

säure. Nach 2stündigem Erhitzen im Wasserbade wird abgekühlt, mit destilliertem Wasser auf 3 *ccm* aufgefüllt und zwecks Neutralisation der Phosphorsäure und Hervorrufung der Reaktion mit 1 *ccm* Pikrinsäurelösung (1 %) und 0,5 *ccm* $\frac{1}{2}$ Natronlauge versetzt. Man schüttelt, lässt 30 Minuten stehen und bestimmt dann den Kreatiningehalt im Kolorimeter.

Über die Darstellung von Kreatin, Kreatinin und Kreatininstandardlösungen, über die Bestimmung des Kreatins und Kreatinins im Harn gibt Otto Folin¹⁾ folgendes an: Bei Zusatz von Pikrinsäure zu Harn bildet sich ein äusserst unlösliches Kalium-Kreatinin-Doppelpikrat von 18,55 % Kreatiningehalt. 8 *l* frischer Harn werden unter Umrühren mit 60—80 *g* in 400 *ccm* heissem Alkohol gelöster Pikrinsäure versetzt. Nach 12 Stunden Stehen wird die überstehende Flüssigkeit abgehebert und der Niederschlag auf der Nutsche gewaschen. 500 *g* des trockenen Niederschlags werden mit 100 *g* wasserfreiem Kaliumkarbonat und 750 *ccm* Wasser versetzt, 10 Minuten umgerührt und unter gelegentlichem Umrühren 1—2 Stunden stehen gelassen. Der Niederschlag wird auf einer Nutsche 2—3 mal mit geringen Mengen kalten Wassers gewaschen. Zu dem Filtrat werden in einem sehr grossen Gefäss vorsichtig 100 *ccm* Eisessig gefügt, indem die Säure langsam auf den Schaum getropft wird, ohne dabei umzurühren. Die angesäuerte weinrote Lösung wird mit $\frac{1}{4}$ ihres Volumens konzentrierter alkoholischer Zinkchloridlösung (1 Teil Zn Cl_2 auf einen Teil Alkohol) versetzt. — Zersetzung von Kreatinin-zinkchlorid mit Bleihydroxyd. 5 *g* Bleinitrat für je 1 *g* des Kreatinin-Zink-Salzes werden in 7—8 Teilen kalten Wassers gelöst und das Hydroxyd durch Zusatz von 2 *ccm* konzentriertem Ammoniak für je 1 *g* Nitrat gefällt. Der rasch sich abscheidende Niederschlag wird 3 mal mit grossen Mengen kalten Wassers gewaschen. Das Kreatinin-Zink-Salz wird in 30 Teilen nahezu siedenden Wassers in einem grossen Kolben aufgeschwemmt, zum Sieden erhitzt, um einen grossen Teil des Salzes zu lösen; das Bleihydroxyd wird in wenig Wasser aufgeschwemmt, in kleinen Portionen zugesetzt (jeweils zirka $\frac{1}{5}$) und nach jedem Zusatz einige Minuten gekocht; schliesslich wird noch $\frac{1}{2}$ Stunde oder länger gekocht, abgekühlt und filtriert. Ist das Filtrat nicht völlig klar, so wird einige Minuten Schwefelwasserstoff eingeleitet und dann filtriert; das erhaltene klare Filtrat wird durch Schwefelwasserstoff völlig vom Blei befreit. — Darstellung von Kreatin: Die erhaltene Kreatin-Kreatinin-Lösung wird auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft, in 15—20 Teilen kochenden Wassers gelöst und mit dem doppelten Volumen 95 %igem Alkohol versetzt. Nach 12 Stunden Stehen in der Kälte wird das ausgefallene Kreatin abfiltriert und mit 66 %igem Alkohol gewaschen. Filtrate und Waschwasser kommen in einem grossen Jenaer Kolben in ein Wasserbad von 80—90° während einer Woche, darauf wird die Flüssigkeit auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, mit 10 Teilen kochenden Wassers aufgenommen und, wie oben, mit 2 Volumen Alkohol

1) Journ. of Biol. Chem. 17, 463 (1914).

gefällt. Derselbe Prozess kann wiederholt werden, bis in der Mutterlauge nur noch 2—3 g Kreatinin verbleiben. Verlust zirka 30⁰/₀. — Reines Kreatinin kann aus Kreatin oder aus einem Gemisch beider Körper durch 3 stündiges Erhitzen bei 135—140⁰ im Autoklaven erhalten werden. — Bereitung von Standard-Kreatininlösungen. Das rohe Kreatininzinkchlorid, wie es aus dem rohen Pikrat erhalten wird, enthält 5—8⁰/₀ Verunreinigungen. Durch 3 maliges Umkristallisieren wird es rein erhalten. Das Salz wird in 10 Teilen kochender, 25⁰/₀ iger Essigsäure gelöst, die heisse Lösung wird mit $\frac{1}{10}$ Volumen konzentrierter alkoholischer Zinkchlorid-Lösung und $1\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol versetzt, über Nacht stehen gelassen und der Niederschlag mit etwas Alkohol gewaschen und noch 2 mal in gleicher Weise umkristallisiert. 1,6106 g Kreatinin werden in $1\frac{1}{10}$ Salzsäure gelöst. Die Lösung enthält 1 mg pro ccm; sie ist unbegrenzt haltbar und eignet sich gut für die Kreatininbestimmungen im Harn, Blut und Geweben. — Vergleichslösung: 1 ccm der Standard-Kreatininlösung, 20 ccm gesättigte Pikrinsäurelösung, 1,5 ccm 10⁰/₀ iger Natronlauge werden gemischt und nach 10 Minuten auf 100 ccm aufgefüllt; diese Lösung ist 24 Stunden haltbar. 1 ccm Standard-Kreatininlösung (1 mg Kreatinin pro 1 ccm) und 1 ccm Harn werden je in ein 100 ccm-Messkölbchen abgemessen, je 20 ccm gesättigte Pikrinsäure und 1,5 ccm 10⁰/₀ ige Natronlauge zugesetzt. Nach 10 Minuten werden die Kölbchen zur Marke aufgefüllt und im Kolorimeter verglichen. Es ist bei dieser Methode nicht zulässig, 5 ccm Urin zu verwenden und auf 500 ccm aufzufüllen. Will man 5- oder 10 ccm-Pipetten benutzen, so muss der Urin auf 1:4 verdünnt werden, oder es müssen 5 oder 10 ccm der Standard-Lösung und 5 ccm Natronlauge benützt werden; da eine solche Vergleichslösung abblasst, muss sie für jede Reihe von Bestimmungen frisch hergestellt werden. — Kreatininbestimmung: Eine Harnmenge entsprechend 0,7—1,5 mg Kreatinin wird in einem gewogenen 200 ccm Erlenmeyer-Kölbchen mit 20 ccm gesättigter Pikrinsäurelösung und 130 ccm Wasser versetzt, nach Zusatz einiger sehr kleiner Siedesteine wird 1 Stunde leicht gekocht, darauf wird die Flamme vergrössert und die Flüssigkeit auf 20 ccm eingedampft; auf der Wage wird Wasser zugesetzt, bis der Kolbeninhalt 20—25 g beträgt. Die Lösung wird in fließendem Wasser abgekühlt, mit 1,5 ccm 10⁰/₀ iger Natronlauge versetzt und das gesamte Kreatinin wie oben bestimmt, indem 1 mg Kreatinin als Ausgangspunkt für die Vergleichslösung benutzt wird. Zuckerarten stören die Bestimmung nicht.

Die Darstellung von Kreatin und Kreatinin aus Harn wird nach St. R. Benedict¹⁾ wie folgt ausgeführt: Zur Gewinnung von Kreatininzinkchlorid wird der unzersetzte Harn nach Folin²⁾ mit Pikrinsäure in heisser alkoholischer Lösung (40 g gelöst in zirka 100 ccm Alkohol) unter tüchtigem Umrühren gefällt; man lässt bis zum nächsten

¹⁾ Journ. of Biol. Chem. 18, 183 (1914). — ²⁾ Siehe das vorhergehende Referat.

Tag stehen, hebert die überstehende Flüssigkeit ab, giesst den Rückstand auf eine grosse Nutsche, saugt ab, wäscht 1—2mal mit kalt sättigter Pikrinsäurelösung und saugt trocken. Das Pikrat wird in einer grossen Schale mit konzentrierter Salzsäure zersetzt (60 *ccm* Salzsäure auf 100 *g* Pikrat); zu einer dünnen Paste gemischt, 5 Minuten sorgfältig zerrieben und über gehärtetem Papier abgesaugt, 2mal mit wenig Wasser gewaschen und jedesmal möglichst trocken gesaugt. Das Filtrat wird unter Kühlung mit laufendem Wasser in einer grossen Flasche mit kleinen Portionen Magnesiumoxyd versetzt, bis es lackmusalkalisch ist (die Flüssigkeit wird dabei zitronengelb), abgesaugt und 2mal mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird mit einigen *ccm* Eisessig stark sauer gemacht (ein dabei entstehender Niederschlag ist bedeutungslos) und mit 4 Raumteilen 95 %igem Alkohol versetzt und nach 15 Minuten von dem geringen Niederschlag (vorwiegend CaSO_4) abgesaugt. Das Filtrat wird mit 30 %iger Zinkchloridlösung (3—4 *ccm* für jeden Liter verarbeiteten Harn) versetzt, umgerührt und über Nacht in der Kälte stehen gelassen. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen. Der Niederschlag von Kreatininzinkchlorid wird mit Wasser, 50 %igem und 95 %igem Alkohol gewaschen und getrocknet. Ausbeute an weissem, kristallinischem Pulver 90—95 % des Harnkreatinins = 1,5—1,8 *g* Kreatininzinkchlorid aus 1 *l* Urin. — Darstellung von Kreatin: 100 *g* Kreatininzinkchlorid werden mit 700 *ccm* Wasser in einem grossen Gefäss zum Sieden erhitzt, unter Umrühren mit 150 *g* reinem, gepulvertem Kalziumhydroxyd versetzt und unter gelegentlichem Umrühren 20 Minuten leicht gekocht, heiss abgesaugt und der Rückstand mit heissem Wasser gewaschen. Das Filtrat wird einige Minuten mit Schwefelwasserstoff behandelt, durch ein Faltenfilter filtriert, mit 5 *ccm* Eisessig versetzt und rasch auf ein Volumen von zirka 200 *ccm* eingedampft und über Nacht an einem kühlen Ort stehen gelassen. Das kristallisierte Kreatin wird abgesaugt, mit sehr wenig kaltem Wasser und mit Alkohol gewaschen, getrocknet¹⁾ und aus der 7fachen Gewichtsmenge heissen Wassers umkristallisiert; es enthält Kristallwasser, das es beim Liegen an der Luft verliert. Zur Wägung wird das Kreatin einige Stunden bei 95° entwässert. Ausbeute 18 *g* Kreatin, 55 *g* Kreatininzinkchlorid aus der Mutterlauge. 50 % Kreatinin bleiben bei der Behandlung also unverändert. — Darstellung von Kreatinin: Das umkristallisierte, fein gepulverte Kreatininzinkchlorid wird in einer trockenen Flasche mit dem 7fachen Volumen konzentrierten wässrigen Ammoniaks unter Umschwenken mäßig erwärmt, bis eine ebene klare Lösung erhalten wird. Die Flasche wird verschlossen, abgekühlt und 1 Stunde auf Eis gestellt. Reines Kreatinin in einer Ausbeute von 60—80 % kristallisiert aus. — Bestimmung des Kreatinins. Ein Harnvolumen, enthaltend 7—12 *mg* Kreatinin, wird in einem Kolben mit 10—20 *ccm* Salzsäure versetzt und etwas gepulvertes oder granuliertes

¹⁾ Die Mutterlauge kann mit Zn Cl_2 behandelt werden, um das nicht umgewandelte Kreatinin zu erhalten.

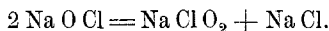
Blei zugegeben (durch eine ganz geringe Wasserstoff-Entwicklung wird Pigmentbildung durch Oxydation verhindert); auf freier Flamme und zuletzt auf dem Wasserbad wird zur Trockne eingedampft und der grösste Teil der Salzsäure verjagt; der Rückstand wird in zirka 10 *ccm* heissem Wasser aufgenommen und quantitativ durch Glaswolle (zur Entfernung des Bleis) in einen 500 *ccm*-Messkolben filtriert, 20 bis 25 *ccm* gesättigte Pikrinsäurelösung und 7—8 *ccm* 10%ige Natronlauge, die 5% Rochellesalz enthält, zugesetzt. (Das Tartrat soll Trübung verhindern, die durch Spuren gelösten Bleis entstehen können.) Der Kolben wird zur Marke aufgefüllt und nach 5 Minuten im Kolorimeter abgelesen. — Standard-Lösung: Kaliumbichromatlösung oder eine Lösung, die erhalten wird, indem reines Kreatin auf obige Weise behandelt wird. Die Umwandlung des Kreatins in Kreatinin erfolgt rasch beim Eindampfen, indem die trockene, gasförmige Salzsäure stark wasserentziehend wirkt. Diese Methode ist für zuckerhaltige Harne nicht geeignet.

5. Auf gerichtliche Chemie bezügliche Methoden.

Von

A. Czapski.

Zur Unterscheidung von Arsen- und Antimonflecken liefern W. Vaubel und A. Knocke¹⁾ einen Beitrag. Sie haben gefunden, dass Antimonflecken, entgegen den Angaben in der Literatur, von den Hypochloritlösungen glatt gelöst werden, wenn letztere nicht mehr frisch sind, sondern längere Zeit gestanden haben, und schreiben diese Tatsache Veränderungen zu, welche das Reagens beim Aufbewahren erleidet. Einerseits konnte das Natriumhypochlorit im Sinne der Gleichung $3 \text{NaOCl} = \text{NaClO}_3 + 2 \text{NaCl}$ in Natriumchlorat und Natriumchlorid zerfallen. Es zeigte sich aber, dass das Natriumchlorat nur eine sehr schwache Einwirkung auf die Antimonflecken ausübte. Die Zersetzung musste also, da eine andere Möglichkeit ausgeschlossen war, in der Weise vor sich gehen, dass sich Natriumchlorit und -chlorid bildete nach der Gleichung



Diese letztere Annahme erwies sich als richtig, denn erstens konnte in der älteren Hypochloritlösung durch die Reaktion von Bray²⁾, Gelbwerden beim Zusatz von Säure, Chlorit nachgewiesen werden, andererseits verschwanden die Antimonflecke nach dem Behandeln mit diesem Zersetzungsprodukt des Hypochlorits sofort. Es müssen also immer frische Hypochloritlösungen angewandt werden.

Die Verfasser verbreiten sich noch weiter über die Natur der Antimonflecken und die Flüchtigkeit derselben. Betreffs der diesbezüglichen Einzelheiten verweise ich auf das Original.

¹⁾ Chem. Ztg. **40**, 209 (1916). — ²⁾ Ztschrft. f. physik. Chem. **54**, 575 (1906).