauchender Salpetersäure oxydiert, eingetrocknet, der Rückstand mit einigen Tropfen Natriumhydroxydlösung durchfeuchtet, und nach dem Vermischen mit wasserfreier Soda in schmelzenden Natronsalpeter 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 Kupfer als Oxyd, da sich wie erwähnt ja etwas Kupfersulfid in Schwefelammonium löst; einen vorhandenen Niederschlag filtriert man durch ein kleines Filter (S. 394).

IV. Behandlung des Rückstandes von der Zerstörung.

Dieser Rückstand, der, wie schon erwähnt, Bleisulfat (Bleichlorid), Baryumsulfat 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, Baryumsulfat), 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. Baryumkarbonat, Bleikarbonat und metallisches Silber bleiben beim Filtrieren zurück. Man nimmt mit Salpetersäure (verdünnter) auf, fällt im Filtrate Silber durch Salzsäure als Chlorsilber (S. 57), Blei aus dem Filtrat vom Chlorsilberniederschlag nach dem Eindampfen und Aufnehmen mit Wasser durch H_2S als Schwefelblei und Baryum aus dem vom H_2S befreiten Filtrat vom Schwefelblei als Baryumsulfat durch Ausfällen mit verdünnter Schwefelsäure.

Gef. AgCl . 0,7527 = Ag.

[1]) Man löst das Baryumkarbonat auf dem Filter in verdünnter Salzsäure, wäscht das Filter mit heißem Wasser nach und fällt im Filtrate durch Schwefelsäure den Baryt als Baryumsulfat aus. Der Niederschlag wird gesammelt, ausgewaschen, geglüht und gewogen.

Mit Hilfe der im vorstehenden geschilderten Methode 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.

Arsen.

Nach akuter Arsenvergiftung finden sich in dem in sehr geringen Mengen abgesonderten Harne Eiweiß, Blut, Zylinder, es tritt Hämoglobinurie oder Methämoglobinurie auf.

1. Das Arsen kann man nach Reichardt auch aus dem schwach angesäuerten Harne durch H_2S ausfällen und das durch Bromwasser oder nach dem im allgemeinen Gang angegebenen Verfahren oxydierte Schwefelarsen im Marshschen Apparate prüfen. Gute Dienste leistet mit dem Harne direkt die Gutzeitsche Probe (S. 394).
2. Werden endlich einige Tropfen Harn, der Arsenverbindungen enthält, mit Kulturen von Penicillium brevicaule zusammengebracht, so zeigen die Kulturen nach einiger Zeit einen intensiven Knoblauchgeruch. Der Harn ist zweckmäßig vorher mit Tierkohle zu behandeln.

Blei.

Bei akuter Bleivergiftung enthält der Harn auch Eiweiß sowie Urobilin.

Nachweis.

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. 308).
2. Man bringt nach Daiber bleifreies Magnesiummetall in Bandform in den Harn (Abram gibt noch 1 Teil Ammonoxalat 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. 395 angegebenen Reaktionen an.

Quecksilber.

Nach Aufnahme toxischer Dosen findet sich auch Blut und Eiweiß im Harne. Nach Sublimatvergiftung reduziert der Harn Fehlingsche Lösung und dreht rechts. Bei Quecksilberkuren kann Nephritis hervorgerufen und eine bestehende sehr verschlimmert werden; es ist deswegen häufige Untersuchung des Harnes geboten. Nach den Beobachtungen von A. Laqueur soll das Hg im Harne in Verbindung mit den Säuren und den sauren Salzen (Hippursäure, Harnsäure, sauren Phosphaten), auch mit Kreatinin zur Ausscheidung kommen.

Nachweis und Bestimmung.

Verfahren von A. Jolles[1]), Schumacher II und W. Jung.[2])

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 kolorimetrischem Wege (Vignou).

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 1 Liter- (bezw. $^1/_2$ Liter-) Kolben mit ca. 50 ccm (bezw. 5 bis 10 ccm bei der von Jolles verwendeten Menge) konzentrierter Salzsäure und 1—2 g chlorsaurem Kali (nach Jolles entsprechend weniger) versetzt und am Rückflußkühler erhitzt. Man gibt die gleiche Menge an chlorsaurem Kali noch ca. 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 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[3]) vermittelst eines Platindrahtes,

---

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 230.

[2]) Ebenda. 1902. **41.** 461.

[3]) Von W. C. Heraeus in Hanau erhältlich; es genügt auch ein einfaches vergoldetes Platinblech.

der durch zwei in der Platte angebrachte Ösen durchgezogen ist, eingesenkt, das Gefäß auf dem Drahtnetze mäßig erwärmt, 30 ccm Zinnchlorürlösung[1]) zugesetzt 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, in die Salpetersäure gelegt, so daß es allseitig von dieser bespült ist, und eventuell 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 Reagensglas 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 ca. 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 — eventuell 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 dann etwas verdünnte Kalilauge zu, läßt damit einige Minuten stehen, verdünnt mit Wasser, gießt ab und wäscht noch zweimal mit Wasser nach. Das zurückbleibende Zinkamalgam + Zink löst man in vorsichtiger Weise in etwa 50 ccm verdünnter Salzsäure

[1]) 40 g Zinn werden in konzentrierter Salzsäure unter Erwärmen gelöst und die verdampfte Salzsäure so lange ergänzt, bis sämtliches Zinn gelöst ist. Die mit etwas Wasser verdünnte Lösung wird filtriert und dann auf 300 ccm aufgefüllt.

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 ca. 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, dann einige Kubikzentimeter frisches Schwefelwasserstoffwasser 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 von frisch bereiteten Sublimatsvergleichslösungen nach Zusatz von Schwefelwasserstoffwasser. Man verwendet vielleicht eine solche Lösung, die 5 mg $HgCl_2$ 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 $HgCl_2$ entsprechend

in gleiche Röhrchen mit Marke bei 10 ccm, gibt Wasser hinzu, einige Tropfen Salzsäure und je 1 ccm frischen Schwefelwasserstoffwassers und füllt mit Wasser gar bis zur Marke auf. Man vergleicht dann diese Färbungen nach ca. 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 Gehalten an Hg herstellen.

An Stelle der Sublimatvergleichslösungen kann man sich Farbstofflösungen (Janusschwarz, Janusbraun, Janusgelb von Meister, Lucius & Brüning in Höchst a/M.) herstellen von der gewünschten Intensität und Nüance wie diese. 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 ja eine salpetersaure Quecksilberlösung resultiert (S. 400),

z. B. 100 ccm der Vergleichsflüssigkeit enthielten 4,1008 mg $HgCl_2$.

50 ccm davon wurden mit 10 ccm Salpetersäure (1 : 10) auf ca. 20 ccm eingedampft und mit destilliertem Wasser wieder auf ca. 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 5 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllte Proberöhrchen mit 7 ccm destillierten Wassers verdünnt und nun alle Eprouvettes mit 3 ccm Schwefelwasserstoffwasser versetzt. Nach sorgfältigem Umschütteln werden dann die Farbenintensitäten verglichen und eventuell noch Lösungen mit näher aneinander liegenden Quecksilbergehalten durch anderweitiges Verdünnen zum Vergleiche hergestellt.

Bei Harnen mit höherem Hg-Gehalte empfiehlt Jolles nur 50—100 ccm zu nehmen, auf 300 ccm zu verdünnen und, wie S. 399 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.

Beurteilung.

Nach diesem Verfahren läßt sich das Hg ja genau und in einfacher Weise erkennen und bestimmen, nur wird es vielleicht in manchen Fällen angenehm, ja notwendig sein, das Quecksilber in Substanz bezw. 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. 395 behandeln.

Schumacher und Jung[1]) fällen in dem wie angegeben zerstörten, von Chlor möglichst befreiten Harne durch Zusatz von 100 ccm Zinnchlorürlösung (S. 400) das Quecksilber aus und sammeln den Niederschlag auf einem Asbestfilter (durch Aufschwemmen von gereinigtem Asbest auf einer Porzellansiebplatte) mit Hilfe der Pumpe. 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 Hg durch ein gewogenes sog. Zuckerröhrchen (S. 241), bei welchem der engere Teil mit Asbest, der darauf folgende mit Gold-

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. 39. 12.

asbest[1]) 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 Hg ein und kann durch Jod in bekannter Weise charakterisiert werden (S. 395).

Die übrigen empfohlenen Methoden sollen in ihrem Prinzipe nur Erwähnung finden, da dieselben nach den vorliegenden und den selbst gewonnenen Erfahrungen an Genauigkeit hinter den angegebenen zurückstehen.

B. Bardach[2]) empfiehlt eine Methode, die von Stuckowenkow stammt und schon von J. Malkes[3]) empfohlen wurde; sie beruht darauf, daß Hg mit Eiweiß beim Kochen als Albuminat ausgeschieden wird, aus welchem in geeigneter Weise — bei der Ausscheidung ist bei allen Methoden das von E. Ludwig gefundene Verfahren in Anwendung — das Hg auf Kupferblech amalgamiert wird. Mit Harn direkt erfolgt aber die Ausscheidung unvollständig.

F. Eschbaum[4]) verwendet das bekannte Alménsche Verfahren und scheidet das Quecksilber durch Kochen des Harnes mit etwas Traubenzucker unter allmählichem Zusatz von Natronlauge mit den Phosphaten zugleich aus; der Niederschlag wird mit Salzsäure behandelt und daraus das Hg abgeschieden; neuerdings verwendet Eschbaum[5]), was schon von M. Höhnel[6]) empfohlen wurde, Cyankalium und digeriert nach dem Abstumpfen der Säure mit Natronlauge den Harn bei 60—70°; sonst ist das weitere Verfahren das frühere.

P. Farup[7]) scheidet das Hg aus dem auf 60—80° erwärmten, mit konzentrierter Salzsäure angesäuerten Harn mit Zinkstaub aus. Der abgesaugte Rückstand wird mit Salzsäure und Kaliumchlorat gelöst und das Filtrat nach dem Erwärmen mit Zinnchlorürlösung behandelt. Es wird durch ein mit Asbest und Goldasbest gefülltes Zuckerröhrchen filtriert und die Gewichtszunahme des im Luftstrome getrockneten Röhrchens festgestellt; Verfahren ganz wie das von Schumacher-Jung.

Wismut.

Nach toxischen Dosen findet man Albuminurie und Blut im Harne.

Wismut findet sich (S. 395) im Rückstande des in Schwefelammonium unlöslichen Teiles des Schwefelwasserstoffniederschlages und geht beim Behandeln mit Salpetersäure mit Kupfer und Blei in Lösung.

---

[1]) Zur Herstellung des Goldasbestes hängt man gereinigte feine Asbestfäden in eine ziemlich konzentrierte Goldchloridlösung, trocknet diese in einem Porzellantiegel (Rosé scher Tiegel) und erhitzt den Tiegel mit Inhalt schließlich über freier Flamme unter Darüberleiten eines Stromes gereinigten Wasserstoffes.

[2]) Centralbl. inn. Med. **22.** 361.

[3]) Chem. Zeitung. 1900. **64.** 816.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1900. **26.** 52.

[5]) Pharm. Zeitung. 1902. **47.** 260.

[6]) Ebenda. 1900. **45.** 126.

[7]) Arch. exp. Path. 1900. **23.** 272.

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 Anwesenheit von Wismut an.

Dieser Niederschlag ($BiSO_4OH$) wird abfiltriert, in wenig Salzsäure gelöst und diese Lösung mit alkalischer Zinnchlorürlösung versetzt; schwarze Fällung Wismut (Wismutoxydul).

Quantitative Bestimmung.

Hiezu dampft man die schwefelsaure Lösung von Kupfer und Wismut nach Entfernung von Bleisulfat ein, nimmt mit etwas salzsäurehaltigem Wasser auf und fällt durch H_2S. Die Sulfide löst man in Salpetersäure, verdampft die Lösung im Wasserbade, fügt zum Rückstande einige Tropfen Salzsäure und verdünnt mit viel Wasser. Das abgeschiedene Wismutoxychlorid filtriert man auf ein bei 100° gewogenes und getrocknetes Filter, wäscht mit Wasser, das einige Tropfen Salzsäure enthält, und trocknet bei 100° C.

$$BiOCl \,.\, 0{,}802 = Bi.$$

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.

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.

Nachweis.

Man dampft den Harn ab, nimmt mit Schwefelsäure auf und extrahiert mit Alkohol. Die filtrierte alkoholische Lösung verbrennt mit grüngesäumter Flamme. Bei Borsäure dampft man den Harn unter Alkalizusatz ab und verfährt weiter wie angegeben.

Bromverbindungen. Bromsalze.

Nachweis.

1. Wenn nicht größere Mengen vorhanden sind, kann die Abscheidung des frei gemachten Broms im Harne direkt nicht vorgenommen werden, da Harn freies Brom bindet. Man verascht größere Mengen Harn ($^1/_2$—1 Liter), den man mit Ätznatron oder kohlensaurem Natron eingedampft hat, und gibt zur Lösung der Schmelze frisches starkes Chlorwasser und Schwefelkohlenstoff oder Chloroform; Gelbfärbung bis Braunfärbung der letzteren zeigt Brom an.

2. Eine bequeme und schnelle Methode gibt A. Jolles[1]) an.

Prinzip.

Paradimethylphenylendiamin gibt mit Brom einen roten Farbstoff. Man verwendet Filtrierpapier, das mit einer Lösung des Reagenses (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 Papieres (durch Einklemmen in einen Kork) angebracht und das Kölbchen auf dem Wasserbade erwärmt. Bei Anwesenheit selbst von Spuren von Brom entsteht auf dem Papiere der charakteristische Farbenring. Auch das von Baubigny empfohlene Fluoreszeinpapier kann verwendet werden; dieses färbt sich rosa.

Chlorsaures Kali. $KClO_3$.

Dieses wird schnell resorbiert und fast unzersetzt durch den Urin (Speichel u. s. w.) ausgeschieden; zugleich wird ein dunkler methämoglobinhaltiger Harn entleert.

Nachweis.

1. Man findet Chlorsäure im Harne, wenn man den eventuell verdünnten Harn (bei starker Färbung) mit Salzsäure ansäuert und mit Jodkalium und Stärkelösung versetzt. Bei gelindem Erwärmen entsteht aus

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. 1898. **37.** 439.

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.

Zur quantitativen Bestimmung fällt man für den Fall, daß organische Chlorverbindungen nicht vorhanden sind, im Harne die Chloride mit Silbernitrat im Überschuß aus, entfernt das überschüssige Silber mit chlorfreiem Natriumkarbonat, filtriert und glüht den Trockenrückstand. Das chlorsaure Kali geht hierbei in Chlorkalium über, dessen Chlormenge sich leicht nach einer der S. 55—57 angegebenen Methoden bestimmen läßt.

Jodverbindungen, Jodsalze.

Gehen sehr rasch in den Harn über.

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 u. s. w. sehr schön rotviolett gefärbt. Siehe auch S. 57.

   Zum Nachweise von Chlor, Brom und Jod in organischen Verbindungen verfährt man, wenn nichtflüchtige 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 überschüssige Silber durch kohlensaures Natron ab und dampft das Filtrat hiervon mit einigen Grammen Kalisalpeter ein. Man glüht den Verdampfungsrückstand und bestimmt in diesem die Halogene, wie S. 57 angegeben.

   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, Jod- oder Bromwasserstoff (auch freies Jod) aufnimmt und bindet.

2. Man kann auch den Harn mit etwas Kaliumnitrit und konzentrierter Schwefelsäure und Chloroform versetzen; letzteres wird violettrot gefärbt.

3. Etwas Harn mit Stärkekleister und frischem Chlorwasser versetzt, wird 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 3 ist einwandfrei; bei 1 und 2 könnte in größerer Menge vorhandenes Indikan stören.

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, vermehrte Oxysäuren, Fette, Fettsäuren, auch Zucker, Zylinder, Epithelien enthalten kann.

Nachweis.

Man findet selten ein Leuchten des Harnes nach dem Mitscherlichschen Verfahren. Man destilliert $^1/_2$ Liter Harn nach Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure in einem mit Kühler versehenen Kolben. Beim Eintreten der Dämpfe in die Kühlröhre tritt bei Anwesenheit freien Phosphors das charakteristische ringförmige Leuchten ein. (Im verdunkelten Raume beobachten.)

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.

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 im kurzen 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. Man filtriert von den ausgeschiedenen Salzen ab und verdunstet bei nicht zu hoher Temperatur das alkoholische Filtrat. 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 Kolchicin, Pikrotoxin enthalten kann.

Die mit Äther erschöpfte wässerige saure Flüssigkeit wird durch gelindes Erwärmen vom Äther befreit und mit Natronlauge im Überschuß versetzt; diese alkalische Flüssigkeit wird nun gleichfalls wiederholt mit Äther ausgeschüttelt, und zwar empfiehlt es sich hierbei möglichst rasch zu arbeiten, da die Löslichkeit der Alkaloide durch eintretende Kristallisation vermindert wird. Mit Ausnahme des Morphins, das durch die überschüssige Natronlauge in Lösung gehalten wird und aus der ammoniakalischen Lösung in Amylalkohol übergeht, gehen die meisten Alkaloide in den Äther über. Die Ätherlösungen werden, wie oben angegeben, behandelt; bei diesem Verdunsten hinterbleiben etwa vorhandenes Nikotin und Koniin als ölige Tropfen von bekanntem Geruch, andere Alkaloide in amorphem oder kristallinischem Zustande.

In diesem Ätherauszuge können enthalten sein — Rückstand II:

Akonitin, Atropin, Brucin, Chinin, Delphinin, Emetin, Hyoscyamin, Kokain, Kodein, Koniin, Narkotin, Nikotin, Papaverin, Physostigmin, Strychnin, Thebain, Veratrin.

Die von Äther befreite wässerige, alkalische Flüssigkeit wird nach Zusatz von Chlorammonium ammoniakalisch gemacht und, wenn Apomorphin in Frage kommt, erst mit Äther, andernfalls sogleich mit Amylalkohol, der auf ca. 50° erwärmt ist, wiederholt ausgeschüttelt und der Amylalkohol verdunstet — Rückstand III:

Morphin, Koffein, Theobromin, Kurarin, Cinchonin, Muskarin, Solanin.

Morphin wird aus der karbonat- oder bikarbonathaltigen Flüssigkeit (man gibt zu der wässerigen alkalischen Lösung eine gesättigte Lösung von Natriumbikarbonat) 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.

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 ihrem Übergange 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 auf Uhrgläser und versetzt mit den Alkaloidreagentien. 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 1 mg molybdänsaures Natron oder Ammon enthält. Stets frisch bereiten!

Allgemeine Alkaloidreagentien 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 soviel 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, über Schwefelsäure trocknen und dann wägen.

Akonitin.

Wird durch den Harn relativ schnell und unverändert ausgeschieden. Die Akonitalkaloide sind leicht zersetzlich und keine einheitlichen Körper.

Nachweis.

Am besten durch die Jürgenssche Reaktion.

Man löst den Verdunstungsrückstand der Ätherlösung in einem Tropfen essigsäurehaltigen Wassers, gibt ein Körnchen Jodkalium hinzu und läßt ver-

dunsten. Unter dem Mikroskope sieht man rhombische, tafelförmige, an den spitzen Kanten abgestumpfte Kristalle, manchmal kreuzförmig durchwachsen.

Alkohol, Äthylalkohol. $C_2H_5 . OH$.

Geht nach Genuß 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.

Nachweis.

Man destilliert den Harn, läßt das Destillat über gebranntem Kalk stehen und destilliert nochmals; die ersten Anteile fängt man dann auf.

1. Mit Jodkalium und Kalilauge — Jodoform.
2. Alkohol und Benzoylchlorid — Benzoesäureäthylester; der aromatische Geruch dieses tritt besonders nach Hinwegnahme des überschüssigen Benzoylchlorids durch Kalilauge auf. Sehr empfindlich.
3. Mit Schwefelsäure und Kaliumdichromat erhitzt, wird das Destillat grün.

Aloe.

Wird zum Teil durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

Aloinhaltigen Harn schüttelt man mit Essigäther und versetzt diese Lösung mit Piperidin; es tritt violettrote (eventuell 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.

Amylnitrit. $C_5H_{11}O . NO$.

Der Harn enthält Zucker, Methämoglobin und wird rechtsdrehend.

Analgen. Äthoxy-Acetylamidochinolin.

$C_9H_5N(O . C_2H_5)NH . C_2H_3O$.

Erscheint im Harne zum Teil als Benzoesäure, zum Teil als Oxäthylamidochinolin.

Nachweis.

1. Nach größeren Dosen ist der Harn blutrot gefärbt; diese Farbe geht auf Zusatz von Kalilauge oder Natriumkarbonat in Gelb über. (Unterschied von Blut.)
2. Schüttelt man 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-naphtoldisulfosaurem Natrium — dunkelkirschrote Färbung.

Anilin. $C_6H_5 . NH_2$.

Im Harne zum Teil als Alkalisalz der Paramidophenolschwefelsäure. Nach reichlicher Zufuhr als Anilin (F. Müller). Der Harn kann Zucker, Hämoglobin, Methämoglobin, Hämatin enthalten.

Nachweis des Anilins.

Das Destillat des Harnes oder der mit Wasser aufgenommene Verdunstungsrückstand der Ätherausschüttelung gibt mit Bromwasser Fällung, wird durch Chlorkalk violett, auf Zusatz von Kairinlösung, verdünnter Salzsäure und Kaliumnitrit sehr schön blau (Ehrlich) und gibt die Millonsche Reaktion.

Nachweis des Paramidophenols s. Antifebrin.

Antifebrin. Acetanilid. $C_6H_5NH(CH_3 . CO)$.

Erscheint im Harne teils als Ätherschwefelsäure, Paramidophenol- und Acetylparamidophenolschwefelsäure, teils als Glykuronsäurederivat. Antifebrinharn ist linksdrehend und reduziert Fehling; auch ist er meist reich an Urobilin; manchmal zeigt der Harn eine moosgrüne Farbe.

Nachweis.

Man kocht 10—20 ccm Harn mit 2 ccm konzentrierter Salzsäure, fügt nach dem Erkalten einige Kubikzentimeter 5 % wässeriger Karbolsäurelösung und tropfenweise verdünnte Chromsäure oder filtrierte Chlorkalklösung (ca. 1 %) zu. Die Flüssigkeit wird

rot und nach dem Übersättigen mit Ammoniak (Aufschichten — Zonenreaktion) schön blau — Indophenolreaktion (Nachweis des Paramidophenols).

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.

Antipyrin. Phenyldimethylpyrazolon. $C_9H_6N_2O(CH_3)_2$.

Das Antipyrin geht zum Teil als Oxyantipyringlykuronsäure, zum Teil als solche in den Harn über.

Antipyrinharn zeigt nach Penzoldt zuweilen gelbe bis blutrote Farbe (wie 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 grüne Färbung. Antipyrin gibt auch Alkaloidreaktionen und gibt mit Pikrinsäure Fällungen. (Vorsicht bei Eiweißprüfung mit Pikrinsäure.)

Antisepsin. Paramonobromacetanilid. $C_6H_4Br\text{-}NH.C_2H_3O$.

Nachweis s. Brom und Acetanilid.

Arbutin. $C_{12}H_{16}O_7 + {}^1/_2H_2O$.

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; s. Thymol.

Asaprol, β-Naphtol-α-monosulfosaures Calcium. $(C_{10}H_6 . \beta OH . \alpha SO_3)_2Ca + 3H_2O$.

Nachweis.

Wird im Harne rasch ausgeschieden; durch Eisenchlorid nachweisbar, es entsteht eine blaue Färbung.

Atropin. $C_{17}H_{23}NO_3$.

Wird im Harne unverändert ausgeschieden.

Nachweis.

1. Physiologischer Versuch. Wenige Tropfen Harn ins Katzenauge gebracht, bewirken eine Erweiterung der Pupille.
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.
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 — Bittermandelölgeruch.

Betol. β-Naphtyl-Salicylsäureäther. $C_6H_4\begin{cases}OH\\CO.OC_{10}H_7\end{cases}$.

Nachweis.

Die Salicylsäure durch Eisenchlorid.

Blausäure. CNH.

Im Harne finden sich nach Einnehmen von Blausäure Rhodanverbindungen (Thiocyanursäure) S. 64. 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.

1. Konz. Salpetersäure = blutrot.
2. Konz. Schwefelsäure + Salpeter = blutrot.

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. $C_{19}H_{20}N_2\begin{cases}O.CH_3\\OH\end{cases} + 3H_2O$.

Wird größtenteils durch den Harn ausgeschieden; ein Teil (aber nur Spuren) soll in Dihydroxylchinin übergehen.

Nachweis mit dem isolierten Chinin (aus alkalischer Lösung mit Äther).

1. Man versetzt die wässerige Lösung mit frischem Chlorwasser und darauf sofort mit Ammoniak — prächtige smaragdgrüne Färbung (Thalleiochininreaktion).
2. Eine Lösung mit etwas Säure zeigt Fluoreszenz und dreht links.
3. Erwärmt man das isolierte Chinin mit verdünnter Schwefelsäure und verdünnter alkoholischer Jodlösung, so erhält man im auffallenden Lichte grüne, metallglänzende Blättchen (Herapathit).

Chloralformamid. $CCl_3 . CHO . HCO . NH_2$.

Chloralhydrat. $\begin{matrix} CCl_3 \\ | \\ COH \end{matrix} + H_2O$.

Das Chloral erscheint im Harne beinahe ganz als Urochloralsäure.

Nachweis.

Urochloralsäurehaltiger Harn reduziert Fehling, aber nicht alkalische Wismutlösung; ferner dreht er links; die Urochloralsäure wird durch Bleiessig gefällt; es beruht darauf ihre Isolierung. Die Urochloralsäure kristallisiert in seidenglänzenden Nadeln, die bei 142° schmelzen.

Nach D. Vitali[1]) 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 Zinkkarbonat ab und isoliert den Alkohol aus dem Filtrate durch Destillation. Das Destillat destilliert man noch einige Male über Ätzkalk und stellt schließlich die S. 411 angegebenen Reaktionen an.

Chloroform. $CHCl_3$.

Im Körper sollen $^2/_3$ zersetzt werden; nach reichlicher Narkose wird ein dem Cystin ähnlicher Körper beobachtet.

Nach D. Vitali[2]) ist unverändertes Chloroform im Harne nach Chloroformnarkose nicht auffindbar, auch kann durch

[1]) Bollet. chim. farm. 1899. 38. 377.
[2]) Ebenda 1899. 38. 249.

Destillation keine chlorhaltige Substanz aus solchen Harnen abgeschieden werden. Im Harne wurden dann Gallenfarbstoffe, Eiweiß, Zylinder, Blutkörperchen u. s. w., auch Zucker beobachtet.

Da es von Interesse sein kann, nachweisen zu müssen, ob eventuell Chloroform zur Konservierung verwendet wurde, so folgen einige für Chloroform charakteristische Proben.

Nachweis.

1. Chloroformhaltiger Harn reduziert beim Kochen Fehlingsche Lösung.
2. Man destilliert den im Wasserbade auf 50—60° erwärmten Harn mit einem Strom Kohlensäure und fängt das Destillat auf. Wird dieses mit einigen Tropfen Anilins und alkoholischer Kalilauge versetzt und erwärmt, so tritt ein ekelhafter Geruch nach Isocyanphenyl, Isonitril auf (Carbylaminprobe).
3. Thymol in Alkohol und Kalilauge gelöst, gibt mit dem chloroformhaltigen Destillate erwärmt dunkelviolette Färbung (Vitali); β-Naphtol an Stelle des Thymols gibt vorübergehende Blaufärbung (Lustgarten).
4. Man leitet durch den auf 50° erwärmten Harn einen Luftstrom und diesen durch eine glühende Röhre, verbunden mit einem Liebigschen Kugelapparat, der Silberlösung enthält. Die Chloroformdämpfe werden zersetzt und vom Silber absorbiert; aus der Menge des Chlorsilbers läßt sich das Chloroform berechnen.

Chrysarobin. $C_{30}H_{26}O_7$.

Nachweis.

Wird hauptsächlich als Chrysophansäure ausgeschieden (s. Rheum).

Diaphtol. o-Oxychinolin-m-Sulfonsäure.

Nachweis.

Gibt mit Eisenchlorid Grünfärbung.

Dionin. Salzsaures Äthylmorphin. $C_{19}H_{23}NO_3.HCl + H_2O$ (s. Morphin).

Euphorin. Phenyläthylurethan. $CO\begin{cases}O.C_2H_5\\NH.(C_6H_5.\end{cases}$

Nachweis.

Der Harn zeigt direkt oder nach dem Destillieren mit kohlensaurem Kali die Reaktion des p-Amidophenols (s. Acetanilid).

Exalgin. Orthomethylacetanilid. $C_6H_5.N.CH_3.C_2H_3O$ (s. Acetanilid).

Formalin. $H.C.OH + nH_2O$.

Wird im Harne nach dem Einatmen von Formalindämpfen als Ameisensäure (S. 88) vorhanden sein.

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 Harn nur nach Einnehmen größerer Glycerinmengen.

Nach Antichievich sind nach Glyceringenuß Nephritis und Hämoglobinurie beobachtet worden.

Nachweis.

Das Glycerin muß dem Harn durch Alkohol entzogen werden (S. 385).

Guajakol. Brenzkatechinmonomethyläther.

$$C_6H_4\begin{cases}O.CH_3 & (1)\\OH. & (2)\end{cases}.$$

Ist kurze Zeit nach dem Einnehmen im Harne nachzuweisen.

Nachweis.

Das Guajakol muß aus dem Harne erst isoliert werden. Man versetzt Harn mit etwas Salzsäure und destilliert im Dampfstrom (S. 87), schüttelt 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 Überschuß versetzt. In Äther unlösliches Guajakol-

kalium wird mit Äther gewaschen, aus Alkohol umkristallisiert, mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt und das freie Guajakol durch nochmalige Rektifikation gewonnen. Die alkoholische Lösung wird durch sehr wenig Eisenchlorid blau, auf weiteren Zusatz smaragdgrün gefärbt.

Heroin. Diacetylmorphin $C_{17}H_{17}(C_2H_3O)_2$ (s. Morphin).

Hypnon. Acetophenon. Phenylmethylketon. $CO\begin{matrix}C_6H_5\\CH_3\end{matrix}$.

Wird im Organismus zu Kohlensäure und Benzoesäure; letztere wird als Hippursäure (S. 284) ausgeschieden.

Jodoform. CHJ_3.

Geht bei äußerlicher Anwendung als Jodalkali, Jodsäure in den Harn über; bei Jodoformintoxikationen kann das Jod zum größten Teil in organischer Verbindung vorhanden sein. Nach neueren Versuchen von S. Angiolani findet sich aber das Jodoform auch nach Darreichung relativ hoher und wiederholter Mengen zum größten Teil als Jodid, zum kleinsten als Alkalijodat, nicht als organische Jodverbindung.

Nachweis. S. Jodkali.

Kairin. Salzsaures Äthyl-Oxytetrahydrochinolin.
$C_9H_{10}(C_2H_5)NO.HCl$.

Erscheint als Ätherschwefelsäure im Harne, der Methämoglobin enthalten kann.

Nachweis.

1. Durch Silbernitrat, Eisenchlorid färbt sich Harn nach Kairingenuß dunkelviolett (Renzone), mit Essigsäure und Chlorkalklösung schön fuchsinrot (Petri).
2. Der Kairinharn ist häufig gelbgrün, dreht nach großen Dosen links und reduziert Fehling; scheint gepaarte Glykuronsäure zu enthalten.

Kakodylsäure. $(CH_3)_2AsO_2H$.

Das Natriumsalz derselben 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 wird (A. Heffter).

Nachweis.

1. Der Harn, der den leicht zu erkennenden Kakodylgeruch zeigt, wird mit phosphoriger Säure erhitzt; es tritt der starke knoblauchartige Geruch auf (A. Heffter).
2. Bestimmung des Arsens nach dem allgemeinen Gang (S. 394).

Kampher.

Erscheint im Harne zum Teil in Gestalt von 2 Kampherglykuronsäuren, einer kristallinischen und einer amorphen und einer amorphen stickstoffhaltigen gepaarten Säure (s. S. 186).

Kantharidin, Kantharidin.

Kantharidin erscheint in geringen Mengen im Harne; es wirkt stark reizend auf die Nieren; im Harne sind meist Eiweiß, Epithelien, Zylinder, reichlich Blut vorhanden.

Nachweis.

Man kocht den Harn mit Kalilauge, zersetzt das gebildete Kaliumkantharidat mit Schwefelsäure und schüttelt das Kantharidin mit Chloroform aus. Der Rückstand der Chloroformlösung wird in Mandelöl gelöst und auf seine blasenziehende Wirkung geprüft.

Karbolsäure, s. Phenol (S. 262).

Koffein. $C_5H(CH_3)_3N_4O_2 + H_2O$.

In den Harn geht wenig unverändertes Koffein über, meist wird dasselbe in Xanthin umgewandelt.

Nachweis.

Mit Salpetersäure, besser mit frischem Chlorwasser, zur Trockne verdampft, verbleibt ein rotgelber Rückstand, der in Berührung mit Ammoniak purpurrot wird.

Kokain. Methyl-Benzoyl-Ecgonin. $C_{17}H_{21}NO_4$.

Soll im Harne zu finden sein, wird aber im Organismus schnell zersetzt.

Nachweis.

1. Eine wässerige Kokainlösung, mit 2 – 3 ccm Chlorwasser erhitzt und mit 2—3 Tropfen 5% Palladiumchlorürlösung versetzt, gibt einen schönen roten Niederschlag.

2. Fügt man zu einer wässerigen konzentrierten Lösung von Kokainhydrochlorid tropfenweise Kaliumpermanganatlösung (1 : 100), so scheiden sich violette Kriställchen von Kokainpermanganat aus.
3. Mit Goldchlorid charakteristische Fällung (Mikroskop).

Kolchicin. $C_{15}H_9(O.CH_3)_3\begin{cases}NH.CO.CH_3\\CO.OCH_3.\end{cases}$

Ausscheidung auch durch den Harn.

Nachweis.

Mit konzentrierter Salpetersäure gibt die zur Trockne verdampfte Lösung eine violette, dann braunrote Färbung, beim Verdünnen nach Zusatz von Alkali orangerot werdend.

Koloquinten.

Diese wirken in größeren Gaben nierenreizend; man kann die für eine akute Nephritis und für Cystitis charakteristischen Merkmale im Harne vorfinden.

Kopaivbalsam.

Im Harne sind wahrscheinlich Terpene, Glykuronsäureverbindungen zugegen; auch Blut und Eiweiß kann vorhanden sein.

Nachweis.

1. Solcher Harn gibt mit Salzsäure zuerst meist eine Trübung (Ausscheidung von Harzsäuren), dann eine schön rote Färbung (Kopaivarot), beim Erhitzen violett werdend; Oxydationsmittel (Chlorkalk, Jodtinktur) befördern die Reaktion. Die salzsaure Lösung zeigt drei Absorptionsstreifen in Orange, Grün und Blau.
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 Fehling.

Kreolin. Kresolpräparate — Sulfonsäuren 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 zu bestimmen.

Kryofin. Methylglycolyl-Phenacetin.

$$C_6H_4\begin{cases}O.C_2H_5\\ NH(CO—CH_2.OCH_3).\end{cases}$$

Scheint sich im Organismus ähnlich umzusetzen, wie das Phenacetin. Gibt die dort aufgeführten Reaktionen.

Laktophenin. Laktyl-Phenetidin.

$$C_6H_4\begin{cases}O.C_2H_5\\ NH.CO.CH(OH).CH_3.\end{cases}$$

Man findet zuweilen durch Gallenfarbstoffe dunkelbraun gefärbten Harn.

Nachweis.

Gibt die Indophenolreaktion, s. Antifebrin.

Lysidin. Methylglyoxalidin. $\begin{matrix}CH_2—NH\\ \|\quad\quad\diagdown\\ CH_2—N\end{matrix}\!\!>\!C.CH_3.$

Wird zum Teil als solches ausgeschieden.

Nachweis.

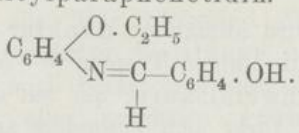
Der Harn wird eingeengt, mit konz. Natronlauge versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt; man entwässert die Chloroformlösung mit Kaliumkarbonat und destilliert das Chloroform ab. Lysidin hinterbleibt als Kristallmasse; die wässerige Lösung gibt mit Benzoylchlorid und überschüssiger Natronlauge geschüttelt ein schwer lösliches, bei 244° schmelzendes Dibenzoyläthylendiamin (Ladenburg).

Lysol. Lösung von Teerölen in neutraler Seife. Enthält Kresole.

Nachweis.

S. Kreolin, Phenol.

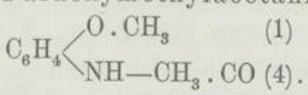
Malakin. Salicylparaphenetidin.



Nachweis.

S. Salicylsäure und Phenacetin.

Methacetin. Paraoxymethylacetanilid.



Nachweis.

Wird durch die Paramidophenolreaktion (Acetanilid) erkannt.

Methylenblau, Pyoktanin.

Methylenblauhaltige Harne sind grün, blaugrün bis blau gefärbt.

Morphin. $C_{17}H_{17}NO(OH)_2 + H_2O$.

Nachweis.

1. Konzentrierte Schwefelsäure, die 0,2—0,3% molybdänsaures Natron enthält — Fröhdes Reagens — gibt mit Morphin eine prachtvolle rote Färbung.
2. Wird die Lösung von wenig Morphin in 1—1,5 ccm rauchender Salzsäure nach Zusatz 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 Natriumbikarbonat und setzt schließlich kleine Mengen einer alkoholischen Jodlösung zu, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv smaragdgrün; die grüne Substanz ist in Äther mit Purpurfarbe löslich (Pellagri).
3. Mischung von Morphin + Rohrzucker + konzentrierte Schwefelsäure = intensiv rot.
4. Aus einer Lösung von Jodsäure macht Morphin nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure Jod frei, das von Chloroform mit violetter Farbe gelöst wird.

Naphtalin. $C_{10}H_8$.

Geht als α- und β-Naphtolglykuronsäure in den Harn.

Nachweis.

1. Der Harn wird allmählich dunkler — schwarz.
2. Man fügt zu einigen Tropfen (3—5) 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure; der auf der Säure schwimmende Harn färbt sich besonders an der Berührungsstelle schön dunkelgrün (Penzoldt). (Reaktion auf α-Naphtolglykuronsäure.)
3. Naphtalinharn gibt mit einigen Tropfen Ammoniak oder Natronlauge eine blaue Fluoreszenz (Edlefsen). (Reaktion auf β-Naphtol.)
4. 5—6 ccm Harn nehmen mit 3—4 Tropfen Chlorkalklösung und einigen Tropfen Salzsäure vermischt, zitronengelbe Färbung an. Schüttelt man mit Äther, so nimmt dieser die Farbe auf; dieser Äther auf 1% wässerige Resorcinlösung geschichtet und mit einigen Tropfen Ammoniak geschüttelt, färbt das Resorcin schön blaugrün, mit Salpetersäure kirschrot (Edlefsen).

Naphthionsäure. Naphthylaminsulfosäure.
$C_{10}H_6 . NH_2 . SO_3N$.

Erscheint kurz nach dem Einnehmen im Harne.

Nachweis.

1. Harn, der nur Spuren Naphtionsäure enthält, zeigt beim Verdünnen mit viel Wasser eine schön bläuliche Fluoreszenz.
2. 5 ccm des Harnes werden mit 5—6 Tropfen konzentrierter Salzsäure und 5 Tropfen 2,5% Natriumnitritlösung kräftig durchschüttelt; wird dann 1 ccm konzentrierten Ammoniaks zugefügt, so entsteht Rotfärbung (Bildung von Azofarbstoff, E. Riegler).

Naphtol. $C_{10}H_8O$.

Wird bei äußerlicher Anwendung als Ätherschwefelsäure durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

Man destilliert ca. 500 ccm Harn nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Wasserdampf, schüttelt das Destillat mit Äther und verdunstet die Ätherlösung. Den Rückstand löst man in Alkohol, versetzt mit wenig Tier-

kohle 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 Chloralhydratkristallen eine prächtige grünblaue Färbung (Lustgarten).

Nitrobenzol. $C_6H_5NO_2$.

Der Harn kann nach Nitrobenzol riechen und neben Methämoglobin bezw. Hämatin, Eiweiß, Gallenfarbstoffen eine linksdrehende und reduzierende Substanz enthalten.

Nachweis.

Man destilliert Harn mit Wasserdampf und löst übergegangene ölige Tropfen in Alkohol. Die alkoholische Lösung mit Zink und verdünnter Schwefelsäure behandelt gibt Anilin. Man macht die Flüssigkeit alkalisch und entzieht das Anilin mit Äther. Der Rückstand der Ätherlösung färbt sich mit einer Chlorkalklösung violett (s. Anilin).

Oxalsäure. $C_2H_2O_4$.

Scheidet sich nach Vergiftungen zum Teil als solche auch im Harne aus, der dann Eiweiß, mitunter Blut, Fetttröpfchen, Zucker, Calciumoxalat, Zylinder enthält. Ein weiterer Teil der Oxalsäure wird verbrannt, ein anderer in oxalsauren Kalk verwandelt.

Nachweis. (Siehe Oxalsäure, S. 140.)

Phenacetin. Oxyäthylacetanilid. $C_6H_4\begin{cases}O—C_2H_5\\NH(CH_3CO)\end{cases}$.

Wird im Harne zum Teil als Phenetidin, zum Teil als Paramidophenol und in Form einer gepaarten Schwefelsäure, zum Teil als Glykuronsäureverbindung abgeschieden.

Nachweis.

1. Gibt die Indophenolprobe (s. Acetanilid).
2. Man setzt dem Harne zwei Tropfen Salzsäure und zwei Tropfen einer 1% Natriumnitritlösung zu; bringt man alkalische wässerige α-Naphtollösung und etwas Natronlauge zu, so tritt Rotfärbung auf, die mit Salzsäure violett wird (Müller).

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 größeren Mengen Phenacetin ist intensiv gelb und wird mit Eisenchlorid, auch mit Chromsäure (3% Lösung), mit Chlorkalk dunkel, braunrot bis schwarzgrün gefärbt.
4. Phenacetinharn zeigt Linksdrehung und reduziert Fehling, gärt aber nicht.

Phenetidin. $C_6H_4\begin{cases}O.C_2H_5\\NO_2.\end{cases}$

Gibt die Reaktion 2. von Phenacetin.

Phenokollsalze. Phenocollum hydrochloricum; das salzsaure Salz des Amidoacet-p-Phenetidins.

$$C_6H_4\begin{cases}O.C_2H_5\\NH—CO—CH_2—NH_2\end{cases} HCl.$$

Scheidet sich schnell im Harn aus; der Harn zeigt braunrote, ja tiefschwarzbraune Färbung.

Nachweis.

Mit Eisenchlorid noch dunklere Färbung.

Phenol. Benzophenol. Karbolsäure. $C_6H_5.OH$.

Im Harne zum Teil als Phenolsulfosäure, zum Teil als Hydrochinon und Hydrochinonschwefelsäure vorhanden; die Farbe des Harnes ist grünlichbraun, bald an der Luft nachdunkelnd; man findet in solchem Harne dann fast immer Eiweiß, hyaline Zylinder, Epithel, Blut. Die Sulfatschwefelsäure wird gebunden und nimmt ab, ja sie kann ganz verschwinden, so daß solcher Harn nach Zusatz von Essigsäure und Baryumchlorid keine oder eine nur geringe Trübung zeigt.

Nachweis. S. 262.

Pikrinsäure. $C_6H_2(NO_2)_3OH$.

Ausscheidung als solche und als Pikraminsäure (?) vor allem durch den Harn.

Nachweis.

1. Der Harn ist orangegelb-rot gefärbt und kann reichlich Indikan, auch Eiweiß, Blut enthalten.

2. Mit Cyankalium entsteht beim Erwärmen Rotfärbung, ebenso mit Kalilauge und Traubenzucker.

Piperazin. Diäthylendiamin. $C_2H_4\begin{matrix}NH\\NH\end{matrix}C_2H_4$.

Wird als solches ausgeschieden.

Nachweis.

1. Durch Pikrinsäure und durch Wismutjodidjodkalium wird Piperazin gefällt.
2. Man scheidet die Erdphosphate durch Kalilauge aus dem Harne ab, säuert das Filtrat mit wenigen Tropfen Salzsäure an, versetzt darauf mit Wismutjodidjodkaliumlösung, erwärmt, kühlt ab und filtriert. Beim Reiben mit einem Glasstabe kristallisiert aus dem Filtrate allmählich die Wismutverbindung als feines, rotes Pulver aus.
3. Charakteristisch ist auch die Benzoyl-Piperazinverbindung, die in rhombischen Blättchen kristallisiert.

Pyramidon. Dimethylamidoantipyrin.

$$C_{11}H_{11}N_2O.N(CH_3)_2.$$

Harn nach Pyramidongebrauch zeigt gewöhnlich eine hell purpurrote, an Hämatoporphyrinharn erinnernde Farbe und scheidet ein aus roten Nädelchen bestehendes Sediment ab; der rote Farbstoff ist durch Essigäther mit tiefrubinroter Farbe isolierbar (nach M. Jaffé Rubazonsäure III). Neben weiteren Stoffwechselprodukten findet sich eine gepaarte Glykuronsäure und ein Körper, unzweifelhaft Antipyrylharnstoff. Unverändertes Pyramidon war nicht nachzuweisen (Jaffé).

Nachweis.

1. Mit gleichen Teilen 2% Eisenchloridlösung versetzter Harn wird dunkelbraun-amethystfarben.
2. Mit sehr verdünnter alkoholischer Jodlösung (10% alkohol. Jodlösung wird auf das 10fache mit Wasser verdünnt) überschichtet entsteht ein violetter Ring, allmählich rotbraun werdend (Jolles).

Pyrantin. Succinyl-Phenetidin.

$$C_2H_4\begin{matrix}CO\\CO\end{matrix}N.C_6H_4.O.C_2H_5.$$

S. Phenetidin.

Resorcin. $C_6H_4(OH)_2$.

Wird im Harne teils als solches, teils als Ätherschwefelsäure ausgeschieden.

Nachweis.

1. Im Harne direkt. Resorcinprobe von Edlefsen siehe Naphtalinprobe 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 Fehling; mit Bromwasser Fällung von Tribromresorcin.
3. Trockenes Resorcin, mit Phtalsäureanhydrid auf 200° erhitzt, bildet Fluorescein; die wässerige Lösung des Rückstandes zeigt, mit Ammoniak versetzt, prachtvolle Fluoreszenz, im auffallenden Lichte grün, im durchfallenden goldgelb.

Rhamnus s. Cascara.

Rheum. Senna.

Die intensive gelbe oder grünlichgelbe Färbung von Harn nach dem Einnehmen von Rheum oder Senna rührt von der in diesen Droguen enthaltenen Chrysophansäure her.

Nachweis.

1. Der gelb bis grünlichgelb gefärbte Harn wird auf Zusatz von Alkalien gelbrot bis purpurrot und gibt die Hellersche Probe; die Färbung verschwindet aber auf Säurezusatz. (Unterschied von Blutfarbstoff.)
2. Schüttelt man nach Penzoldt Harn bei saurer Reaktion mit dem halben Volumen Äther, so wird die Chrysophansäure vom Äther gelöst; dieser Äther färbt auf Zusatz von Kali- oder Natronlauge diese rot. (Unterschied von Santoninharn, dessen Farbstoff durch Äther nicht extrahiert wird.) Der rote Harn von Rheum und Senna wird durch reduzierende Mittel (Zink-

staub, Natriumamalgam) entfärbt — Santoninharn nicht. Chrysophansäure wird durch Barytwasser oder Kalkmilch gefällt und scheidet sich mit dem Niederschlage aus — Santoninharn behält seine Farbe.

3. Mit Salzsäure versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt, entsteht auf Zusatz von Kaliumhydroxyd an der Berührungsstelle ein violetter Ring (E. Proksch).

Saccharin, Orthosulfaminbenzoesäureanhydrid, Benzoesäuresulfimid. $C_6H_4\begin{cases}CO\\SO_2\end{cases}NH$.

Geht nach den angestellten Versuchen in den Harn über; der Harn hatte süßen Geschmack.

Nachweis.

1. Man wird den etwas mit Phosphorsäure angesäuerten Harn mit Äther ausschütteln und den Ätherrückstand auf seinen Geschmack prüfen; widerlich süß bei Saccharin; man dampft den Ätherrückstand im Silbertiegel mit etwas konzentrierter Natronlauge ein und erhitzt eine $^1/_2$ Stunde im Ölbade auf 250°; die Lösung der Schmelze in Wasser wird nach dem Ansäuern mit Äther ausgeschüttelt; der Ätherrückstand gibt die Salicylsäurereaktion.
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 Natriumkarbonatlösung 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 Chlorbaryumlösung; bei Anwesenheit von Saccharin entsteht eine Fällung von Baryumsulfat (Hilger, Spaeth).

Safran.

Safran färbt Harn gelb — 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 (Daiber).

Salacetol. $C_6H_4\begin{cases}OH\\COO.CH_2.CO.CH_3\end{cases}$.

Findet sich im Harn als Salicylsäure und Aceton.

Salipyrin. $C_{11}H_{12}N_2O.C_7H_6O_3$.

Nachweis. Siehe Salicylsäure und Antipyrin.

Salicylate, Salicylsäure. $C_6H_4\begin{cases}OH\\COOH.\end{cases}$

Die Salicylate gehen als Salicylursäure, als Ätherschwefelsäure, als Glykuronsäureverbindung und teilweise unverändert in den Harn über und sind bereits schon nach ganz kurzer Zeit nach dem Einnehmen nachweisbar. Bemerkt sei, daß die Anwesenheit von Salicylsäure im Harne die Gärung beim Zuckernachweis beeinflussen kann.

Nachweis.

1. Harn färbt sich nach Zugabe von Eisenchlorid unter Abscheidung von Ferriphosphat intensiv blauviolett.
2. Bei geringen Mengen von Salicylsäure schüttelt man den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn mit Äther und prüft mit nicht zu konzentriertem, möglichst neutralem Eisenchlorid die wässerige Lösung des Ätherrückstandes; man führe zumal bei geringen Mengen die Reaktion als Zonenreaktion aus und nehme mit Wasser verdünntes Eisenchlorid.

Salol. Salicylsäure-Phenyläther. $C_6H_4\begin{cases}OH\\CO.O.C_6H_5.\end{cases}$

Geht im Harn in Salicylsäure und Phenol über.

Nachweis.

Salicylsäure und Phenol lassen sich durch etwas alkoholhaltigen Äther dem Harn entziehen; Phenol bleibt beim Schütteln der ätherischen Flüssigkeit mit einer Natriumkarbonat enthaltenden Lösung (bei vorherr-

schender alkalischer Reaktion) im Äther, Salicyl- und Salicylursäure sind in der alkalischen Flüssigkeit enthalten.

Salophen. Acetylparamidophenolsalicylsäureester.

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\CO\,.\,O\,.\,C_6H_4NH\,.\,CO\,.\,CH_3\end{cases}.$$

Nachweis.

Der Harn gibt die Salicylsäure- und Indophenolreaktion (Acetanilid).

Sal

Ma

Salicyl

Sar

De

stark (g

Na

Sa

Sa

bis gri

stoff her (Xanthopsin).

Nachweis.

Mit Alkalien wird der Harn rot. (Siehe Rheum, Senna S. 428).

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.

Nachweis v. Santonin i. Harn.

Harnzu ccm. Harn werden mit einigen Tropfen Fehling'scher Lösung versetzt. Bei Gegenwart v. Santonin tritt eine dunkelgrüne Färbung ein, die bei weiterem Zusatz v. Fehling'scher Lösung in dunkelviolett = rot übergeht. Setzt man nun Glycerin hinzu, so tritt eine smaragdgrüne Färbung ein. Eine ähnliche Reaktion tritt nur bei Eiweißharn ein. Ohne Eiweiß bei Harn beim Zusatz von Fehling'scher Lösung u. Glycerin Schwarzgrün, jedoch tritt nicht die Violettfärbung ein.

schender alkalischer Reaktion) im Äther, Salicyl- und Salicylursäure sind in der alkalischen Flüssigkeit enthalten.

Salophen. Acetylparamidophenolsalicylsäureester.

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\CO\,.\,O\,.\,C_6H_4NH\,.\,CO\,.\,CH_3\end{cases}.$$

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.).

Sandelöl.

Der nach Sandelölgebrauch ausgeschiedene Harn reduziert stark (gepaarte Glykuronsäuren) und enthält Harzsäuren.

Nachweis.

Nach Zusatz von Mineralsäure entsteht keine Farbenreaktion (Unterschied von Kopaivabalsam); durch konz. Salzsäure werden Harzsäuren abgeschieden.

Santoninfarbstoff.

Santonin geht als solches nicht in den Harn über; die gelbe bis grünlichgelbe Farbe des Harnes rührt von einem Farbstoff her (Xanthopsin).

Nachweis.

Mit Alkalien wird der Harn rot. (Siehe Rheum, Senna S. 428).

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.

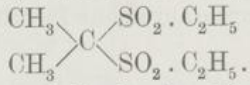
Strychnin. $C_{21}H_{22}N_2O_2$.

Nach Untersuchungen geht Strychnin als solches und nicht als Strychninsäure in den Harn über; es ist bald nach dem Einverleiben nachweisbar.

Nachweis.

1. Eine Lösung von Strychnin in konzentrierter Schwefelsäure wird durch ein Splitterchen Kaliumdichromat prachtvoll violett gefärbt. (Man nimmt die Reaktion in einem Porzellanschälchen vor.)
2. Gibt man zu einer Lösung von salpetersaurem Strychnin Kaliumdichromatlösung, so bilden sich gelbe Kristalle von chromsaurem Strychnin. Jede Spur desselben gibt, mit konzentrierter Schwefelsäure befeuchtet, die charakteristische violette Färbung.

Sulfonal. Diäthylsulfondimethylmethan.



Geht als solches nicht in den Harn über; durch den Organismus wird es leicht in organische Schwefelverbindungen umgewandelt, größtenteils in gepaarte Sulfosäuren.

Nachweis.

1. Der Harn ist zuweilen dunkelrot, weinrot und riecht oft nach Obst; diese Färbung ist gefahrdrohend; man findet dann Hämatoporphyrin, auch Eiweiß, Zylinder, hie und da auch Gallenfarbstoffe im Harne.
2. Der Harn zeigt das Seite 355 angegebene spektralanalytische Verhalten.

Tannigen. Diacetylgerbsäure. $C_{14}H_8(CH_3 . CO)_2O_9$.

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 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.

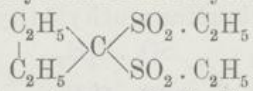
Der Harn zeigt angenehmen Veilchengeruch.

Terpinhydrat. $C_{10}H_{16}$.

Nachweis.

Man verdampft 250—500 ccm Harn, nimmt den Rückstand mit 5 ccm Alkohol auf, filtriert in ein Reagensglas und verschließt dieses mit einem Kork, der ein rechtwinklig gebogenes Glasröhrchen enthält, in dessen äußerem wagrechten Schenkel sich einige Antimonchlorürkristalle befinden. Erhitzt man den Inhalt des Reagensglases vorsichtig, so färben sich die Kristalle rot, wenn Terpinhydrat zugegen ist.

Tetronal. Diäthylsulfondiäthyläther.



Wirkung im Organismus wie Sulfonal.

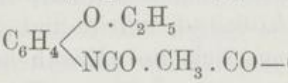
Thallin. Para-Methoxytetrahydrochinolin. Tetrahydroparachinanisol. $C_9H_9(O.CH_3)NH$.

Geht zum Teil unverändert, zum Teil als Chinanisol in den Harn über.

Nachweis.

1. Eisenchlorid gibt mit solchem Harne eine purpurrote Farbe.
2. Man schüttelt nach Penzoldt den Harn mit Chloroform aus und gibt zum Chloroformauszug eine Spur Eisenchlorid; es tritt Grünfärbung ein.
3. Die Farbe des Harnes ist nach Thallingebrauch gewöhnlich grünlichgelb bis schön grün bis grünlich schwarz.

Thermodin. Acetyl-p-Äthoxyphenylurethan.



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.

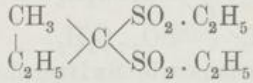
Thymol. $C_6H_3 . CH_3 . C_3H_7 . OH$ (1, 4, 3).

Geht im Organismus in Thymolschwefelsäure, Thymolhydrochinonschwefelsäure, Thymolglykuronsäure und in das Chromogen eines grünen Farbstoffes über.

Nachweis.

Versetzt man nach Blum Thymolharn mit einem Drittel seines Volumens konzentrierter Schwefelsäure und mit unterchlorigsaurem Natron, so scheidet sich nach längerem Stehen quantitativ Dichlorthymolglykuronsäure kristallinisch aus.

Trional. Diäthylsulfonmethyläthylmethan.



Nachweis.

1. Der Harn zeigt blutrote Farbe und wird auf Zusatz von Säure violett.
2. Die mit Bleiacetat- oder alkalischer Baryumchloridlösung 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. 355.)

Urethan. Karbaminsäureäthylester. $NH_2 . CO . O . C_2H_5$.

Tritt als solches neben einer reduzierenden Substanz im Harne auf.

Nachweis.

1. Reduziert in alkalischer Lösung Kupferoxyd, wobei der Geruch nach Aldehyd auftritt und die Glasfläche des Reagensröhrchens 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 Verdampfungsrückstand der Ätherlösung mit Wasser auf und bringt zur Urethanlösung Kalilauge und dann allmählich Sublimatlösung (1 : 20); es entsteht zunächst ein gelber Niederschlag von Quecksilberoxyd, der aber beim Umschütteln alsbald in einen weißen von Quecksilberkarbamat 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 (Dibromurotropin). (Casper.)

Veratrin. $C_{32}H_{49}NO_9$.

Wird zum Teil als solches durch den Harn ausgeschieden.

Nachweis.

1. 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 fluoresziert.

Die meisten neueren und neuen Arzneimittel sind mit Hilfe der Kenntnis ihrer Zusammensetzung im Harne leicht nachweisbar, da sie meist aus irgend einem der im vorhergehenden erwähnten Stoffe bestehen oder im Organismus in einen dieser zersetzt werden.