

## Kleinere Mittheilungen.

Von

**Prof. E. Salkowski.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 23. October 1885.)

### 1. Ueber das Vorkommen von Schwefel in den Faeces.

Eine Mittheilung von Heffter in der «naturforschenden Gesellschaft zu Rostock», am 28. Juli 1885<sup>1)</sup>, ruft mir einige Beobachtungen in's Gedächtniss, die ich vor einer Reihe von Jahren zuerst in Gemeinschaft mit Herrn Dr. A. Auerbach gemacht und später wiederholt weiterverfolgt habe.

Heffter hat sich unter Nasse's Leitung mit der Abstammung der unterschwefligen Säure des Harns beschäftigt und ist durch seine Untersuchungen zu dem Schluss gelangt, dass die Quelle derselben der im Darmkanal durch Fäulniss aus den Eiweisskörpern entstehende Schwefelwasserstoff sei, «Derselbe wandelt sich bei Berührung mit Alkali oder Alkali-carbonat in Schwefelalkali um, welches resorbirt und im Blut zu unterschwefligsauren Salz oxydirt wird. Wahrscheinlich findet noch eine weitere Oxydation zu schwefelsauren Salz statt und nur ein kleiner Theil, welcher ihr entgeht, wird im Harn ausgeschieden.»

In nächstem Zusammenhang mit dieser Frage steht die damals von uns gemachte Beobachtung. Herr Dr. Auerbach stellte Versuche über die Oxydation des Phenols im Thierkörper<sup>2)</sup> an Hunden an, bei denen auch das in den

1) Den Separatabdruck verdanke ich Herrn Prof. O. Nasse.

2) Virchow's Archiv, Bd. 77, S. 226.

Faeces etwa enthaltene Phenol bestimmt wurde und zwar durch Destillation der mit Wasser und Salzsäure verriebenen Faeces. Bei dieser Destillation ging regelmässig freier Schwefel in das Destillat über, der, nach dem Sammeln auf den Filter, leicht an seinen Eigenschaften — Schmelzen beim Erhitzen, Brennen mit blauer Flamme unter Bildung schwefliger Säure, Bildung von Schwefelsäure beim Kochen rauchender Salpetersäure — zu erkennen war. Der Harn des Hundes, an welchem diese Beobachtung gemacht wurde, enthielt gleichzeitig viel unterschweflige Säure.

Später habe ich, wie gesagt, wiederholt diese Beobachtungen etwas weiter verfolgt. Es ergab sich zunächst, dass die Faeces von Hunden, die gemischte Kost erhalten, bei der Destillation mit verdünnter Salzsäure regelmässig etwas Schwefel liefern, jedoch in sehr wechselnder Menge. Für den geringeren Schwefelgehalt ist ausserordentlich charakteristisch der Ansatz des Schwefels im Kühlrohr, in Form eines etwa fingerbreiten gelblichweissen Beschlages, der mit den Häutchen von Fettsäuren, die gleichfalls im Kühlrohr auftreten, garnicht zu verwechseln ist. Der Harn dieser Hunde mit wenig Schwefel in den Darmentleerungen, enthält auch wenig unterschweflige Säure.

Es fragte sich nun, wo der Schwefel herkommt. In dieser Beziehung ist von Interesse, dass die Faeces nur mit Wasser verrieben, bei der Destillation keinen Schwefel geben, auch nicht, wenn man mit etwas Essigsäure ansäuert; setzt man dagegen zu dem Kolbeninhalt nunmehr Salzsäure und Wasser und destillirt auf's Neue, so tritt Schwefel auf. Die nächstliegende Deutung für diese Beobachtungen scheint mir zu sein, dass die Faeces unterschwefligsaures Salz enthalten, welches sich beim Kochen mit Mineralsäure in Schwefel und schweflige Säure spaltet.

Wenn diese Erklärung richtig ist, muss sich schweflige Säure im Destillat nachweisen lassen. Dieser Nachweis ist nicht mit Bestimmtheit zu führen, d. h. das Destillat zeigt nur schwach reducirende Wirkung auf Eisenchlorid und Quecksilberchlorid, am meisten noch auf letzteres — die Einwirkung

ist indessen so schwach, dass man sie wohl ohne Zwang auf den Gehalt des Destillates an organischen Substanzen beziehen könnte. Es fragt sich indessen, ob schweflige Säure nothwendig im Destillat vorhanden sein muss. Dasselbe enthält regelmässig Schwefelwasserstoff — was nicht Wunder nehmen kann. Schwefelwasserstoff und schweflige Säure schliessen sich aber nach den gewöhnlichen Annahmen aus, sie können nicht gleichzeitig in einer wässrigen Lösung existiren, sondern zersetzen sich zu Schwefel und Wasser, damit wäre das Fehlen der  $\text{SO}_2$  erklärt. Diese Annahme ist allerdings nicht vollkommen richtig. Man kann sich leicht überzeugen, dass verdünnte Lösungen von schwefliger Säure und Schwefelwasserstoff sich beim Durchschütteln zwar zersetzen, immer aber Reste beider Verbindungen nachweisbar bleiben, es sei denn, dass eine derselben in sehr überwiegender Menge zugegen war. Dieser Nachweis geschieht u. A. sehr einfach dadurch, dass man die Mischung mit einer kleinen Quantität Quecksilberchloridlösung durchschüttelt: Die Reaction mit Bleipapier hört dann auf, das klare oder durch eine Spur Schwefel getrübe Filtrat bleibt bei weiterem Zusatz von Quecksilberchlorid unverändert, giebt aber beim Erhitzen eine weisse Ausscheidung von Quecksilberchlorür. Allein je länger die Mischung steht, desto vollständiger vollzieht sich die Umsetzung, ganz besonders beim Erwärmen. Man darf also in dem ziemlich stark schwefelwasserstoffhaltigen Destillat, auch wenn der Schwefel aus unterschwefliger Säure stammt, in Anbetracht der geringen Menge von unterschwefliger Säure, um die es sich hier handelt, immer nur Spuren von schwefliger Säure erwarten — und diese scheinen ja in der That darin zu sein. Dass Schwefelwasserstoff und schweflige Säure gleichzeitig in einer Flüssigkeit enthalten sein können, zeigt übrigens jedes aus unterschwefligsäurehaltigen Hundeharn durch Erhitzen mit Salzsäure erhaltene Destillat.

Der Schwefel, den die Hundefaeces beim Erhitzen mit Säuren geben, stammt also wahrscheinlich aus unterschwefliger Säure resp. aus dieser und aus der Einwirkung der abgespal-

tenen schwefligen Säure auf den Schwefelwasserstoff. Diesem Befunde nach würde die Bildung der unterschwefligen Säure in den Darmkanal zu verlegen sein und nicht in's Blut, wie Heffter will — übrigens ist meines Wissens auch nicht bekannt, dass der Gebrauch von Schwefelalkalien innerlich Gehalt des Harns an unterschwefliger Säure bewirkt. Was die Entstehung der unterschwefligen Säure selbst betrifft, so könnte sie wohl aus dem Taurin durch Reduction hervorgehen, wie ich dieses für eingeführtes Taurin bei Kaninchen nachgewiesen habe <sup>1)</sup>, jedoch sind auch andere Möglichkeiten denkbar.

## 2. Historische Notiz zur Methode der Schwefelbestimmung in schwefelarmen organischen Verbindungen.

In Bd. IX dieser Zeitschrift beschreibt Hammarsten auf S. 289 eine Modification des ursprünglichen Liebig'schen Verfahrens, die darin besteht, dass die Substanz zuerst mit Salpetersäure oxydirt, die Lösung dann mit kohlensaurem Natron neutralisirt, eingedampft und der Rückstand im Silberiegel verbrannt wird. Für Eiweiss wählt Hammarsten Salpetersäure von 25%, für Leim nachträglichen Zusatz von rauchender Salpetersäure.

Es ist Hammarsten entgangen, dass ich fast genau dasselbe Verfahren bereits 1876 <sup>2)</sup> gelegentlich der Schwefelbestimmung in Fleisch und Faeces ausführlich beschrieben habe. Der Unterschied ist nur der, dass ich von vornherein zur Oxydation — im langhalsigen Kolben — Salpetersäure von 1,5 spec. Gewicht genommen habe, vor welcher Hammarsten — meiner Ansicht nach mit Unrecht — warnt. Ein weiterer Unterschied liegt darin, dass ich auch noch kleine Quantitäten Salzsäure hinzugefügt habe, wovon ich später wieder abging, da die Reaction gar zu stürmisch ist. Auch F. A. Falck hat wenigstens die durch Erhitzen von Hundefleisch mit Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohr

1) Virchow's Archiv, Bd. 58, S. 460 u. ff.

2) Virchow's Archiv, Bd. 60, S. 328.

erhaltene Lösung mit Natriumcarbonat neutralisirt und alsdann geschmolzen <sup>1)</sup>).

Ich bin nun weit entfernt, Hammarsten einen Vorwurf daraus machen zu wollen, dass er diese Angaben übersehen hat, denn sie sind nur gelegentlich gemacht und in Referate wohl nicht übergegangen. Ausserdem aber bin ich, wie ich kürzlich zu meinem Erstaunen gesehen habe, auch nicht der Erste, der dieses Verfahren beschrieben hat, sondern es ist Carius. Die Angabe findet sich u. A. in Fresenius, Quantitative Analyse, 5. Aufl. S. 614 (1870), allerdings ist hier nur von einer «Lösung» der Substanz in Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht die Rede, mit nachträglicher Uebersättigung mit kohlen sauren Natron, indessen ist das Princip doch im Wesentlichen dasselbe. Später hat Carius selbst dieses Verfahren wieder verlassen und in die 6. Auflage von Fresenius ist es nicht mehr aufgenommen. Immerhin wird man dieses Verfahren am richtigsten wohl als das «ältere Carius'sche» oder Liebig-Carius'sche bezeichnen.

### 3. Zur Hüfner'schen Methode der Harnstoffbestimmung.

So elegant die Knop-Hüfner'sche Methode zur Bestimmung des Stickstoffs resp. Harnstoffs im Harn ist, so machen sich in der Ausführung bei Anwendung des ursprünglichen Hüfner'schen Apparates bekanntlich einige Uebelstände bemerkbar, welche zu zahllosen Modificationen des Apparates geführt haben. Wenn nun diese Modificationen des Apparates auch wesentliche Verbesserungen herbeigeführt haben, so bleibt doch ein Vorwurf an der Methode haften: nach den Angaben von Hüfner selbst ist bekanntlich die Zersetzung nicht vollständig, man muss vielmehr zur Berechnung einen empirischen Factor anwenden. Dem entgegen hat F. A. Falck <sup>2)</sup> gefunden, dass man aus Harnstofflösungen die theoretische Menge bis auf einen verschwindenden Bruchtheil erhalten kann, wenn man 1) eine starke Bromlauge anwendet

<sup>1)</sup> Beiträge zur Physiologie, Toxicologie etc. 1875, S. 99.

<sup>2)</sup> Pflüger's Archiv XXVI, S. 39.

(45 ccm. Brom im Liter) und 2) mit grosser Sorgfalt arbeitet d. h. vornehmlich, der Reaction mindestens eine halbe Stunde oder noch länger zum Ablauf gönnt. Dadurch wird aber die Methode weniger handlich und auch selbst bei so langem Warten ist immer ein gewisser willkürlicher Abschluss der Beobachtung nicht abzuleugnen.

Man kann nun die Beobachtungszeit sehr erheblich abkürzen, wenn man die Bromlauge auf die Harnstofflösung oder den Harn in der Wärme einwirken lässt. Ich benutze hiezu schon seit einigen Jahren den einfachen Apparat, welcher auch zur Bestimmung der Salpetersäure im Wasser als Stickoxyd nach Schulze-Tiemann dient. Der Harn wird auf das 5—10fache verdünnt, dann etwa 25 ccm. entsprechend 5 resp. 2,5 ccm. Harn mit der Pipette abgemessen, in den Kolben gebracht, das gleiche Volumen Wasser und 2 Tropfen Salzsäure hinzugesetzt, der Kautschukstöpsel, welcher die Röhrenleitungen trägt, aufgesetzt, das Gasableitungsrohr geschlossen und zum beginnenden Sieden erhitzt, so dass der Dampf durch das Steigrohr zu entweichen beginnt; nunmehr entfernt man die Flamme, lässt durch das Steigrohr so viel heisses Wasser einströmen, bis dasselbe völlig gefüllt ist, resp. noch etwas Wasser nachgeströmt ist. Alsdann öffnet man die Klemme des Gasableitungsrohrs, kocht, bis der Kolben völlig luftleer ist <sup>1)</sup>, schliesst die Klemme, wartet einige Augenblicke und lässt dann durch das Steigrohr eine ansehnliche Quantität starke Bromlauge <sup>2)</sup> in den Kolben strömen, welche die schwach saure Flüssig-

<sup>1)</sup> Um mich hievon zu überzeugen, pflege ich, sobald ich voraussetzen kann, dass alle Luft ausgetrieben ist, das Gasableitungsrohr unter die Messröhre zu bringen und eine Weile weiter zu kochen: sammelt sich durchaus nichts von Luftbläschen an, so schliesse ich den Kolben so, wie es Tiemann (Anleitung zur Wasseruntersuchung von Tiemann-Kubel, S. 56) vorschreibt. Die Zeit des erforderlichen Kochens kann man durch Füllung des Kolbens mit Kohlensäure (durchströmen lassen für einige Zeit) sehr abkürzen, wie dieses, soviel ich weiss, auch Weyl vorschreibt.

<sup>2)</sup> Diese improvisire ich in der Regel aus ungefähr 5 ccm. Brom, 60 ccm. Natronlauge von 1,34 spec. Gewicht, 30—35 ccm. ausgekochtem destillirten Wasser.

keit sofort alkalisirt <sup>1)</sup>, schliesst die Klemme des Steigrohrs wieder und erhitzt bei geschlossenen Kolben zum Sieden, bis sich ein minimaler Ueberdruck in demselben bemerkbar macht: giebt man nun den Kautschukschlauch des Ableitungsrohres frei, so strömt in wenigen Augenblicken fast die ganze Quantität Stickstoff in die Messröhre; was nachher noch bei langem Kochen davon in die Messröhre übertritt, ist so gering, dass es bei diesen Bestimmungen, die doch nicht die äusserste Genauigkeit erstreben, ruhig vernachlässigt werden kann, übrigens ist auch die Mühe nicht viel grösser, wenn man noch einige Zeit kocht, um die letzten Spuren auszutreiben.

Eine Verflüchtigung von Ammoniak beim Kochen des angesäuerten Harns findet, wie ich mich durch besondere Destillationsversuche überzeugt habe, nicht in bestimmbaren Mengen statt. Besondere Controllversuche mit abgewogenen Quantitäten Harnstoff anzustellen, habe ich für entbehrlich gehalten, da das Princip der Methode ja hinreichend erwiesen ist: Doppelbestimmungen differiren nie mehr, wie um  $\frac{1}{10}$  ccm. Gas.

Selbstverständlich beabsichtigt das Verfahren nicht mit den genaueren Methoden des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl oder mit Natronkalk in Concurrenz zu treten — die Werthe müssen immer etwas niedriger ausfallen, da bekanntlich Harnsäure und Kreatinin nur sehr unvollständig zersetzt werden, wenn auch voraussichtlich in der Hitze etwas vollständiger (vergl. Falck l. c. S. 405 und 406) <sup>2)</sup> — es handelt sich hier nur um annähernde Bestimmungen, bei denen die schnelle Ausführbarkeit und Sicherheit, mit der man eine gewisse Genauigkeit erreicht, die Hauptsache ist.

Eine weitere sehr vortheilhafte Anwendung findet das Verfahren, wenn es sich darum handelt, in stark verunreinigten

<sup>1)</sup> Bildung von Bromstickstoff ist nicht zu befürchten, da die Bedingungen, unter denen er sich bilden könnte, nur für einen Moment bestehen.

<sup>2)</sup> Die Differenz dürfte aber selbst diesen Methoden gegenüber nur sehr gering sein; Zersetzungsversuche mit Harnsäure und Kreatinin in der Hitze auszuführen, hat es mir bisher noch an Zeit gemangelt.

Wässern, für welche die colorimetrische Methode nicht mehr ausreicht, den Ammoniakgehalt resp. die Summe von Ammonsalzen und organisch gebundenem Stickstoff zu bestimmen; auch hiezu verwende ich das Verfahren schon seit einigen Jahren; die Belege für die Genauigkeit in dieser Richtung werde ich bei anderer Gelegenheit mittheilen. Bei starker Verunreinigung des Wassers kann man direct 100 cbcm. nach Zusatz einiger Tropfen Salzsäure im Kolben einkochen etc.

#### 4. Ueber die Neubauer'sche Methode zur Bestimmung des Kreatinins im Harn.

Die Neubauer'sche Methode liefert bekanntlich nicht so genaue Resultate, wie man früher vielfach annahm; seit wir die Weyl'sche Reaction zum Nachweis des Kreatinins kennen, lässt sich jederzeit leicht der Nachweis führen, dass die bei der Methode entfallenden alkoholischen Mutterlaugen Kreatinin in jedenfalls nicht unbeträchtlicher Quantität enthalten. Immerhin müssen wir an der Methode festhalten, so lange wir keine bessere kennen. Die Neubauer'sche Methode enthält nun einige Punkte, welche theils augenscheinlich einer Verbesserung fähig sind, theils Bedenken in Bezug auf ihre Zulässigkeit erregen und zur Untersuchung derselben auffordern. Im Lauf der Jahre habe ich hierüber eine Reihe von Beobachtungen gesammelt, die ich im Folgenden, durch ad hoc angestellte Versuche ergänzt, mitzutheilen gedenke.

1) Neubauer schreibt vor, den Harn — 200. bis 300 cbcm. — mit Kalkmilch und Chlorcalcium zu fällen, zu filtriren und gut nachzuwaschen. Statt dessen ist es augenscheinlich bequemer, die Mischung auf ein rundes Volumen zu bringen und einen aliquoten Theil abzufiltriren; ich nehme in der Regel 240 cbcm. Harn, bringe durch Zusatz von Kalkmilch, Chlorcalcium und Wasser auf 300 cbcm., filtrire durch ein trocknes Filter und messe vom Filtrat 250 cbcm. = 200 cbcm. Harn ab. Dabei wird das Volumen des Niederschlages gleich Null gesetzt. Dies kann ebenso, wie bei der Fällung des Harns mit Barytmischung zum Zweck der Harn-

stoffbestimmung, unbedenklich geschehen. Man umgeht so das Auswaschen und erspart damit viel Zeit. Statt die Mischung 1 bis 2 Stunden stehen zu lassen, wie Neubauer vorschreibt, habe ich 15 Minuten ausreichend gefunden.

2) Neubauer schreibt vor, das Filtrat von diesem Niederschlag direct einzudampfen. Man könnte nun wohl geneigt sein, anzunehmen, dass beim Eindampfen der alkalischen Flüssigkeit das Kreatinin zum Theil in Kreatin übergehen könnte. Dieses Bedenken liegt augenscheinlich der Vorschrift von Huppert<sup>1)</sup> zu Grunde, das Filtrat schwach mit Schwefelsäure anzusäuern; ich habe dieses Bedenken früher auch getheilt<sup>2)</sup> und schwaches Ansäuern mit Salzsäure empfohlen, bin aber dann zurückgekommen, da man es auch ohne Anwendung von Säure leicht dahin bringen kann, dass das Harnfiltrat beim Eindampfen auf freiem Feuer sehr bald neutrale Reaction annimmt. Dazu ist nur erforderlich, dass man dünne Kalkmilch anwendet und bei dem Zusatz derselben mit grosser Vorsicht verfährt, so dass das Filtrat nur schwach alkalisch reagirt. Sobald die Reaction beim Eindampfen auf freiem Feuer neutral geworden, hören die Bedingungen für die Umwandlung von Kreatinin in Kreatin auf.

Ich habe versucht, die Anwendung der Kalkmilch ganz zu umgehen und statt mit Kalkmilch mit wenig Ammoniak und Choralcium gefällt. Nimmt man wenig Ammoniak, so wird das Filtrat beim Eindampfen natürlich sehr schnell neutral resp. schwach sauer. Das Verfahren giebt brauchbare Resultate, allein es ereignete sich öfters, dass später beim Zusatz von Chlorzink zur alkoholischen Lösung eine sehr störende Trübung resp. Niederschlag (phosphorsaures Zink?) entstand, welcher die Bestimmung öfters vereitelte; beim Gebrauch von Kalkmilch habe ich dieses nicht bemerkt. In den Fällen, wo dieses nicht geschah — es war, wie gesagt, nicht regelmässig resp. öfters nur in sehr unbedeutenden Grade der Fall — bekommt man ungefähr dieselben Zahlen,

1) Huppert, Anleitung zur Harnanalyse, S. 284.

2) Salkowski und Leube, Lehre vom Harn, S. 112.

wie bei dem eigentlichen Neubauer'schen Verfahren, die Differenz ist bald negativ, bald positiv.

So gaben 200 cbcm. Harn bei im Uebrigen ganz gleichen Verfahren <sup>1)</sup> (240 cbcm. Harn auf 300, vom Filtrat 250 cbcm. = 200 Harn):

	a) Fällung mit $\text{CaH}_2\text{O}_2 + \text{CaCl}_2$	b) Fällung mit $\text{NH}_3 + \text{CaCl}_2$
Versuch 1.	0,2626	0,2588
Versuch 2.	0,440	0,4535
Versuch 3.	0,331	0,328

Darin liegt zugleich ein Beweis, dass erhebliche Verluste an Kreatinin durch Umwandlung in Kreatin bei dem eigentlichen Neubauer'schen Verfahren nicht stattfinden, sonst müssten die Werthe bei b) durchgängig höher ausfallen. Da die Fällung mit  $\text{NH}_3 + \text{CaCl}_2$  keine Vortheile vor derjenigen mit  $\text{CaH}_2\text{O}_2 + \text{CaCl}_2$  bietet, wenn diese nur richtig ausgeführt wird, ausserdem aber mitunter Störungen verursacht, so habe ich dieses Verfahren wieder fallen gelassen und bin zu der Fällung mit  $\text{CaH}_2\text{O}_2 + \text{CaCl}_2$  zurückgekehrt.

Eine andere Frage ist, ob nicht auch menschlicher Harn häufig oder regelmässig Kreatin enthält — für Hundeharn nach Fleischfütterung hat Voit dieses bekanntlich nachgewiesen — auch bei saurer Reaction; alsdann wäre es offenbar zweckmässiger, den Harn entweder vor der ganzen Bearbeitung mit Säure zu kochen oder das Filtrat mit Salzsäure deutlich anzusäuern, ehe man es eindampft; vor der Alkoholextraction ist dann der eingedampfte Harn mit Natriumcarbonat zu neutralisiren. Man würde auf diesem Wege die Summe von Kreatin und Kreatinin erhalten, ausgedrückt als Kreatinin. Physiologisch ist ja das Kreatin dem Kreatinin ganz gleichwerthig und in den meisten Fällen wäre es von grösserem Interesse diese Summe kennen zu lernen, als das Kreatinin allein. Man könnte auch leicht durch eine doppelte Bestimmung sich von der Relation beider Substanzen eine Vorstellung verschaffen. — Dieses Verhältniss scheint nun in der

<sup>1)</sup> In allen diesen Versuchen und den folgenden ist eine Modification angewendet (<sup>9</sup>/<sub>10</sub>-Verfahren s. weiter unten).

That vorzuliegen, wenigstens haben einige doppelte Bestimmungen bei dem Säureverfahren einen etwas höheren Werth ergeben. So erhielt ich aus 200 cbcm. Harn Kreatininchlorzink:

	Gewöhnliches Verfahren:	Säureverfahren:
Versuch 5.	0,1928	0,229
Versuch 6.	0,1456	0,1530
Versuch 7.	0,5245	0,5772

Dieser Punkt bedarf jedoch einer gesonderten, ausführlicheren Untersuchung.

Dass man durch zu grossen Zusatz von Kalkmilch, wobei das eingedampfte Filtrat bis zu Ende alkalisch bleibt, ganz unbrauchbare Resultate bekommt, zeigt ein mit dem Harn von Versuch 6 angestellter Versuch, bei dem reichlich Kalkmilch zugesetzt wurde. Die Fällung ergab nur 0,028 Kreatininchlorzink.

3) Ein dritter Punkt ist die Fällung des eingedampften Harns mit Alkohol. Niemand, der nach Neubauer's Vorschrift verfährt: «man verdunstet im Wasserbad bis zum stärksten Syrup und vermischt diesen noch warm mit 40 bis 50 cbcm. 95 procentigen Weingeist», wird sich dem Eindruck entziehen können, dass die Extraction unvollständig ist und noch mehr, dass bei dem vorgeschriebenen Waschen mit kleinen Quantitäten Alkohol ein ansehnlicher Theil der Alkoholösung im Niederschlag zurückbleibt und der Bestimmung entgeht. In der That lässt sich auch in der wässrigen Lösung dieses so ausgewaschenen Niederschlages mittelst der Weyl'schen Reaction leicht Kreatinin nachweisen. Es liegt sehr nahe, auch hier etwas anders zu verfahren, nämlich folgendermassen: man dampft das Harnfiltrat bis auf etwa 15 bis 20 cbcm. ein und giesst es alsdann in etwa 50 cbcm. absoluten Alkohol ein, der sich in einem verschliessbaren Messkolben oder Messcylinder von 100 cbcm. befindet, mit Hülfe kleiner Quantitäten absoluten Alkohol bringt man den Rückstand vollends in den Kolben, füllt mit Alkohol absol. auf 100 cbcm. auf und schüttelt kräftig durch; nach völligem Erkalten stellt man durch Zusatz von Alkohol das

Volumen 100 genau her und lässt nun verschlossen an einem kühlen Ort stehen; am nächsten Tage filtrirt man durch ein trocknes Filter ab und nimmt 80 ccm. zur Bestimmung. Das erhaltene Gewicht des Kreatininchlorzink ist mit  $\frac{10}{8}$  zu multipliciren. In der That liefert dieses Verfahren etwas höhere Werthe.

So wurden aus je 250 ccm. Harnfiltrat = 200 Harn erhalten Kreatinchlorzink:

	a) genau nach Neubauer:	b) $\frac{8}{10}$ -Verfahren:	Differenz:
Versuch 8.	0,1760	0,218	0,042 = 23,30%

Man könnte geneigt sein, die höheren Werthe bei b) darauf zurückzuführen, dass auch hiebei das anscheinend sehr erhebliche Volumen des Niederschlages = 0 gesetzt ist. Ich glaube indessen nicht, dass dieser Umstand sehr in Betracht kommt, da in Wirklichkeit das Volumen des Niederschlages gering ist. In zwei Fällen wurde der Alkoholniederschlag erst mit 80procentigen, dann mit absolutem Alkohol gewaschen, noch feucht auf eine Thonplatte übertragen und nachdem er auf dieser ganz lufttrocken geworden, bei  $100^{\circ}$  getrocknet; sein Gewicht betrug 0,923 resp. 1,945 gr. Erhebliche Fehler können hiedurch also nicht entstehen.

4) Ab und zu kommt es vor, dass sich neben dem Kreatininchlorzink Chlornatrium aus der alkoholischen Flüssigkeit ausscheidet. Man wird diesen Fehler nicht leicht übersehen: die klaren, glashellen Krystalle, an denen man mit der Lupe oder mikroskopisch die schönsten Octaëderformen erkennt, sind mit Kreatinchlorzink nicht zu verwechseln. Um diesen störenden Zwischenfall möglichst zu vermeiden, ist es rathsam: 1) die Mischung von eingedampften Harn und Alkohol nicht, wie Neubauer vorschreibt 6—8, sondern 20—24 Stunden stehen zu lassen, 2) das Alkoholfiltrat nach dem Zusatz von Chlorzink keinesfalls bei niedriger Temperatur aufzubewahren, als diejenige war, bei welcher die Alkohol-fällung gestanden hatte. Kommt es trotzdem zum Ausfallen von Chlornatrium, so kann man mitunter die Bestimmung noch retten, wenn nämlich das Kreatininchlorzink sehr fest

am Glase haftet. Man giesst dann die Flüssigkeit ab und giesst einige Tropfen Wasser in das Bechergläschen, welche, durch Neigen und Schwenken an den Wänden vertheilt, das Chlornatrium auflösen; die erhaltene Lösung wird abgegossen und die Procedur noch einmal wiederholt. Eine Auflösung der harten derben Krystalldrusen am Kreatininchlorzink ist bei der kurzdauernden Berührung mit Wasser schwerlich zu besorgen.

Einige Mal ist es mir auch bei anfänglich vorwurfsfreier Fällung vorgekommen, dass bei der oft nothwendigen energischen Bearbeitung der Glaswand zur Ablösung des Kreatininchlorzink sich plötzlich eine intensive Trübung und dann reichlicher Niederschlag bildete, der sich aus Chlornatrium bestehend erwies. Wunder nehmen kann diese Erscheinung im Grunde nicht: wir haben eine für die betreffende Temperatur und das Lösungsmittel übersättigte Lösung von Chlornatrium vor uns, die also grosse Neigung hat, bei starken mechanischen Anstössen Chlornatrium auszuscheiden. Auch dabei kann man sich zur Noth ähnlich, durch intercurrentes Waschen mit Wasser, helfen, indessen ist hiebei eher ein Verlust denkbar.

5) Sehr lästig ist oft die ausserordentlich harte Beschaffenheit des Kreatininchlorzink und das feste Haften desselben am Glase: die sandige Beschaffenheit des Krystallpulvers und seine relativ bedeutende Schwere macht überhaupt das Aufbringen desselben auf ein gewogenes Filter sehr schwierig, ja mit voller Genauigkeit fast unmöglich. Haftet der ganze Niederschlag sehr fest, so kann man sein Gewicht wohl durch Wägung sammt den Bechergläschen erfahren: man giesst die alkoholische Lösung ab, spült einigemal mit Alkohol von 80%, dann mit absolutem Alkohol, dann mit Aether nach, trocknet bei 100° und wägt. Statt dessen kann man auch die in der beschriebenen Weise abgewaschenen Krystalle mit Hülfe von heissem Wasser vom Glas lösen, den ungelösten Niederschlag sammt der Lösung in eine gewogene Schaal spülen, verdampfen, bei 100° trocknen und wägen. Natürlich steht nichts im Wege, beide Verfahren gleichzeitig aus-

zuföhren; beide Verfahrensarten liefern leicht etwas zu hohe Werthe.

Mit den empfohlenen Modificationen würde also das Neubauer'sche Verfahren lauten:

240 cbcm. Harn werden durch vorsichtigen Zusatz von Kalkmilch schwach alkalisirt, mit Chlorcalcium genau ausgefällt, auf 300 cbcm. aufgefüllt, gut gemischt, nach 15 Minuten durch ein trocknes Filter filtrirt, vom Filtrat, das schwach alkalisch reagiren muss — ist es zu stark alkalisch, so setzt man vorsichtig verdünnte Salzsäure hinzu, aber erst nach dem Abmessen — 250 cbcm. im Messkolben angemessen, anfangs auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad eingedampft bis auf etwa 20 cbcm., mit ungefähr dem gleichen Volumen Alkohol absolut. durchgerührt, in einen etwas Alkohol absol. enthaltenden Messkolben von 100 cbcm. gebracht, mit Alkohol nachgespült, auf 100 cbcm. damit aufgefüllt, tüchtig durchgeschüttelt, stehen gelassen. Während des Erkalten muss man den Kolben öfters gelinde aufstossen, um die in dem Niederschlage enthaltene Luft herauszubringen. Nach völligem Erkalten ergänzt man das Volumen wieder auf 100 cbcm., lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtrirt durch ein trocknes Filter, misst vom Filtrat 80 cbcm. zur Bestimmung ab, setzt  $\frac{1}{2}$ —1 cbcm. Chlorzinklösung hinzu u. s. w.

Das gewogene Kreatininchlorzink muss sich 1) in heissem Wasser klar oder bis auf eine unbedeutende Trübung lösen, 2) bei der mikroskopischen Untersuchung sich als durchweg krystallinisch, frei von amorphen Beimengungen und frei von Chlornatrium erweisen (in der Regel Octaëder). Will man es weiter prüfen, so bestimmt man entweder den Zinkgehalt, wozu man verschiedene Wege einschlagen kann oder — einfacher — man ermittelt den etwaigen Aschengehalt nach Ausschluss des Zinks. Das Zink wird durch Schwefelwasserstoff ausgefällt. Eine möglichst vollständige Ausscheidung erreicht man am besten dadurch, dass man die wässrige Lösung mit Ammoniak alkalisch macht, Schwefelwasserstoff bis zur Sättigung einleitet und dann vorsichtig mit Essigsäure an-

säuert. Das Schwefelzink ballt sich gut zusammen und lässt sich klar abfiltriren. Das Filtrat wird anfangs in der Porzellanschale, schliesslich in einer gewogenen Platinschale eingedampft und verascht: der Rückstand, der stets Spuren von Zinkoxyd enthält, darf nur minimal sein; die schwach salpetersaure Lösung desselben darf mit Silberlösung nur eine unbedeutende Trübung geben.

Immer gehört die Neubauer'sche Methode der Kreatininbestimmung zu den schwierigen, welche nur bei sehr sorgfältigen Arbeiten übereinstimmende Resultate geben; und auch bei aller Sorgfalt und ohne einen erkennbaren Fehler kann sie, wie es scheint, gelegentlich misslingen.

Schliesslich bemerke ich noch, dass alle meine Angaben sich nur auf menschlichen Harn beziehen.

Auf die Mengenverhältnisse des Kreatinins im Harn einzugehen, lag nicht im Plan dieser Mittheilung, ich kann aber doch nicht umhin, auf den mitunter vorkommenden hohen Procentgehalt an Kreatinin hinzuweisen, so in Versuch 2 und 7, der von der Tageszeit abzuhängen scheint.

Auch der absolute Gehalt wurde in dem einzigen untersuchten Falle sehr hoch gefunden. In dem Versuch 4 betrug die 24stündige Harnmenge 1950 cbcm. bei 1015 spec. Gewicht. Das erhaltene Kreatininchlorzink betrug aus 200 cbcm. Harn 0,218 gr. = 2,1255 gr. pd = 1,28 gr. Kreatinin. Dabei war keineswegs viel Fleisch genossen worden.

##### **5. Ueber ein neues Verfahren zum Nachweis der Oxalsäure im Harn.**

Der bei der Neubauer'schen Methode erhaltene Alkoholniederschlag enthält, wie ich gefunden, regelmässig neben den Chloriden, schwefelsauren Kalk und Uraten, welche die Hauptbestandtheile ausmachen, auch oxalsauren Kalk — eine auffällige Erscheinung, in Anbetracht dessen, dass der Harn vorher mit Kalkhydrat und Chlorcalcium ausgefüllt wird. Um den oxalsauren Kalk in diesem Niederschlage nachzuweisen, verfährt man zweckmässig folgendermassen:

Der Niederschlag wird einigemal mit 80procentigem Alkohol, dann noch einige Mal mit kleinen Quantitäten heissen Wassers gewaschen, in wenig verdünnter Salzsäure gelöst, die filtrirte Lösung sofort mit Ammoniak neutralisirt und mit Essigsäure angesäuert. Nach 24 Stunden, oder auch schon früher, findet man den oxalsauren Kalk als weissen Beschlag an den Wänden, namentlich aber am Boden des Gefässes ausgeschieden. Auf dem Objectträger, unter dem Deckglas, erscheint diese Ausscheidung der Regel nach als glitzendes Krystallpulver, welches beim Schräghalten des Objectträgers sich in lebhafte rollende Bewegung setzt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt sich der Niederschlag als ausschliesslich aus wohlausgebildeten Krystallen bestehend und zwar theils in Quadratocäedern, theils in den von Feser und Friedberger <sup>1)</sup> beschriebenen Krystallformen. Die Unlöslichkeit in Essigsäure, die Löslichkeit in Salzsäure, die Wiederausfällung bei Ammoniakzusatz (anfangs in amorpher später octaëdrischer Form) schützen vor Verwechslungen mit irgend welchen anderen Substanzen. Mitunter ist die Krystallform keine so ausgebildete oder die Krystalle sind so klein, dass man erst bei sehr starken Vergrösserungen sich von ihrer krystallinischen Beschaffenheit überzeugen kann, doch ist dieser Fall der seltenere, wenn man genau nach Vorschrift verfährt.

Da die bisherigen Methoden nur schwierig ein reines Product liefern, oder wie die Neubauer'sche Methode des Nachweises oft nur eine minimale Menge ergeben, so lässt sich dieser Befund für den qualitativen Nachweis der Oxalsäure im Harn verwerthen. Beabsichtigt man nicht, gleichzeitig eine Kreatininbestimmung zu machen, so empfiehlt es sich, bei der Fällung des Harns mit Kalkmilch und Chlorcalcium so wenig Kalkmilch hinzuzusetzen, dass das Filtrat von dem entstehenden Niederschlag nicht alkalisch, sondern neutral reagirt oder doch nur minimal alkalisch. In 200 ccm. Harn wird sich der Nachweis so wohl immer führen lassen.

1) Maly's Jahresber. f. Thierchemie 1874, S. 231.

Ob sich das Verfahren auch zur quantitativen Bestimmung der Oxalsäure eignet, eventuell mit welchen Modificationen, sowie, ob sich dasselbe vielleicht für den qualitativen Nachweis noch vereinfachen lässt, müssen weitere Versuche lehren. Der Vorzug, den das Verfahren im Princip hat, ist, dass man die grosse Menge des sonst so sehr störenden Calciumphosphat von vornherein los wird.

### **Nachtrag zu „3. Hüfner'sche Harnstoffbestimmung“.**

Wie ich aus Maly's Jahresbericht für 1884, S. 58 ersehe, hat bereits Eykmann (Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 23, S. 594) empfohlen, die Reaction der Bromlauge auf den Harnstoff in der Wärme vorzunehmen. In den Einzelheiten weicht sein Verfahren wesentlich von dem hier vorgeschlagenen ab.

Den Luftgehalt der Flüssigkeiten habe ich in Anbetracht der starken Natronlauge, welche nur minimale Mengen Luft absorbirt enthält, vernachlässigen zu dürfen geglaubt, umso mehr, als die Austreibung des Gases keine absolut vollständige ist. Lässt man nach Beendigung des Versuches den Kolben sich mit frisch ausgekochten destillirten Wasser vollsaugen, so bleibt doch immer ein kleines Luftbläschen im Kolben sichtbar. — Eykmann hat auch Versuche über die Zersetzung der Harnsäure und des Kreatin unter diesen Verhältnissen angestellt und aus ersteren 63 %, aus letzteren 68 % des darin enthaltenen Stickstoffs erhalten.