

## **Kleinere Mittheilungen.**

Von

**Prof. E. Salkowski** in Berlin.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 24. Oktober 1882).

### **I. Ueber das Verhalten des Kohlenoxydblutes zu Schwefelwasserstoff.**

Abgesehen von der spectroscopischen Untersuchung haben wir zur Unterscheidung von Kohlenoxyd- und gewöhnlichem Blut nur die Natronprobe von Hoppe-Seyler. Es erscheint mir daher nicht überflüssig, eine unterscheidende Reaction mitzutheilen, welche auf der grösseren Resistenz des Kohlenoxydhämoglobins gegen Schwefelwasserstoff beruht.

Verdünt man sauerstoffhaltiges Blut so weit, dass eben die Trennung des breiten Absorptionsbandes in zwei Streifen (in 1 cm. dicker Schicht) sichtbar wird — etwa 20–24 Tropfen oder 0,9–1 ebem. Blut auf 50 ebem. Wasser — versetzt die Lösung im Reagensglas mit  $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$  Vol. gesättigtem Schwefelwasserstoffwasser und schüttelt einige Male durch, so verfärbt sich die Lösung in wenigen Augenblicken, und wird endlich in einigen Minuten schmutzig-grün unter Bildung von Schwefelmethämoglobin.

Führt man denselben Versuch mit Kohlenoxyd-Blut aus, so verändert sich die rothe Farbe der Lösung nicht merklich. In beiden Fällen entsteht allmählig ein flockiger Niederschlag, der sich langsam absetzt, der Farbenunterschied ist jedoch trotz der Trübung sehr deutlich. Schmilzt man die Röhren, in denen die Lösungen enthalten sind, zu, so hält

sich der charakteristische Unterschied monatelang — so lange reicht bis jetzt die Beobachtung — vielleicht unbegrenzt lange. Ganz besonders deutlich ist die Differenz der Färbung, wenn man die Röhren stark schüttelt, am Schaum zu sehen, der in dem einen Falle schmutzig-grün, im anderen roth erscheint. Für forensische Zwecke könnte die lange Haltbarkeit der Reaktion einen gewissen Werth haben. — Bei Mischungen von Kohlenoxydblut und genuinem Blut verliert die Erscheinung natürlich an Deutlichkeit, doch verhalten sich Mischungen gleicher Theile Kohlenoxydblut und normales Blut noch dem Kohlenoxydblut sehr ähnlich. Der Grad der Verdünnung, welcher dem Blut zur Anstellung der Reaktion zu geben ist, braucht nicht spektroskopisch controllirt zu werden, es genügt, wenn man sich an die oben angegebene Verdünnung nach Tropfenzahl hält. — Auch eine noch etwas einfachere Form des Versuches führt zum Ziel: man füllt ein Reagensglas gewöhnlicher Weite etwa zu  $\frac{1}{3}$  mit Schwefelwasserstoffwasser, tropft 2 bis 3 Tropfen Blut ein und schüttelt um. Zu langes Durchschütteln mit Luft beeinträchtigt die Reaktion, da das Kohlenoxydhämoglobin dabei allmählig zersetzt wird<sup>1)</sup>.

## II. Ueber die Oxydation im Blut.

Das Blut äussert bekanntlich ausserhalb des Körpers sehr schwach oxydirende Wirkungen, namentlich hat Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> festgestellt, dass Traubenzucker und Harnsäure bei Digestion mit Blut nicht oxydirt werden. Es fragt sich indessen, ob es nicht doch möglich ist, im Blut gelöste Substanzen durch den atmosphärischen Sauerstoff zu oxydiren, wenn man die Oberfläche des Blutes sehr vergrössert, und zu einer fortwährenden Erneuerung des Sauerstoffs Gelegenheit gibt. Ich versuchte dieses durch Zerstäubung des Blutes zu erreichen.

Das Blut, mit der zu oxydirenden Substanz gemischt, befand sich in einer Flasche, die in einem auf 40—42°

<sup>1)</sup> Vgl. Li man: Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1876, Nr. 20.

<sup>2)</sup> Tübinger medicinisch-chemische Untersuchungen, S. 136.

erwärmten Wasserbad stand und auf ihrer Mündung die bekannten Spray-Röhren trug. Die Zerstäubung wurde bewirkt durch einen Blasebalg, den ein Wassermotor in Bewegung setzt. Das zerstäubte Blut wurde in einem sehr grossen schräg gestellten Glascylinder aufgefangen, aus dem es in ein untergesetztes Glas abfloss. Sobald die Flasche entleert war, wurde sie mit dem gesammelten Blut aufs Neue gefüllt. Natürlich waren dabei Verluste nicht zu vermeiden: ein Theil des äusserst feinen Blutstaubes wurde sehr weit fortgetragen; auch dichte sich das Blut durch Verdunstung ein und musste von Zeit zu Zeit mit etwas 0,6 bis 0,7 procentiger Kochsalzlösung verdünnt werden. Durchschnittlich wurden 2 Lifer Rinder-, Schweine- oder Kalbsblut angewendet. Die Verstäubung dieser Quantität dauerte eine halbe bis eine Stunde; jeder einzelne Versuch dauerte 8 bis 16 Stunden.

Als zu oxydirende Substanz wählte ich zuerst Hydrozimmtsäure als Natriumsalz, da nach früheren in Gemeinschaft mit meinem Bruder angestellten Versuchen diese Säure selbst in relativ grossen Mengen bis auf den letzten Rest im Körper zu Benzoësäure oxydirt wird. Das Resultat war indessen vollständig negativ, die aus dem Blut wiedererhaltene Säure erwies sich als unveränderte Hydrozimmtsäure. Ob etwa eine geringfügige Oxydation stattgefunden hatte, ist nicht zu entscheiden, da sich kleine Beimengungen von Benzoësäure zu Hydrozimmtsäure nicht entdecken lassen.

Bei dem demnächst angestellten Versuch mit Benzol, das von Zeit zu Zeit in der Quantität von einigen Tropfen zum Blut zugesetzt und durch Schütteln möglichst vertheilt wurde, konnte die Bildung einer allerdings kleinen Menge Phenol nachgewiesen werden. Das Blut wurde durch Eingiessen in heisses Wasser und vorsichtiges Ansäuern coagulirt, das Filtrat bei alkalischer Reaktion eingedampft, die eingeeengte Flüssigkeit mit Schwefelsäure angesäuert und destillirt. Das Destillat gab mit Bromwasser eine leichte Trübung, nach mehreren Stunden hatten sich einige krystallinische Flocken ausgeschieden.

Dagegen wurden ganz positive Resultate erhalten mit Salicylaldehyd, von dem etwa 2 ebem. zu 2½ Liter Kalbsblut zugesetzt und durch Schütteln vertheilt wurden. Bei 8-stündiger Dauer des Versuches wurde eine ansehnliche Menge Salicylsäure gebildet.

Zur Aufsuchung der Salicylsäure wurde das Blut, wie gewöhnlich durch Eingiessen in siedendes Wasser, weiteres Erhitzen und Herstellung schwach saurer Reaktion durch verdünnte Schwefelsäure coagulirt und bei alkalischer Reaktion eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether geschüttelt. Der beim Verdunsten des Aethers bleibende Rückstand wurde in Wasser unter Zusatz von wenig Ammoniak gelöst, dann mit einigen Tropfen Chlorcalcium versetzt, das verschiedene Verunreinigungen fällte, das Filtrat durch Erwärmen mit Kohle entfärbt, nochmals filtrirt, eingeengt, die Salicylsäure durch Salzsäurezusatz gefällt, abfiltrirt und abgepresst. Durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser wurde die Salicylsäure in fast weissen, eine Spur röthlich gefärbten, eine lockere Masse bildenden Krystallnadeln erhalten. Der Schmelzpunkt derselben lag bei 153—54° (Salicylsäure schmilzt bei 155°). Eine Spur der Krystalle gab in wässriger Lösung mit Eisenchlorid tiefviolette Färbung, mit Bromwasser einen gelblichweissen Niederschlag. Die Menge der so erhaltenen Säure betrug 0,167 gr., ohne dass bei der Verarbeitung auf die Vermeidung von Verlusten besondere Sorgfalt angewendet war.

Auch in einem zweiten Versuche mit Rinderblut wurde eine erhebliche Menge Salicylsäure erhalten, die Säure war jedoch in diesem Falle weit stärker verunreinigt, so dass sich eine Zahlenangabe bei den starken Verlusten durch die Reinigung nicht machen lässt. Rinderblut scheint zu diesen Versuchen wegen seines grösseren Gehaltes an aromatischen Substanzen, die in den ätherischen Auszug übergehen, nicht so gut geeignet zu sein.

Zur Controlle wurden zunächst 2½ Liter einer Lösung verstäubt, die 0,6 % Kochsalz und 0,2 % kohlensaures

Natron nebst 2 chem. Salicylaldehyd enthielt. Das Salicylaldehyd wurde durch Schütteln möglichst vertheilt und die Versuchsbedingungen, soweit nur möglich, denen mit Blut gleich gestaltet. Da es denkbar war, dass die viscöse Beschaffenheit der Flüssigkeit eine Rolle spielte, erhielt in einem zweiten Versuche diese Lösung noch einen Zusatz von Gummi arabicum-Lösung, der sie dem Blutserum ähnlicher macht. In beiden Fällen bildeten sich nur Spuren von Salicylsäure. Blutserum stand mir in so grossen Mengen, wie sie der Versuch erfordert, leider nicht zur Verfügung, doch geht aus den angeführten Kontrollversuchen wohl die Rolle der Blutkörperchen resp. des Hämoglobins mit Sicherheit hervor.

Nach Schmiedeberg<sup>1)</sup> wirkt Blut bei 20stündigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur unter öfterem Umschütteln nicht oxydirend auf Salicylaldehyd ein, wohl aber tritt die Oxydation zu Salicylsäure ein beim Durchleiten durch die Niere oder die Lungen, die Verstäubung hat im vorliegenden Falle ebenso gewirkt. Ich beabsichtige, die Versuche auf andere aromatische Substanzen und Körper aus der Fettreihe namentlich auf die Kohlehydrate auszudehnen, deren Oxydirbarkeit in alkalischer Lösung durch atmosphärischen Sauerstoff Nencki und Sieber<sup>2)</sup> kürzlich gezeigt haben. Es bedarf kaum einer Erwähnung, dass die angewendete salicylige Säure keine Salicylsäure enthielt.

### III. Ueber den Nachweis des Paralbumins.

Huppert<sup>3)</sup> hat vor einigen Jahren als zum Nachweis des Paralbumins in Cystenflüssigkeiten geeignet, die Benutzung von zwei Eigenschaften empfohlen:

- 1) Die unvollständige Coagulation beim Erhitzen, auch bei noch so vorsichtigem Zusatz von Essigsäure, und
- 2) Die Bildung reducirender Substanzen beim Erwärmen mit Säuren.

Die erste Probe, die Kochprobe wird allgemein und auch von Huppert selbst für etwas precär angesehen, weil die

<sup>1)</sup> Zeitschrift für experimentelle Pathologie, Bd. XIV, S. 294.

<sup>2)</sup> Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 26, S. 1—40.

<sup>3)</sup> Prager medicinische Wochenschrift 1876, Nr. 17.

Coagulation einfach seröser, nicht paralbuminhaltiger Flüssigkeiten auch nicht immer so glatt verläuft, und leicht einmal misslingt, d. h. ein trübes Filtrat liefert. Man kann sich die Anstellung dieser Probe sehr erleichtern, wenn man die auf Paralbumin zu prüfende verdünnte Flüssigkeit durch Zusatz einiger Tropfen alkoholischer Rosolsäurelösung färbt, dann zum Kochen erhitzt und nun aus einer Bürette  $\frac{1}{10}$  Normal-schwefelsäure unter gutem Umschütteln zutropft, bis die Reaktion umgeschlagen, d. h. die rothe Farbe verschwunden ist. Man erhitzt auf's Neue zum Sieden und setzt nöthigenfalls, d. h. wenn die rothe Farbe dabei wieder auftritt, noch etwas Säure hinzu. Filtrirt man alsdann, so sind die Filtrate, wenn es sich um eine seröse Flüssigkeit handelt, stets klar, bei Paralbumingehalt dagegen trüb. Zur Unterstützung erwies sich die Probe, so angestellt, recht brauchbar.

#### **IV. Ueber die Löslichkeitsverhältnisse des phosphorsauren Kalkes im Harn.**

Bekanntlich trübt sich normaler Harn nicht selten beim Erhitzen unter Ausscheidung von Calciumphosphat, das sich allmählig, ganz ähnlich dem coagulirten Eiweiss, flockig zusammenballt. Die Ursachen dieser Erscheinung sind nicht völlig aufgeklärt.

Zunächst muss constatirt werden, was bisher übersehen zu sein scheint, dass die durch Erhitzen getrübten Harnproben häufig beim Erkalten wieder völlig klar werden. Diese Erscheinung — Trübung beim Erhitzen, Wiederaufhellung beim Erkalten — zeigt der 24stündige Harn in der Mehrzahl der Fälle oder mindestens doch sehr häufig. Die Wiederaufhellung erfolgt nicht mehr sicher, wenn das Calciumphosphat flockig ausgeschieden ist, was wohl einer quantitativ stärkeren Ausscheidung entspricht.

Die beim Erkalten bleibende Ausscheidung von Calciumphosphat durch Erhitzen wird in der Regel auf das Entweichen freier, gelöster Kohlensäure zurückgeführt. Dass durch Vermittelung von freier Kohlensäure Calciumphosphat in Lösung gehalten werden kann, ist bekannt und leicht zu

kontrolliren. Suspendirt man aus  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung gefälltes und gewaschenes Calciumphosphat in Wasser, leitet einen starken Kohlensäure-Strom durch und filtrirt, so erhält man eine Lösung, welche beim Erhitzen unter Entweichen von Kohlensäure eine reichliche flockige Ausscheidung von Calciumphosphat gibt.

Ob die Kohlensäure im Harn diese Rolle spielt, ist indessen sehr zweifelhaft: einerseits ist die Menge derselben im Harn zu gering, um diese lösende Wirkung auf das Calciumphosphat auszuüben, andererseits wird keineswegs regelmäßig der Harn beim Kochen, wenn er phosphorsauren Kalk ausscheidet, alkalisch oder ändert auch nur seine Reaktion in der Richtung zur Alkaleszenz hin in bemerkenswerther Weise. Dies kommt allerdings vor, ist aber nicht Bedingung der Ausscheidung. Sehr häufig ist vielmehr eine Aenderung der Reaktion nicht zu bemerken: für diese Fälle kommt also weder die Ausscheidung von Kohlensäure, noch auch ein etwaiger Uebergang von Harnstoff in kohlensaures Ammoniak in Betracht, der von verschiedenen Autoren angenommen ist. So schied sich aus 100 ccm. eines sauer reagirenden Harns von 1029 specif. Gewicht beim Kochen ein bleibender Niederschlag aus, der nach dem Auswaschen und gelindem Glühen 0,0836 gr. wog, aus dem Filtrat von diesem Niederschlag beim Erwärmen mit Ammon noch 0,0304 gr.

Magnesium war in den ersten Niederschlag nicht nachweisbar, der Calciumgehalt desselben betrug 0,0426 gr.  $\text{CaO} = 36,4\%$  Ca. Die Formel  $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$  würde erfordern 38,7%. Die Uebereinstimmung ist in Anbetracht der kleinen Menge, die zur Analyse verwendet ist, eine ziemlich nahe.

Die Reaktion dieses Harns änderte sich bei der Ausscheidung des phosphorsauren Kalks nicht in merklicher Weise. Bei der vorübergehenden Trübung normalen Harns durch Erhitzen ist eine Aenderung der Reaktion durchaus nicht nachzuweisen.

Es ist nun auch ganz überflüssig, auf complicirte Erklärungen zurückzugreifen, da Lösungen von frisch gefälltem

Calciumphosphat in Alkaliphosphat ganz dasselbe Verhalten zeigen.

Setzt man zu einer Lösung von primärem Kaliumphosphat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , deren Concentration sich ungefähr innerhalb der im Harn vorkommenden hält, (also etwa entsprechend  $0,2 \text{ P}_2\text{O}_5$  in 100 ccm.) einige Tropfen Chlorkaliumlösung, so bleibt die Flüssigkeit klar: erhitzt man sie zum Kochen, so scheidet sich bei fortbestehender saurer Reaktion Calciumphosphat aus. Dasselbe wird aber nicht vollständig ausgeschieden. Das Filtrat von dem flockig-gelatinösen Niederschlag enthält vielmehr noch Phosphorsäure und Calcium und gibt dementsprechend mit Ammoniak erwärmt, auf's Neue einen Niederschlag von Calciumphosphat und das Filtrat von diesem Niederschlag enthielt noch Alkaliphosphat neben kleinen Mengen Chlorkalium. Wir haben also genau die Verhältnisse des Harns, ohne dass die Flüssigkeit etwas anderes, als Phosphorsäure, Kalium, Calcium und kleine Mengen von Chlor enthält. Auch Lösungen von secundärem Natriumphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) zeigen, mit einigen Tropfen Chlorkaliumlösung versetzt, geschüttelt und filtrirt dieselben Erscheinungen: das Filtrat reagirt neutral, enthält Calciumphosphat, wenn auch in geringer Menge in Lösung und verhält sich beim Erhitzen genau so, wie oben angegeben. Auch frisch gefälltes und ausgewaschenes Calciumphosphat löst sich beim Schütteln in Alkaliphosphatlösung auf, namentlich in primärem Phosphat, doch geht dabei weniger Calciumphosphat in Lösung.

Offenbar handelt es sich in diesem Falle und ebenso im Harn um eine leicht zersetzbare Verbindung von Calciumphosphat und Kalium, resp. Natriumphosphat. Eine Aenderung der Reaction konnte ich bei der Ausscheidung von Calciumphosphat nicht bemerken. Uebrigens ist auch aus theoretischen Gründen eher eine Zunahme der Acidität, als Abnahme zu erwarten, da die löslichen Verbindungen der Phosphorsäure, in denen zwei Atome H durch ein Metall vertreten sind, noch alkalisch reagiren, das Calciumphosphat, wie es sich aus dem Harn ausscheidet, dagegen drei Atome

Metall enthält, also bei der Ausscheidung ein Aequivalent Base der Flüssigkeit entzogen wird. Die vorübergehende Trübung, die sicher einer an Menge geringen Ausscheidung entspricht, kann man, wenn man so will, als eine durch Temperaturerhöhung bewirkte Dissociationserscheinung auffassen.

Ob ein Harn beim Erhitzen Calciumphosphat ausscheidet oder nicht, hängt von zwei Momenten ab: einerseits von der Reaction, andererseits vom Calciumgehalt.

Versetzt man circa 100 ccm. eines solchen Harns, welcher beim Kochen klar bleibt, tropfenweise mit einer verdünnten Lösung von Chlorealcium, wobei er klar bleibt, und prüft von Zeit zu Zeit eine Probe durch Erhitzen, so kommt man bald zu einem Punkt, in dem der Harn beim Erhitzen trüb wird und sich beim Erkalten wieder aufhellt. Ueberschreitet man diesen Punkt, indem man mit dem Chlorealciumzusatz fortfährt, so entsteht nun beim Erhitzen eine flockige Ausscheidung, die sich beim Erkalten nicht mehr löst. Dasselbe lässt sich erreichen, wenn man die saure Reaction desselben Harns vorsichtig mit  $\frac{1}{4}$  Normalnatron abstumpft: auch hier tritt zuerst der Moment ein, in dem sich der Harn beim Erhitzen trübt, beim Erkalten wieder klar wird, dann, bei grösserem Natronzusatz, wird die durch Erhitzen bewirkte Trübung bleibend.

Natürlich ist hier sowohl die vorübergehende, als die bleibende Trübung viel geringer, weil der genuine Harn sehr wenig Calcium enthält. Um bei einem dünnen, an Calcium armen Harn den Zustand herbeizuführen, dass er beim Erhitzen eine bleibende Ausscheidung gibt, muss man sogar Alkali bis zur unzweifelhaft alkalischen Reaction zusetzen. In der Kälte bleibt ein so alkalisirter Harn mitunter ganz klar und scheidet allmähig krystallinische, phosphorsaure Ammonmagnesia aus oder er gibt neben dieser allmähig eine geringe flockige Ausscheidung von Calciumphosphat. Dieses ist auch bei alkalisch entleerten Harnen die Regel: abgesehen von den Häutchen von Calciumphosphat auf der Oberfläche pflegt sich kein phosphorsaurer Kalk weiter aus-

zuscheiden, die Ausscheidung erfolgt vielmehr erst beim Erhitzen.

Was den mitunter beobachteten Uebergang der sauren Reaction des Harns in die alkalische beim Erhitzen betrifft, so ist eine bestimmte Erklärung dafür vor der Hand nicht zu geben, die Bildung von kohlensaurem Ammon aus Harnstoff als Grund der Erscheinung jedoch nicht unwahrscheinlich zu nennen.

Es bedarf kaum der Erwähnung, dass auch die bei fortbestehender saurer Reaction des Harns entstehende Trübung, resp. Ausscheidung von Calciumphosphat durch Zusatz einer sehr geringen Menge Essigäure zum Verschwinden gebracht werden kann.

Für den Nachweis des Eiweiss geht daraus hervor, dass man eine bei Erhaltung der sauren Reaction durch Erhitzen entstehende flockige Ausscheidung nicht ohne Weiteres für Eiweiss ansehen darf.

#### V. Nachweis der Arsensäure durch Silberreaction.

Lösungen arsensaurer Salze geben bekanntlich mit Silbernitrat einen röthlich gefärbten Niederschlag, der sich recht gut zur Erkennung der Arsensäure benutzen lässt. Die Reaction misslingt im Gang der Analyse Anfängern öfters, weil das arsensaure Silber bekanntlich nicht allein in Salpetersäure und Ammoniak, sondern auch in salpetersaurem Ammon löslich ist. Man umgeht diese Schwierigkeit, wenn man die Lösung des Schwefelarsens in rauchender Salpetersäure, nachdem diese grösstentheils durch Abdampfen entfernt ist, mit in Wasser aufgeschwemmten kohlensauren Kalk oder Baryt erwärmt und filtrirt. Die Salze der Arsensäure mit Calcium und Baryum sind zwar schwerlöslich, aber hinreichend löslich für die Silberreaction, das Filtrat gibt daher ausnahmslos bei Gegenwart von Arsensäure mit Silbernitrat einen röthlichen Niederschlag von arsensaurem Silber.