

diese steigen arithmetisch vom ersten bis zum letzten, wenn auch nicht gleichmäßig, an; zieht man den Wert des Drehungsvermögens der ersten Fraktion von demjenigen der letzten ab, so ergibt sich ein Unterschied von $-3,7^{\circ}$ bis $-7,6^{\circ}$. Unterwirft man afrikanischen Kopaivabalsam der gleichen Behandlung, so zeigen alle Fraktionen des erhaltenen Öles Rechtsdrehung; das Drehungsvermögen der aufeinander folgenden Fraktionen nimmt in weit höherem Maße zu als bei dem südamerikanischen Balsam, und die Differenz im Drehungsvermögen der letzten (die merkwürdigerweise geringeres Drehungsvermögen besitzt als die vorhergehende neunte) und ersten Fraktion ist grösser. Gurjunbalsamöl verhält sich wie Kopaivabalsamöl und liefert linksdrehende Fraktionen, doch wird deren Drehungsvermögen allmählich geringer, so dass der Differenzwert positiv wird. Bei reinen Kopaivabalsamölen ist das Drehungsvermögen der ersten Fraktion stets niedriger als dasjenige des ursprünglichen Öles, bei verfälschten ist es dagegen höher. Man muss die Destillation im Vakuum vornehmen, da bei der höheren Siedetemperatur unter gewöhnlichem Druck geringe Zersetzung stattfindet, die eine Änderung des Drehungsvermögens zur Folge hat.

3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Für die Isolierung und Bestimmung der Harnsäure und der Purinkörper hat R. Bass¹⁾ ein Verfahren ausgearbeitet, das darauf beruht, dass die Eiweisskörper mit Phosphorwolframsäure gefällt werden, die überschüssige Phosphorwolframsäure aber durch salzsaures Chinin entfernt wird, so dass Harnsäure und Purinkörper in Lösung bleiben. Im einzelnen gestaltet sich das Verfahren folgendermaßen: Das Blut (70—100 g) wird in einem gewogenen Becherglase, das am Boden einige Zehntel Gramm fein gepulvertes, angefeuchtetes Kaliumoxalat enthält, aufgefangen und seine Menge durch Wägung bestimmt. (Das Wägen ist hier wie auch später zweckmäßiger und bequemer als die volumetrische Messung.) Es wird dann mit dem 4-fachen Gewichte an destilliertem Wasser verdünnt und (am besten im Wasserbade) bis zur Koagulation erhitzt. Hierauf werden 2,3—2,5 ccm einer 2n-

1) Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie **76**, 40 (1914).

Essigsäure zugegeben, worauf eine tadellose Flockung einsetzt. Man kann auch das Blut direkt in die kochende Essigsäure einschütten und weiter erhitzen oder beliebig anders vorgehen, wichtig ist immer nur, dass eine bestimmte Menge von Essigsäure, welche der oben angegebenen Zahl entspricht, schliesslich eingehalten wird. Man kommt in der Regel zu wasserklaren Filtraten. Das auskoagulierte Blut wird durch ein Säckchen aus gutem Filterpressentuch filtriert und der Inhalt des Säckchens auf einer stark wirkenden Presse völlig ausgepresst. Man kann so vorgehen, dass man das ausgepresste Koagulum unberücksichtigt lässt und weiter nach aliquoten Gewichtsteilen rechnet. Bei geringerem Blutquantum kann man das Koagulum im ursprünglich gebrauchten Becherglase abermals in destilliertem Wasser aufschwemmen, auspressen, und diese Operation noch einmal wiederholen. Dass Harnsäure oder Purinbasen vom Koagulum «mitgerissen» wurden, konnte niemals beobachtet werden. Die adsorbierende Wirkung der Eiweissniederschläge ist anscheinend sehr gering. Das Filtrat wird mit 5 *ccm* konzentrierter Salzsäure angesäuert (bezogen auf 100 *g* Blut) und nun mit 1-prozentiger Phosphorwolframsäure ausgefällt. Es empfiehlt sich, nicht mehr Phosphorwolframsäure anzuwenden, als zur Fällung gerade notwendig ist. Es wurde deswegen eine Zeitlang die nötige Menge vorher an kleinen Proben ausgetastet. Da man aber bei einiger Übung den Punkt, in dem gerade alles Eiweiss ausgefällt ist, auch «makroskopisch» erkennt, überdies ein geringer Phosphorwolframsäure-Überschuss durch den folgenden Chininzusatz eliminiert wird, wurde in den weiteren Versuchen von dieser etwas umständlichen Operation abgesehen, ohne dass hierdurch das Resultat eine Beeinträchtigung erfuhr. Man geht so vor, dass man zu der angesäuerten Koagulationsflüssigkeit vorsichtig so viel einer verdünnten (1- oder 2-prozentigen) Lösung von Phosphorwolframsäure (Merck oder Kahlbaum) zusetzt, bis sich gerade das Koagulum gegen eine wasserklare überstehende Flüssigkeit absetzt und ein am Rande zugefügter Tropfen keine frische Flockung mehr erzeugt. Man benötigt hierzu je nach dem Ausfall der Koagulation 25, höchstens 50 *ccm* einer 1-prozentigen Lösung. Man gibt dann 2—4 *ccm* einer 4-prozentigen Chininhydrochloridlösung hinzu und filtriert sofort. Die Filtration geht sehr leicht von statten, das Filtrat muss auf Zusatz eines Tropfens des Chininsalzes völlig klar bleiben. Man kann das Filter mit wenig salzsaurem, schwach chininhaltigem Wasser auswaschen. Anderenfalls wägt man das Filtrat und berechnet es ohne nennenswerten Fehler

als aliquoten Gewichtsteil der ursprünglichen Blutmenge plus der Gesamtmenge der zugegebenen Flüssigkeitsquanten. Das salzsaure Filtrat wird auf ein ganz kleines Volumen (etwa 20—30 *ccm*) in einer geradwandigen Kristallisierschale eingeeengt, die saure Reaktion mit starker Natronlauge unter Umrühren abgestumpft und schliesslich einige Kubikzentimeter Magnesiamixtur, sowie einige Kubikzentimeter konzentrierten Ammoniaks zugegeben. Von den ausgeschiedenen Phosphaten und dem Chinin wird durch ein kleines Faltenfilter abfiltriert und mit wenig Ammoniak nachgewaschen. Die Purinkörperfällung wird ausgeführt durch Zusatz einer neutralen Silbernitratlösung bis zu jenem Punkte, wo Chlorsilber auszufallen beginnt. (Man kann auch andere Silbersalze zur Fällung verwenden. Irgend eine schädliche Wirkung von eventuell zurückbleibenden Salpetersäurespuren nach Silbernitratanwendung wurde jedoch nicht beobachtet.) Die Fällung wird durch Zentrifugieren oder Filtrieren isoliert und mit ganz schwachem Ammoniakwasser (2 Tropfen auf 200 *ccm*) gründlich gewaschen. Sie wird dann in der Wärme unter Zusatz von Salzsäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt, heiss filtriert, gewaschen und das Filtrat samt Waschwasser in einer winzigen, geradwandigen Kristallisierschale auf einen viertel bis einen halben Kubikzentimeter eingeeengt. Die Harnsäure kristallisiert spätestens nach mehreren Stunden völlig aus. Man bringt sie zur Wägung, indem man sie zuerst durch ein ganz kleines gehärtetes Filterchen abfiltriert, Kristallisierschale und Filterchen mit Salzsäure, Wasser und Alkohol nachwäscht und schliesslich die Harnsäure mit Äther in die Spitze des Filters spült. Von hier bringt man sie mittels einer Federfahne auf ein eben lufttrocken gewogenes, ganz dünnwandiges Uhrgläschen. Durch Ablesung der Schwingungsänderung ohne Verschiebung der Reiters kann man so auch Mengen von 0,3 *mg* ausreichend genau bestimmen. Mikrotitration dürfte oft bequemer sein. Das Filtrat von der Harnsäure enthält noch den neu aufgefundenen Blutbestandteil, die Purinbasen. Zu deren Untersuchung wird das Filtrat völlig zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit verdünnter Natronlauge in der Wärme aufgenommen. Beim Filtrieren bleiben Phosphatreste und einige Verunreinigungen auf dem Filter. Im Filtrat fällt man die Purinbasen durch Ammoniak und Silbernitrat. Die Fällung wird in der bekannten Weise durch Kochen mit Magnesia ammoniakfrei erhalten und kann dann direkt kjeldahlisiert werden. Harnsäurereste sollen durch Mangansuperoxyd entfernt

werden. Bei Zusatz von Harnsäure zu Pferdeblut fand sich nach der geschilderten Methode:

	Zugesetzt:	Gefunden:
A.	1,2 <i>mg</i> zu 200	1,13 <i>mg</i>
B.	2,3 « « 200	2,0 «
C.	2,3 « « 200	2,0 «

Immerhin wird man die Empfindlichkeit der Methode in quantitativer Richtung nicht überschätzen dürfen, sie liegt bei etwa 0,5 *mg* in 100 Blut. — Die kolorimetrische Bestimmung des Harnsäuregehaltes der gewonnenen Purinfällung mittels Phosphorwolframsäure liefert in der Regel etwas höhere Werte, als dem gravimetrischen Verfahren entspricht, wie folgende Zahlen beweisen:

	Gravimetrisch in 100	Kolorimetrisch in 100
A.	1,5 <i>mg</i>	2,6 <i>mg</i>
B.	2,4 «	2,6 «
C.	2,8 «	3,7 «
D.	3,6 «	3,6 «

An der gravimetrischen Methode ist aus dem Grunde festzuhalten, weil sie die Mitbestimmung der Purinbasen möglich macht. Nur dann, wenn die zur Verfügung stehende Blutmenge gering ist und nur praktisch-klinische Zwecke verfolgt werden, dürfte die kolorimetrische Bestimmung Vorteile bieten.

Zur Azetonbestimmung im Harn¹⁾ hat N. O. Engfeldt folgendes Verfahren ausgearbeitet: In einem geräumigen Glaskolben (500 bis 1000 *ccm*) werden je nach dem Azetongehalt 10 bis 100 *ccm* Harn mit so viel destilliertem Wasser vermengt, dass das Volumen 200 *ccm* beträgt. Die Mischung wird hierauf mit einer der folgenden Säuren — Oxalsäure, Essigsäure, Phosphorsäure — in einer 1 % der angewendeten Harnmenge nicht überschreitenden Quantität (ein alkalischer Harn erfordert natürlich ausserdem eine der Alkaleszenz entsprechende Menge Säure) versetzt und unter Zutropfen von destilliertem Wasser aus einem eingepassten Hahntrichter der Destillation unterzogen. Der Wasserzufluss wird so geregelt, dass das Volumen der Mischung während der ganzen Destillation konstant gehalten wird. Mittels eines langen Glaskühlers

¹⁾ Skand. Archiv f. Physiol. 32, 253.