3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Harnanalyse. Zur Conservirung des Harns eignen sich nach den Untersuchungen von W. Cronheim¹⁾ nur Thymol in 10procentiger alkoholischer und Fluornatrium in gesättigter wässriger Lösung, diese erfüllen aber, 1 cc auf 100 cc Harn, den Zweck in vollkommen ausreichender Weise.

Das Gewicht der festen Stoffe des Harns kann man aus dem specifischen Gewicht nach Donzé²⁾ berechnen, wenn man den über 1000 hinausgehenden Werth mit 2,2 multiplicirt. Durch die umsichtigen Untersuchungen von H. J. Long³⁾, der namentlich den beim Eindampfen stattfindenden Ammoniakverlust berücksichtigt, ergibt sich jedoch die Zahl 2,60 als Coëfficient bei 25° C., respective 2,34 bei 20° C.

Für die quantitative Untersuchung der Aschen hat A. Neumann⁴⁾ ein Verfahren ausgearbeitet, bei dem die Verkohlung, welche eine Verlangsamung der Oxydation verursacht, vermieden wird, indem langsam aber beständig als Oxydationsmittel eine Mischung von concentrirter Schwefelsäure und concentrirter Salpetersäure zugefügt wird; die Operation wird in einem Jenaer Kolben ($\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ l) vorgenommen, über dem sich ein Hahntrichter befindet. Fett, Kohlehydrate und ähnliche schäumende Substanzen werden mit 1procentiger Kalilauge zur Syrupdicke eingedampft, Harn und andere Flüssigkeiten werden mit $\frac{1}{10}$ Volumen concentrirter Salpetersäure gemengt und aus einem Hahntrichter so zu 30 cc siedender Salpetersäure zutropfen gelassen, dass bei starkem Sieden der Flüssigkeit die Volumenvermehrung der letzteren 100 cc nicht übersteigt. Zum Schluss wird die Flüssigkeit bei kleiner Flamme auf 50 cc eingedampft und nunmehr mit 5—10 cc des Säuregemisches übergossen.

Nun wird mit kleiner Flamme erwärmt, bis die Entwicklung der Nitrosodämpfe geringer wird, dann gibt man die Mischung tropfenweise

1) Archiv f. Physiologie, 1902, Supplement 262—266.

2) Comptes rendus soc. biol. 55, 537.

3) The Journal of the american chemical Society 25, 256.

4) Zeitschrift f. physiol. Chemie 37, 115.

zu, bis nach Unterbrechung des Säurezusatzes der Kolbeninhalt sich nicht mehr bräunt oder schwärzt; zum Schluss fügt man dreimal so viel Wasser zu, als Säuregemisch verbraucht wurde, und kocht noch 5—10 Minuten.

Zur Eisenbestimmung in der Aschenlösung benutzt Neumann folgende Beobachtung: Fügt man zu einer schwefelsauren Lösung von Zinksulfat und Natriumphosphat Ammoniak hinzu und erhitzt, so krystallisiert alsbald Zinkammoniumphosphat aus, und hierbei wird in der Flüssigkeit gleichzeitig vorhandenes Eisenoxyd quantitativ mit ausgefällt; als Zinkreagens dient eine Mischung von 25 g Zinksulfat und 100 g Natriumphosphat in verdünnter Schwefelsäure gelöst und auf ein Liter aufgefüllt. Mit diesem Reagens wird die Aschenlösung versetzt, mit Ammoniak alkalisch gemacht, bis der Zinkphosphatniederschlag verschwunden ist, und dann zum Sieden erhitzt; der entstandene krystallinische Niederschlag wird durch wiederholtes Decantiren gewaschen, abfiltrirt und in heisser verdünnter Salzsäure gelöst; die Lösung wird mit Ammoniak abgestumpft, mit einigen Cubikcentimetern Stärkelösung und 1 g Jodkalium versetzt und auf 50—60° C. erwärmt; das ausgeschiedene Jod wird mit $\frac{n}{250}$ Thio-sulfatlösung bestimmt, deren Titer mit einer 50fach verdünnten Fresenius-schen Eisenchloridlösung¹⁾ eingestellt ist, der zur Haltbarmachung etwas Salzsäure zugesetzt wird. Bei sehr eisenarmen Körpern, zum Beispiel Harn, thut man gut, vorher eine bekannte Eisenmenge zuzusetzen.

Zur Bestimmung der Phosphorsäure wird die mit wenig Säuregemisch (40 cc) hergestellte Aschenlösung auf 150 cc aufgefüllt, mit 50 cc 50procentiger Ammonnitratlösung auf 70—80° erhitzt und mit 40 cc 10procentiger Ammonmolybdatlösung versetzt. Der gut ausgewaschene Niederschlag wird in $\frac{n}{2}$ Natronlauge gelöst, das entstandene NH_3 weggekocht und die überschüssig zugesetzte Natronlauge mit $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure zurücktitrirt (Indicator: Phenolphthalein). Nach der Gleichung: $2 (\text{NH}_4)_3 \text{PO}_4 \cdot 24 \text{MoO}_3 \cdot 4 \text{HNO}_3 + 56 \text{NaOH} = 2 \text{Na}_2 \text{HPO}_4 + 24 \text{Na}_2 \text{MoO}_4 + 4 \text{NaNO}_3 + 32 \text{H}_2\text{O} + 6 \text{NH}_3$ entsprechen 56 NaOH 1 P_2O_5 , das heisst 1 cc $\frac{n}{2}$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5 .

Auch alle anderen Aschenbestandtheile kann man in der Aschenlösung bestimmen. Besonders hervorgehoben sei noch die Halogenbestimmung, bei der die Veraschung in einer mit eingeschliffenem Tropftrichter versehenen Retorte mit wässrigem Säuregemisch vorgenommen wird und

¹⁾ Quantitative Analyse 6. Aufl. 1, 288.

die Dämpfe in einer mit Silbernitrat von bekanntem Gehalt versehenen Vorlage aufgefangen werden; vor der Titrierung mit Rhodanlösung muss natürlich die salpetrige Säure durch Abrauchen und Kaliumpermanganat entfernt werden.

Für die Aciditätsbestimmung des Harns macht O. Folin¹⁾ darauf aufmerksam, dass die Hauptschwierigkeiten noch nicht überwunden sind, nämlich die Gegenwart von Calcium neben einbasischem Phosphat und die Gegenwart von Ammonsalzen. Die störende Wirkung der Ca-Salze kann mit einer Reaction von Liebig beseitigt werden, der Umsetzung von Di- und Tricalciumphosphat mit Kaliumoxalat. Eine Lösung von Dinatriumphosphat ist alkalisch gegen Phenolphthalein, fügt man Calciumchlorid hinzu, so wird sie stark sauer ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Gibt man wenige Krystalle Kaliumoxalat hinzu und schüttelt, so tritt die alte Färbung wieder auf, und der grobe Phosphat-Niederschlag ist durch einen feinen Calciumoxalatniederschlag ersetzt. Die Reaction ist quantitativ, denn setzt man erst Kaliumoxalat und dann Chlorcalcium zu einer titrirten Monokaliumphosphatlösung hinzu, so ändert sich trotz Gegenwart von Calcium der Titer nicht. Die störende Wirkung der Ammonsalze wird fast auf Null herabgedrückt, ebenfalls durch Kaliumoxalat, denn die Reaction mit Phenolphthalein wird scharf, während ohne Oxalat der Endpunkt unsicher ist. Daraus ergibt sich folgende Methode:

25 cc Harn werden in einem 200 cc-Kolben mit 1—2 Tropfen $\frac{1}{2}$ procentiger Phenolphthaleinlösung und 15—20 g gepulverten Kaliumoxalats versetzt und unter kräftigem wiederholtem Schütteln auf einmal (*at once*) mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge titirt. Folin fand bei 25° eine Acidität (bei einem specifischen Gewicht von 1,020—1,030) von 10,4—22,0 $\frac{n}{10}$ Säure, ohne Oxalat 12,5—17,7. Auch bei stark ammoniakhaltigen Harnen (Coma diabeticum) ist das Verfahren genügend.

Die Mineralacidität des Harns, das heisst der Ueberschuss der Säuren über die Basen, war bisher nur durch Bestimmung der einzelnen Basen und Säuren möglich. Folin schlägt dafür folgendes Verfahren vor: 0,3—0,6 g reines, trockenes, körniges Kaliumcarbonat werden genau in einer Platinschale gewogen und 25 cc Harn zuge-messen. Die alkalische Lösung wird im Sandbad zur Trockene verdampft, die Schale zur Rothgluth erhitzt, circa 1 Stunde lang, nachdem alles Ammoniak weg ist. Dann werden 10 cc Wasserstoffsuperoxydwasser zu-

1) Americ. Journ. of Physiology 9, 265.

gefügt, die Schale mit einem Uhrglas bedeckt und mässig bis zur H_2O_2 -Zersetzung erwärmt. Das Uhrglas wird weggenommen und die Spritzer mit wenig Wasser in die Schale gespült, dann wird ganz trocken gedampft und wieder wie oben erhitzt. Nun wird der Rückstand mit einem Ueberschuss von $\frac{n}{10}$ Salzsäure (75 oder 100 cc) gelöst, in einen Kolben gespült, zur Austreibung der Kohlensäure gekocht und erkalten gelassen. Darauf wird mit $\frac{n}{10}$ Lauge bei Gegenwart von wenig Kaliumoxalat und Phenolphthalein zurücktitrirt. Zu berücksichtigen sind aber noch 1) die Alkalinität des Kaliumcarbonats, 2) die Acidität des Wasserstoffsuperoxyds, 3) die Schwefelsäure desselben, 4) das praeformirte Ammoniak des Harns, 5) die anorganische Schwefelsäure des Harns und 6) die Gesamt-Schwefelsäure in der titrirten Lösung. Da sich die Reagentien hinsichtlich der sub 1)—3) genannten Werthe in Glasstöpselflaschen Monate lang unverändert halten, so sind die betreffenden Bestimmungen nur einmal nöthig. Es sind also jedesmal zu machen: Urinveraschung und Titrirung, eine Ammoniakbestimmung, zwei Sulfatbestimmungen. Praeformirtes Ammoniak, die Acidität des Wasserstoffsuperoxyds und der unorganischen Schwefelsäure sind in $\frac{n}{10}$ cc von der Titrationsdifferenz abzuziehen. Die Acidität der organischen Schwefelsäure wird gefunden durch Subtraction der Wasserstoffsuperoxyd-Schwefelsäure und anorganischen Schwefelsäure und Division der Milligramme durch 8.

Die Schwefelbestimmung im Harn nimmt G. Modrakowski¹⁾ in der Art vor, dass er 50 cc Harn tropfenweise zu 1—2 g Natriumsuperoxyd in einer Nickelschale fügt, die Flüssigkeit auf dem Wasserbad einengt und neuerdings mit 2—3 g Superoxyd erst schwach, dann stark glüht. Aus der Schmelze werden die Sulfate in üblicher Weise gefällt.

Für die Bestimmung der Sulfate im Harn empfiehlt O. Folin²⁾, denselben zunächst mit Kaliumchlorat und concentrirter Salzsäure zu behandeln, dann erst mit Baryumchlorid zu fällen, den Niederschlag mit heissem Wasser und 5 procentiger Ammoniumchloridlösung auszuwaschen (nicht mit Alkohol). Das halbtrockene Filter wird so oft mit Alkohol befeuchtet und letzterer angezündet, bis das Filter zu brennen anfängt; dadurch wird der Gefahr des Verspritzens vorgebeugt.

Zur Bestimmung des Chlors in thierischen Flüssigkeiten nimmt C. Strzyzowski³⁾ die Veraschung bei Gegenwart von Magnesia

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **38**, 562.

2) Amer. Journ. Physiol. **7**, 152.

3) Oesterr. Chemiker-Zeitung **6**, 25.

vor. 10 cc Harn (Blut, Organ, Nahrungsmittel) werden mit 1 g MgO auf dem Wasserbade, dann über freier Flamme getrocknet und geglüht; dann wird mit 5 cc Wasser und 10 cc verdünnter Schwefelsäure das Magnesiumoxyd gelöst; nachdem die überschüssige Säure mit Calciumcarbonat (chlorfrei!) neutralisirt ist, wird in der üblichen Weise nach Mohr titirt.

Für den Nachweis des Bromkaliums im Harn hatte E. Salkowski angegeben, dass man die mit Soda und Salpeter erhaltene Schmelze mit Salzsäure ansäuert und mit Chloroform extrahirt;¹⁾ eine Gelbfärbung sollte für Brom charakteristisch sein. Neuerdings macht aber derselbe Forscher darauf aufmerksam, dass auch eine 2—5 procentige Kaliumnitritlösung mit dem gleichen Volumen Salzsäure (1,12 spec. Gew.) eine in Chloroform übergehende Gelbfärbung gibt. Es empfiehlt sich daher, entweder den Chloroformauszug wiederholt mit Wasser zu waschen oder bei Ansführung der Schmelze das Kaliumnitrat ganz zu vermeiden.

Um Brom und Jod neben einander im Harn nachzuweisen, setzt P. Cathcart²⁾ zu der Schwefelkohlenstoffprobe noch etwas Petroläther. Während Jod dieses Gemisch rosa bis violett färbt, wird es durch Brom nicht gefärbt, weil das Brom durch die Kohlenwasserstoffe gebunden wird.

Zur Bestimmung des Kalis im Harn combiniren W. Autenrieth und R. Bernheim³⁾ das de Koninck'sche Kobaltverfahren mit der Ueberchlorsäure-, respective Platinchloridfällung. Als Kobaltreagens dient ihnen eine Mischung von 30 g krystallisirtem Kobaltnitrat in 60 cc Wasser mit 100 g 50 procentiger Natriumnitritlösung und 10 cc Eisessig. 50 cc Harn werden mit 6—10 cc dieses Reagens versetzt und über Nacht stehen gelassen, der entstandene Niederschlag wird dann auf ein aschefreies Filter abfiltrirt, mit kalter verdünnter Reagenslösung ausgewaschen und bei 110—120° getrocknet. Der Niederschlag wird quantitativ in eine Porzellanschale gebracht, das Filter verascht, die Asche mit heissem Wasser extrahirt, der Auszug in dieselbe Porzellanschale gegeben und dann mit 10 cc 25 procentiger Salzsäure vorsichtig eingedampft. Der Rückstand wird entweder mit Platinchlorid in bekannter Weise weiter verarbeitet oder mit etwas Wasser und 10 cc käuflicher Ueberchlorsäurelösung (spec. Gew. 1,2 = 18 %) bis zum Auftreten weisser

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **38**, 157.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie **38**, 165.

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie **37**, 29.

Nebel erhitzt. Der Rückstand wird dann mit Alkohol angerührt, in einem Gooch-Tiegel mit Alkohol und Alkohol-Aether gewaschen und bei 120—170° getrocknet. Bei Gegenwart von Kaliumjodid kann diese Nitrit-Methode natürlich nicht angewandt werden.

Zur fractionirten Bestimmung der stickstoffhaltigen Urinbestandtheile bestimmen E. Freund und R. Fellner¹⁾ zunächst, wie viel gesättigte Sublimatlösung zu 5 cc Harn gesetzt werden muss, um mit Soda einen gelb gefärbten Niederschlag zu geben. Gibt man zu 50 cc mit Salzsäure angesäuerten und mit alizarinsulfosaurem Natron versetzten Harns die ermittelte Sublimatmenge, dann entsteht durch Zusatz von Essigsäure und essigsaurem Natron (bis zum Verschwinden der freien Salzsäure) ein Niederschlag (N I) von Harnsäure und Xanthinbasen. Im Filtrat (F I) entsteht ein zweiter Niederschlag (N II) von Kreatinin und Ammoniak durch Zusatz des gleichen Volumens 50 procentiger Natriumacetatlösung. Der Niederschlag wird in Salzsäure gelöst, und darin der gesammte Stickstoff und der nach Ausfällung des Ammoniaks (durch Jodkalium und Lauge) verbleibende bestimmt, respective das Quecksilber mit Kaliumcyanid und Silbernitrat titirt. In dem Filtrat (von N II) wird durch Zusatz von rauchender Salzsäure und darauf von Alkali Harnstoff gefällt (N III). In dem Filtrat dieses Niederschlags gibt neuerlicher Zusatz von Sublimat eine Fällung (N IV), die Hippursäure und die eigentlichen Extractivstoffe enthält.

Der Harnstoffgehalt des normalen menschlichen Urins soll nach Wm. Ovid Moor²⁾ durch alle bisher gebräuchlichen Methoden zu hoch angegeben werden, da ausser Harnstoff noch Hämatoporphyrin, Urochrom, Xanthinbasen, Harnsäure, Farbstoffe etc. zum Theil mit bestimmt werden. Man könne dies vermeiden, wenn man den Harn bei 50° mit Zinkpermanganat oxydirt, dann aus dem eingedampften Filtrat den Harnstoff mit einem Gemenge von 9 Theilen Amylalkohol und 1 Theil Aethylalkohol extrahirt, und den Auszug mit einer alkoholischen Sublimatlösung (Indicator amyalkoholische Aetzkalkilösung) titirt. Auf die Einzelheiten des Verfahrens wird erst einzugehen sein, wenn weiteres experimentelles Material vorliegt; Moor findet so im normalen menschlichen Harn 1,3—6,6 % Harnstoff, ferner einen eigenthümlichen aromatischen Alkohol, der in grösserer Quantität als der Harnstoff vor-

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **36**, 401.

2) Zeitschrift f. Biologie **44**, 121—160; Le Physiologiste russe **2**, 128.

handen ist, aber nach Kuljabko¹⁾ keine einheitliche Substanz darstellt.

Die Bestimmung der Harnsäure durch Ueberführung derselben in Harnstoff ist bekanntlich von A. Jolles²⁾ als analytische Methode ausgearbeitet worden; die Methode ist vielfach angegriffen, aber auch bestätigt worden³⁾, Jolles hat sie neuerdings noch einmal eingehend dargestellt⁴⁾. Während dieser mit Permanganat die Oxydation vornimmt, bewerkstelligt J. F. Tocher⁵⁾ dieselbe durch Chromsäure und schliesst daran das Hypobromitverfahren an. J. Rudisch und L. Boroschek⁶⁾ haben hingegen das Ludwig-Salkowski'sche Verfahren in der Art abgeändert, dass sie an Stelle der ammoniakalischen Silberlösung eine $\frac{n}{20}$ Silbersulfitlösung (Auflösung von Chlorsilber in gesättigter Natriumsulfitlösung) anwenden. 100 cc mit Soda neutralisirten Harn werden mit 15 cc überschüssiger Sodalösung und 10 cc $\frac{n}{20}$ Silbersulfitlösung versetzt. Mit dem sich nach 5 Minuten absetzenden, filtrirten und ausgewaschenen Niederschlag kann entweder eine Silber- oder eine Stickstoffbestimmung ($C_5H_3AgN_4O_3$) vorgenommen werden.

Bei der quantitativen Bestimmung des Harnstoffs mit Quecksilbernitrat wirken die gleichzeitig vorhandenen Mengen Ammoniak, Harnsäure und Kreatinin störend. J. H. Long⁷⁾ zeigt nun, dass in 20 cc (10 cc Harn und 10 cc Wasser oder Barytlösung) 6 mg Ammoniak 1 cc Quecksilberlösung beanspruchen, 7,5 mg Harnsäure 0,15 cc, und 14 mg Kreatinin 0,85 cc, was eine durchschnittliche Correctur von 2 cc Quecksilberlösung ergibt. Die Titration nimmt Long in der Art vor, dass er als Endpunkt das Auftreten einer deutlich gelben Färbung bei der Tüpfelprobe mit Soda ansieht. Die Quecksilberlösung wird dann so verdünnt, dass zur Titrirung von 200 mg Harnstoff in 20 cc genau 20 cc des Reagens nöthig sind. Bezüglich der Tabelle, die das Verhältniss zwischen Harnstoffmenge und Quecksilberlösung angibt, muss auf das Original verwiesen werden.

1) Physiologiste russe **2**, 131.

2) Diese Zeitschrift **39**, 267.

3) Ebenda **39**, 712; vergl. E. Richter, diese Zeitschrift **41**, 350 ff; auch Journ. f. prakt. Chemie **67**, 274; Falta, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **35**, 294.

4) Wiener med. Wochenschrift 1903, No. 10.

5) Pharm. Journ. [4] **15**, 161.

6) Journ. americ. chem. Soc. **24**, 562—569.

7) Journ. americ. med. Ass. 30. Mai 1903, Sep.-Abdr. v. Vf.

Die für die Erkennung der Pentosen und der Glukuronsäure so wichtige Orcin-Reaction ist durch zwei Arbeiten verbessert worden; zunächst zeigen Rosin und Laband¹⁾, dass man oft die Probe nicht mit nativem Harn, sondern besser mit dem Benzoatniederschlag anstellen soll, den man erhält, wenn man 10 cc Harn mit 3 Tropfen Benzoylchlorid und 30 Tropfen Natronlauge schüttelt. Wichtiger noch ist der Hinweis von M. Bial²⁾, dass ein Zusatz von Eisenchlorid zur Salzsäure die Empfindlichkeit der Reaction wesentlich erhöht. Er erhitzt 4—5 cc des fertigen Reagens (500 cc 30 procentiger HCl, 1 g Orcin, 25 Tropfen liq. ferr. sesquichlor.) zum Sieden und tröpfelt dann von dem verdächtigen Harn einige Tropfen bis zu 1 cc zu: es tritt prachthvolle Grünfärbung nur mit Pentosen nicht mit Glukuronsäure ein.

Die von Tollens und Kröber vorgeschlagene Pentosanbestimmung durch Destillation und Wägung des gebildeten Furfurols als Phloroglucinverbindung besitzt nach R. Jäger und E. Unger³⁾ mannigfache Mängel. Sie halten das mit Barbitursäure entstehende Condensationsproduct des Furfurols

für geeigneter zur quantitativen Bestimmung, da es in verdünnter Salzsäure unlöslich ist. Es empfiehlt sich, die Stärke vor der Destillation durch 1 procentige Salzsäure zu entfernen.

Zur Abscheidung und quantitativen Bestimmung der Arabinose neben allen anderen Zuckerarten benutzen C. Neuberg und J. Wohlgemuth⁴⁾ die Unlöslichkeit des Diphenylhydrazons in Alkohol. 100 cc Harn, welcher mindestens 1 % Arabinose enthalten soll, (anderen Falls wird im Vacuum eingeeengt) werden nach Ansäuern mit Essigsäure auf 40 cc eingedampft und mit 40 cc 96 procentigen Alkohols versetzt; von den ausgeschiedenen Salzen wird abfiltrirt und das Filtrat mit 1,4 g reinen Diphenylhydrazins $\frac{1}{2}$ Stunde im siedenden Wasserbade unter Ersatz des verdampften Alkohols erwärmt. Der entstandene Niederschlag, nach 24 Stunden im Gooch-Tiegel abfiltrirt, mit 30 procentigem Alkohol ausgewaschen und bei 80° getrocknet, besteht zu 47,47 % aus Arabinose.

1) Allgem. med. Centralzeitung **71**, 6 und 19.

2) Ebenda und deutsche med. Wochenschrift 1903, No. 27.

3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **35**, 4440; **36**, 1222.

4) Zeitschrift f. physiol. Chemie **35**, 31—40.

Hat man in einer Flüssigkeit die Seliwanoff'sche Reaction angestellt, so empfiehlt es sich nach H. Rosin¹⁾ noch, die erkaltete Lösung mit Soda zu neutralisiren und mit Amylalkohol zu extrahiren. Das Extract enthält einen gelblich rothen Farbstoff, der grün fluorescirt und durch einige Tropfen absoluten Alkohols rein rosa wird. Seine dünnen Lösungen zeigen einen einzigen Streifen in Grün bei der Linie E bis zu b hin, concentrirtere diesen sehr dunkel, über beide Linien etwas hinausgehend und einen zweiten schwachen, unscharf begrenzten im Blau bei der Linie F. Concentrirte Lösungen absorbiren das Spectrum vom Grün an.

Zum Nachweis des Acetons benutzt A. Fröhner²⁾ die zuerst von Stock angegebene Reaction. Von 500 cc mit Essigsäure angesäuerten Harns werden 5 cc abdestillirt, zum Destillate wird ein Körnchen salzsauren Hydroxylamins gegeben, die Lösung mit Chlorkalk versetzt und mit wenig Aether ausgeschüttelt. Fröhner gibt an, dass sich noch bei einem Gehalt von 0,001 g Aceton der Harn blau färbt; doch ist nach Zickler³⁾ die Empfindlichkeit erheblich geringer; zwar lässt sich 1 mg Aceton in Wasser so nachweisen, im Harn gelingt die Reaction jedoch erst, wenn man zu 10 cc 2 cc 1 procentige Acetonlösung, das heisst 0,02 g zufügt. Danach wird also die Legal'sche Probe nicht von der Stock'schen verdrängt werden.

Kurz erwähnt werden mag nur, dass zur Bestimmung der Oxalsäure im Harn W. Autenrieth und H. Barth⁴⁾ Kalkfällung und Aetherextraction combiniren, und dass die Blumenthal'sche Methode der Hippursäurebestimmung⁵⁾ durch Fr. Soetbeer⁶⁾ angegriffen, von F. Blumenthal und A. Braunstein⁷⁾ aber neuerdings als brauchbare Vergleichsmethode angesprochen worden ist.

Die Ueberführbarkeit der β -Oxybuttersäure in Crotonsäure ermöglicht nach E. Darmstädter⁸⁾ ihre quantitative Bestimmung, wenn man die Destillation mit 50 procentiger Schwefelsäure und bei constanter Concentration ausführt. Der schwach alkalisch gemachte

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **38**, 555.

2) Deutsche med. Wochenschrift **27**, 79.

3) Prager med. Wochenschrift **27**, 112.

4) Zeitschrift f. physiol. Chemie **35**, 327; vergl. Luzzatto, ebenda **37**, 225.

5) Diese Zeitschrift **39**, 605.

6) Zeitschrift f. physiol. Chemie **35**, 356.

7) Hofmeisters Beiträge **3**, 385—390.

8) Zeitschrift f. physiol. Chemie **37**, 355.

Harn wird eingedampft und mit etwa 50 procentiger Schwefelsäure 2 Stunden destillirt, wobei das verdampfte Wasser durch Zutropfen ersetzt wird. Das Destillat wird ausgeäthert, der Aether verdampft, der Rückstand kurze Zeit auf 160° erhitzt (zur Vertreibung flüchtiger Fettsäuren), dann in Wasser gelöst, filtrirt und (mit Phenolphthalein als Indicator) titirt.

Aminosäuren. Ein sehr ergiebiges Verfahren zur Erkennung der α -Aminosäuren haben E. Fischer und P. Bergell¹⁾ unter Anwendung des β -Naphtalinsulfochlorids ausgearbeitet. 2 Moleküle des Chlorids werden in Aether gelöst und mit der in 1 Molekül Normalnatronlauge gelösten Aminosäure bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt, wobei durch wiederholtes Zufügen von Normalalkali für das Bestehenbleiben der alkalischen Reaction gesorgt werden muss. Die filtrirte und eventuell mit Thierkohle behandelte wässrige Schicht lässt auf Zusatz von Salzsäure die schwer lösliche Naphtalinsulfoverbindung ausfallen.

Zur quantitativen Trennung des Leucin-Tyrosin-gemisches, wie es bei der Hydrolyse der Eiweisskörper entsteht, benutzen J. Habermann und R. Ehrenfeld²⁾ Eisessig, in dem sich Leucin leicht, Tyrosin aber nur schwer löst. Das Gemisch (etwa 6—8 dg) wird mit 10 cc Eisessig und ebensoviel 96 procentigen Alkohols zum Sieden erhitzt und filtrirt; die Lösung enthält das Leucin, der Niederschlag besteht aus (sehr reinem) Tyrosin.

Eine für das Tyrosin charakteristische Reaction hat C. Th. Mörner³⁾ gefunden. Erhitzt man einige Cubikcentimeter eines Gemisches, das aus einem Theil Formalin (40 procentige Formaldehyd-Lösung) 45 Theilen Wasser und 55 Theilen concentrirter Schwefelsäure besteht, mit Tyrosin, so stellt sich eine schöne, lang andauernde Grünfärbung ein. Auch mit Tyrosinlösung gelingt, eventuell bei längerem Kochen, die Reaction.

Für den Nachweis von Lysin und Ornithin benutzt R. O. Herzog⁴⁾ die Condensationsfähigkeit beider Körper mit Phenylisocyanat. Die erhaltenen Condensationsproducte geben bei der Behandlung mit starker Salzsäure Wasser ab und verwandeln sich in die entsprechenden Hydantoine, deren Schmelzpunkt bei 183 — 184° , respective bei 191 — 192° , liegt.

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin, **35**, 3779.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie **37**, 18—28.

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie **37**, 86.

4) Zeitschrift f. physiol. Chemie **34**, 525—527.