

das Proberöhrchen in ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach dem Trocknen setzt man einen Tropfen 5%ige Schwefelsäure und dann Petroläther hinzu. Nach Filtration und Auswaschen (wobei die Wände des Röhrchens mit dem Glasstabe gerieben werden) wird der Petroläther abdestilliert und der Rückstand mit 1 *ccm* 1%iger Natronlauge versetzt. Bei dem Erhitzen tritt hier ein lästiges Schäumen ein. Es empfiehlt sich deshalb, ausserdem 1 Tropfen 5%iges  $MgSO_4$  zuzusetzen. Man oxydiert auch hier mit Chromat und Schwefelsäure und bestimmt das verbrauchte Chrom wie oben. Die schliesslich gefundenen Werte werden mit 2,5 dividiert.

Zu einer anderen Probe setzt man 1 Tropfen 25%ige Natronlauge sowie das »Siedesteinchen«. Nach Eintrocknen im Wasserbade wird Petroleumäther zugesetzt. Nach dem Stehen während 24 Stdn. filtriert man, wäscht mit Petroläther nach und destilliert den Petroläther vom Filtrate ab. Nach Verbrennung mit Chromat und Schwefelsäure usw. erzielt man den Wert für das Cholesterin als Ester. Der Wert mit (100 : 56) multipliziert entspricht dem Gehalt an Cholesterinester. Durch Subtraktion des Esterwertes von dem in der Alkoholfraction gefundenen Gesamtwert und Multiplikation der Differenz mit  $\frac{3}{2}$  (die Phosphatide reduzieren nur  $\frac{2}{3}$  so viel Chromsäure wie Fett und Cholesterin) findet man den Wert für Phosphatide nebst Fettsäuren, die nicht berücksichtigt werden. Es ist notwendig, durch wiederholte Blindversuche die verschiedenen Lösungen zu kontrollieren. Wünscht man sich nur über den gesamten Lipoidgehalt zu orientieren, so genügt die Extraktion mit Alkohol allein.

Spiro.

**Zur Bestimmung des Kreatins und Kreatinins.** Nachdem sich das bekannte Verfahren von Folin<sup>1)</sup> rasch eingebürgert hatte und nicht nur vielfache Anwendung, sondern auch vielfache kritische Prüfung namentlich bzgl. der Benutzbarkeit bei gleichzeitigem Vorkommen von Azetonkörpern erfahren hatte, musste es Erstaunen erregen, als F. H. Mac Crudden und C. S. Sargent<sup>2)</sup> die Gültigkeit der Methode bestritten: Die Verf. fanden durch Pikrinsäure und Natronlauge allein schon so intensive Färbungen, dass die durch das Kreatinin weiter hervorgerufene Farbentiefe dagegen ganz zurücktrat, so dass demnach die Anwendung der Methode zur kolorimetrischen Bestimmung ganz unzulänglich erschien. In einer Nachprüfung stellten nun O. Folin und E. A. Doisy<sup>3)</sup> fest, dass Crudden und Sargent eine unreine Pikrinsäure (Kriegslieferung) benutzt hatten, dass es aber sehr darauf ankommt, nur ganz reine Pikrinsäure anzuwenden. Sie geben eine Vorschrift zur Reinigung von Pikrinsäure für den speziellen Zweck. Sie beruht auf der Herstellung heisser wässriger Natriumpikratlösung, die durch NaCl gefällt wird. Nach mehrfacher Wiederholung wird mit Schwefelsäure das Trinitrophenol freigemacht und aus Wasser umkristal-

<sup>1)</sup> Vergl. diese Ztschrft. **55**, 509 (1916). — <sup>2)</sup> Journ. of Biol. Chem. **16**, 527 (1916); **24**, 423 (1916). — <sup>3)</sup> Journ. of Biol. Chem. **28**, 349 (1916/17).

lisiert. Dergestalt gereinigte Säure gibt den höchsten Standard der relativen Farbintensität. Sehr wesentlich ist eine Modifikation der Gesamtmethodik zur Analyse des Blutes auf Kreatinin. Ausfällung des Eiweisses und Extraktion durch 4 Vol. gesättigte Lösung von Pikrinsäure, Zusatz von je 1,0 g fester Pikrinsäure für 10,0 ccm Blut. Schütteln (10 Minuten). 10,0 ccm Filtrat werden mit einer Lösung versetzt, die 7 % Kaliumhydroxyd nebst 25 % Kaliumchlorid enthält. Sie fällt 75 % der Säure aus der gesättigten Lösung und ergibt so nach 10 Minuten Stehen und Zentrifugieren eine kolorimetrisch zu analysierende Flüssigkeit, bei der das Verhältnis von Pikrat zu Kreatinin in der Farbintensität unverhältnismässig günstig ausfällt. Vergleichslösung: Kreatinin in Pikrinsäure. Zusatz des (KOH + KCl)-Reagenses entsprechend. Folin lässt auch die Verdünnung des Blutes auf das 3fache zu. Die Minimalblutmenge der Versuchstechnik im ersten Falle wird zu 2,0 ccm angegeben. Die Modifikation hat sich in Nachuntersuchungen von Joh. Feigl<sup>1)</sup> bewährt, der jedoch erneut vor Störungen durch gegenwärtiges Alkalihydroxyd warnt. Spiro.

**Zuckerbestimmung im Harn.** Die bekannte und bewährte Methode von Worm-Müller zum qualitativen Nachweis von Zucker im Harn hat H. Ruoss<sup>2)</sup> dadurch vereinfacht, dass man die Harne, deren spezifisches Gewicht grösser ist als 1,020, entsprechend verdünnt und statt einer alkalischen Seignettesalzlösung eine alkalische Glycerinkupferlösung verwendet. Zur praktischen Ausführung der Reaktion werden in einem Reagensglas 5 ccm des Harns, in einem anderen die dem spezifischen Gewicht entsprechende Menge (vgl. Tabelle im Original) einer 2,5 %igen Kupfersulfatlösung +  $2\frac{1}{2}$  ccm einer 15 %igen NaCl-Lösung, die 5 % NaOH enthält, + 4 Tropfen reinen Glycerins gleichzeitig zum Sieden erhitzt. 30 Sekunden nach dem Kochen giesst man die Cu-Lösung in den Harn, schwenkt um und prüft nach längerem Stehen auf die charakteristische staubige Trübung von  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Tritt diese nicht sofort ein, so sind nur Spuren von Zucker vorhanden. Diabetes liegt vor, wenn der Zucker im Harn 4 Stdn. nach kohlehydratreicher Nahrung (Kartoffeln) gleich oder grösser als 0,1 % ist. Die Worm-Müllersche Probe, welche nach obigen Angaben noch 0,05 % Zucker nachzuweisen ermöglicht, ist daher für die Feststellung, ob diabetischer Harn vorliegt, zu empfindlich und wird, etwas modifiziert, mit auf 1:3 verd. Harn ausgeführt. Eine stabile Glycerin-Kupferlösung erhält man durch Lösen von 3,464 g Kupfersulfat + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH + ca. 15 g NaCl in 100 ccm Wasser. Man verwendet hiervon für die Diabetesprobe 1 ccm, welchen man auf 5 ccm verdünnt. Spiro.

<sup>1)</sup> Biochem. Ztschrft. 84, 264 (1917). — <sup>2)</sup> Ztschrft. f. physiol. Chem 101, 181 (1917).