

## **Beiträge zur Chemie des Harns.**

Nach Versuchen von **Dr. Ken Taniguti** aus Japan mitgetheilt

von

**Prof. E. Salkowski.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1890.)

### **I. Zur Methode der quantitativen Bestimmung des Kreatinins.**

Zum Nachweis des Kreatinins in ammoniakalischem Harn habe ich <sup>1)</sup> mich vor einiger Zeit einer etwas modificirten Methode bedient. — Der beim Destilliren des Harns mit Schwefelsäure gebliebene Rückstand wurde mit Wasser verdünnt, mit Barytwasser gefällt, filtrirt, das möglichst barytfreie Filtrat mit Salzsäure neutralisirt, eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug mit Chlorzink und etwas Natriumacetat versetzt. Da dieses Verfahren keinerlei Schwierigkeiten machte und vor dem gewöhnlichen Verfahren den Vorzug hat, dass etwa vorhandenes Kreatin nicht, wie bei dem gewöhnlichen Verfahren, der Bestimmung entgeht, vielmehr als Kreatinin mitbestimmt wird, so hat Herr Dr. Taniguti auf meine Veranlassung Versuche über die Anwendbarkeit und Genauigkeit dieses Verfahrens für genuinen Harn angestellt.

Die Ausführung schloss sich dem oben angegebenen Verfahren an mit dem Unterschied, dass der Harn nicht destillirt, sondern einfach eingedampft wurde. — Es wurden

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 272.

also 300 cbcm. Harn mit 10 cbcm. concentrirter Schwefelsäure bis auf etwa  $\frac{1}{3}$  des Volumens eingedampft, filtrirt, nachgewaschen, mit Barytwasser gefällt, filtrirt, nachgewaschen, das Filtrat mit Salzsäure neutralisirt, auf dem Wasserbad eingedampft und mit 95procentigem Alkohol extrahirt; Niederschlag sammt Alkohol wurde in einen Messkolben gebracht, auf 100 cbcm. aufgefüllt, am nächsten Tage filtrirt, vom Filtrat 80 cbcm. abgemessen, mit etwas essigsaurem Natron und 20 Tropfen alkoholischer Chlorzinklösung versetzt, das ausgeschiedene Kreatininchlorzink auf einem gewogenen Filter gesammelt, mit Alkohol gewaschen, getrocknet, gewogen, die erhaltene Quantität mit  $\frac{10}{8}$  multiplicirt.

Um ein Urtheil über die Reinheit des erhaltenen Kreatininchlorzink zu haben, wurde in jedem Fall der Zinkgehalt desselben bestimmt und zwar durch Fällung als kohlensaures Zink und Wägung als Zinkoxyd nach dem Glühen. Eine genau gewogene Quantität des bei  $110^{\circ}$  getrockneten Kreatininchlorzink wurde in heissem Wasser gelöst, die Lösung, wenn sie irgend merklich getrübt war, filtrirt und nachgewaschen, dann mit einem Tropfen Salzsäure angesäuert, mit kohlensaurem Natron gefällt u. s. w. (Fresenius, Quant. Analyse, VI. Aufl., S. 250).

Doppelversuche an 5 Harnen ergaben folgende Zahlen:

Nummer des Versuches.	Versuchsreihe A.			Versuchsreihe B.		
	Kreatinin- chlorzink.	Zinkoxyd daraus.		Kreatinin- chlorzink.	Zinkoxyd daraus.	
		gr.	%		gr.	%
1.	0,349	0,073	20,91	0,383	0,077	20,01
2.	0,333	0,071	21,35	0,315	0,070	22,23
3.	0,300	0,053	17,66	0,304	0,058	18,01
4.	0,367	0,074	20,16	0,353	0,075	21,21
5.	0,367	0,079	21,25	0,308	0,067	21,78

Mit Ausnahme des Versuches No. 5 ist die Uebereinstimmung zwischen den beiden Bestimmungen eine erträg-

liche zu nennen; ganz besonders ist hervorzuheben, dass in keinem Falle augenscheinlich zu niedrige Werthe erhalten wurden, während es bei der gewöhnlichen Methode mitunter vorkommt, dass eine Bestimmung aus unbekanntem Gründen misslingt, wenigstens dem minder Geübten.

Der Ausfall der Versuchsreihe forderte jedenfalls zu einer vergleichenden Prüfung des neuen Verfahrens gegenüber dem älteren Neubauer'schen auf. Diese wurde an 14 Harnproben ausgeführt, und auch in diesem Falle jedesmal der Zinkgehalt des gewogenen Kreatinchlorzink bestimmt. An dem Neubauer'schen Verfahren war die geringe Modification angebracht, dass der eingedampfte Harn mit Alkohol auf 100 ccm. gebracht und vom Filtrat 80 ccm. zur Bestimmung genommen wurde.

Die aus je 300 ccm. Harn erhaltenen Zahlenwerthe sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nummer des Versuches.	Neues Verfahren: A.			Neubauer's Methode: B.		
	Kreatininchlorzink.	Zinkoxyd daraus.		Kreatininchlorzink.	Zinkoxyd daraus.	
		gr.	%		gr.	%
1.	0,378	0,085	22,48	0,545	0,122	22,22
2.	0,265	0,056	21,13	0,403	0,085	21,10
3.	0,366	0,075	20,50	0,380	0,074	19,47
4.	0,247	0,052	21,05	0,368	0,077	20,14
5.	0,295	0,066	22,33	0,400	0,083	20,75
6.	0,385	0,079	20,51	0,541	0,108	19,96
7.	0,463	0,093	20,10	0,496	0,109	21,97
8.	0,331	0,070	21,11	0,226	0,044	19,46
9.	0,465	0,093	20,00	0,520	0,112	21,53
10.	0,378	0,083	21,95	0,370	0,062	16,75
11.	0,221	0,047	21,26	0,400	0,070	17,50
11.	0,521	0,100	19,19	0,413	0,076	18,70
13.	0,382	0,083	21,72	0,256	0,049	19,14
14.	0,543	0,119	21,95	0,232	0,044	18,96

Das Resultat der Versuchsreihe ist ein sehr unbefriedigendes.

In einigen Fällen (8, 12, 13, 14) ergab die neue Methode einen erheblich höheren Werth als die alte. Diese Erscheinung liesse sich dahin deuten, dass der betreffende Harn neben Kreatinin auch Kreatin enthielt, welches nach diesem Verfahren augenscheinlich als Kreatinin mitbestimmt wird, da beim Kochen mit Schwefelsäure das Kreatin in Kreatinin übergehen muss, beim älteren Verfahren dagegen nicht oder nur sehr theilweise. In einigen Fällen ist aber das Minus nach der Neubauer'schen Methode so gross, dass man wohl annehmen könnte, dass diese nicht den wahren Werth des Kreatinins ergeben hat.

In einer Reihe von Fällen (1, 2, 4, 5, 6, 9, 11) lag der nach dem neuen Verfahren (A) erhaltene Werth erheblich unter dem nach Neubauer (B) erhaltenen. Da der nach diesem Verfahren erhaltene, als Kreatininchlorzink angesehene Niederschlag nach Ausweis der Zinkbestimmung der Hauptsache nach in der That Kreatininchlorzink war, so bleibt nichts Anderes übrig, als anzunehmen, dass in diesen Fällen das neue Verfahren in der That zu niedrige Werthe ergeben, Verluste an Kreatinin herbeigeführt hat.

Nur in wenigen Fällen (3, 7, 10) ist die Uebereinstimmung einigermaßen befriedigend zu nennen. Was die Reinheit des erhaltenen Kreatininchlorzink betrifft, so war das nach dem neuen Verfahren erhaltene Kreatininchlorzink im Allgemeinen etwas reiner. Im Mittel der 14 Versuche betrug der Gehalt des Niederschlages an Zink berechnet auf Zinkoxyd bei A 21,08%, bei B 19,83%, während theoretisch 22,4% erfordert werden. Kleine Verluste an Zink sind übrigens beim Glühen des Niederschlags unvermeidlich. Ferner ist der Zinkgehalt des ersteren Niederschlags ein ziemlich constanter, während bei dem letzten einige stark abweichende Procentzahlen vorkamen, so 16,75% bei No. 10.

Legt man den Zinkgehalt der Niederschläge zu Grunde und berechnet hieraus den Kreatiningehalt, so ist das Resultat noch ungünstiger, wie die nachfolgende Tabelle zeigt.

Nummer des Versuches.	Kreatinin, in 300 chem. Harn aus dem Zinkgehalt berechnet.	
	A.	B.
1.	0,379	0,544
2.	0,250	0,379
3.	0,334	0,330
4.	0,330	0,340
5.	0,294	0,370
6.	0,357	0,482
7.	0,415	0,486
8.	0,312	0,196
9.	0,415	0,500
10.	0,370	0,276
11.	0,209	0,308
12.	0,446	0,339
13.	0,370	0,218
14.	0,531	0,196

Es müssen also in dem neuen Verfahren Momente vorhanden sein, welche unter Umständen einen Verlust an Kreatinin herbeiführen können und welche bisher nicht so weit erkannt sind, dass man sie mit Sicherheit vermeiden könnte.

Im Anschluss hieran wurde noch untersucht, wie lange Kreatinin in faulendem Harn nachweisbar ist. Etwa 2 Liter Harn wurden am 20. December 1888 aufgestellt und anfangs täglich, später in grösseren Intervallen mit Proben die Weyl'sche Reaction angestellt. Bis zum 25. blieb der Harn sauer, dann wurde er neutral, am 31. December alkalisch, nach einigen Tagen stark alkalisch. Die Weyl'sche Reaction war stets vorhanden, am 31. Januar aber nur noch schwach und schnell verschwindend; am 18. Februar, also nach 61 Tagen, nicht mehr vorhanden. Immerhin sind also Reste von Kreatinin als solchem in Uebereinstimmung mit den Angaben von Colasanti<sup>1)</sup> und meinen eigenen Beobachtungen recht lange nachweisbar.

<sup>1)</sup> Moleschott's Untersuchungen zur Naturlehre, XIII, Sep.-Abdr.

Bei lange fortgesetzter Fäulniss verschwindet es vollständig und ist dann auch nach dem Kochen mit Säure nicht mehr nachweisbar. So konnte es in einem Harn, der 3 Monate gestanden hatte, bei wiederholten Versuchen auf keinem Wege nachgewiesen werden.

## II. Ueber die Bestimmung des Acetons im Harn.

Bei früheren gelegentlichen Versuchen<sup>1)</sup> war es mir aufgefallen, dass das Destillat aus normalem, mit Säure versetztem Harn nach Zusatz von Jod-Jodkaliumlösung und Natronlauge eine durchaus nicht so unerhebliche Trübung gab, welche sich beim Stehen zu merklichen Mengen von Jodoform verdichtete. Es schien mir nicht unmöglich, die Quantität des Jodoform direct durch Wägung zu ermitteln. Herr Dr. Taniguti hat eine Anzahl von Versuchen über diese Frage angestellt und ist zu einem bejahenden Resultat gelangt. Herr Taniguti hat alle Versuche an von ihm selbst entleerten Harn ausgeführt und während der Versuchsdauer alkoholhaltige Getränke und Speisen vollständig vermieden, um sicher zu sein, dass die Harndestillate nicht Reste von eingeführtem Alkohol enthalten.

Die angewendete Methode bestand zunächst einfach darin, dass der Harn stark angesäuert und so weit als irgend zulässig destillirt wurde. Das gesammte Destillat wurde mit Natronlauge alkalisirt, dann mit Jod-Jodkaliumlösung versetzt und ca. 24 Stunden sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit wurde das Jodoform auf einem über Schwefelsäure getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, ausgewaschen und wieder über Schwefelsäure getrocknet.

Es fragte sich zunächst, ob man mittelst dieses einfachen Verfahrens annähernd constante Resultate erhält. Die Antwort giebt folgende Tabelle. Zum Verständniss derselben sei noch bemerkt, dass von demselben Harn zwei Antheile zu je 300 cbcm. abgemessen, mit 5 cbcm. concentrirter Schwefelsäure versetzt, dann so weit als möglichst abdestillirt

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 273.

und mit dem Destillat in der angegebenen Weise verfahren wurde. Die Quantität der Säure wurde nach meinen früheren Erfahrungen absichtlich so hoch gewählt. Der Harn reagierte stets sauer.

Nummer des Versuches.	Spec. Gewicht des Harns.	Jodoform aus 300 cbcm. Harn.	
		a.	b.
1.	1023	0,022	0,021
2.	1022	0,014	0,013
3.	1022	0,012	0,011
4.	1025	0,020	0,021
5.	1025	0,025	0,024

Die Uebereinstimmung bei diesen 5 Doppelversuchen war also eine vollständig befriedigende. Dasselbe Resultat hatte noch ein Versuch, bei welchem 3 Portionen desselben Harns destillirt wurden. Es ergab sich 0,020 — 0,021 — 0,020 Jodoform.

Es fragte sich nun, ob das gewählte Verfahren die grösste Ausbeute an Jodoform liefert oder ob sich dieselbe durch irgendwelche Modification erhöhen lässt. Die Variationen, an die man zunächst denken konnte, betreffen die Quantität des Säurezusatzes und die Art der Auffangung des Destillates. Bei einem geringeren Säurezusatz war die Ausbeute an Jodoform so augenscheinlich geringer, dass ein geringerer Zusatz als 5 cbcm. auf 300 cbcm. Harn jedenfalls nicht zu empfehlen war; es fragte sich aber doch, ob durch weitere Steigerung des Säurezusatzes die Quantität des Jodoforms nicht noch weiter gesteigert werden könne. Da die Versuche von Dr. Taniguti diese Frage nicht beantworteten, habe ich selbst hierüber eine Versuchsreihe angestellt, welche gleichzeitig über die Vollständigkeit der Ausfällung des Acetons als Jodoform Aufschluss geben sollte.

Die Versuchsreihe ist folgende:

Von einer grösseren, während der Versuche durch Kälte conservirten Quantität Harn wurden 3 Portionen zu 300 cbcm.

abgemessen; die erste Portion mit 1 cbem. concentrirter Schwefelsäure versetzt, die zweite mit 5 cbem., die dritte mit 10 cbem.

### Versuche mit Mischung I.

a) Die Mischung I wurde möglichst weit destillirt; das Destillat filtrirt, mit NaHO alkalisirt und mit Jod-Jodkaliumlösung versetzt etc., lieferte 0,0041 Jodoform. Das Filtrat vom Jodoform wurde auf 400 cbem. gebracht; 200 cbem. desselben destillirt: weder in den ersten, noch in den späteren Antheilen des Destillates war eine Ausscheidung von Jodoform zu bemerken.

Die zweite Hälfte von 200 cbem. wurde mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether hinterliess bei vorsichtigem Abdestilliren eine schwach milchig-trübe Flüssigkeit, die etwas nach Jodoform roch, eine Abscheidung von Jodoform nicht zu bemerken<sup>1)</sup>.

b) Zu dem im Destillationskolben bleibenden Rückstand werden 270 cbem. Wasser und 5 cbem. concentrirte Schwefelsäure hinzugesetzt, nochmals destillirt. Aus dem Destillat scheidet sich nach Zusatz von NaHO und Jod-Jodkaliumlösung Jodoform in gelben Krystallen ab.

c) Mit dem bei b gebliebenen Destillationsrückstand wird nochmals in derselben Weise verfahren: das Destillat giebt kein Jodoform mehr, es bleibt vielmehr vollständig klar.

### Versuche mit Mischung II.

a) Die Mischung wird möglichst weit destillirt etc. Erhaltenes Jodoform 0,0050. Das gesammte alkalisch reagirende Filtrat vom Jodoform wird mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether hinterlässt eine sehr schwach nach Jodoform riechende milchige Flüssigkeit. Ausscheidung von Jodoform findet nicht statt.

<sup>1)</sup> Dieses Verfahren der Untersuchung auf etwaiges in Wasser gelöstes Jodoform ist nur anwendbar, wenn die wässrig-alkalische Flüssigkeit keine Spur freies Jod enthält, im anderen Fall bildet sich stets Jodoform beim Durchschütteln mit käuflichem Aether.

b) Der Destillationsrückstand wird aufs Neue mit 270 ccm. Wasser und 5 ccm. Schwefelsäure versetzt und destillirt, das Destillat nimmt auf Zusatz von NaHO und Jodlösung Jodoformgeruch an, eine Abscheidung von Jodoform findet jedoch nicht statt.

### Versuche mit Mischung III.

a) Die Mischung möglichst weit destillirt. Das Destillat, das bei den bisherigen Versuchen farblos war, hat eine etwas gelbliche Färbung. Erhaltenes Jodoform 0,0113 gr. Schmelzpunkt desselben 119°. Das gesammte alkalische Filtrat mit Aether ausgeschüttelt; beim vorsichtigen Abdestilliren des Aethers bleibt eine milchige Flüssigkeit mit einzelnen gelben Ausscheidungen. Die mikroskopische Untersuchung ergibt ölige Tropfen mit vereinzelt Jodoformkrystallen.

b) Der bei a gebliebene Rückstand wurde wieder mit 270 ccm. Wasser und 5 ccm. Schwefelsäure versetzt und destillirt. Das Destillat giebt keine Jodoformausscheidung, riecht dagegen schwach nach Jodoform.

Aus diesen Versuchen ergibt sich zunächst ohne Zweifel, dass 5 ccm. concentr. Schwefelsäure auf 300 ccm. Harn nicht ausreichen, um alles Aceton zu erhalten, sondern dass hierzu mindestens 10 ccm. erforderlich sind. Wenn ich den Ausdruck «Aceton zu erhalten» gebrauche, so will ich damit natürlich nicht ausdrücken, dass ich das Aceton als im Harn präformirt ansehe, die Versuche zeigen vielmehr in Uebereinstimmung mit allen sonstigen Erfahrungen, dass im Harn kein Aceton vorhanden ist, sondern eine acetonbildende Substanz. Auch vom Aceton im Destillat spreche ich nur der Kürze halber, statt zu sagen «auf Jodzusatz Jodoform bildende Körper», was unseren bisherigen Kenntnissen mehr entspräche. Denn es ist zwar wahrscheinlich, dass diese Körper Aceton sind, aber für den normalen Harn doch nicht sicher erwiesen. — Ferner zeigt sich die quantitative Bestimmung mit einem gewissen Fehler behaftet in Folge der nicht absoluten Unlöslichkeit des Jodoforms in Wasser resp. der Reactionsmischung.

Nebenbei bemerkt ist es sehr auffällig, dass die von mir für das Jodoform erhaltenen Zahlen erheblich unter den von Taniguti gefundenen liegen, wiewohl der gemischte Harn von verschiedenen Personen angewendet wurde, welche ohne Ausnahme alkoholische Getränke zu sich nehmen.

Endlich ist noch einer auffallenden Beobachtung Erwähnung zu thun. Es hatte mir öfters geschienen, als ob beim Auffangen des Destillates in einzelnen Fractionen von etwa 50 ccm. und Fällung derselben, jede für sich, mehr Jodoform erhalten würde, als bei einmaliger Destillation bis zu Ende und Fällung des ganzen Destillates auf einmal. Herr Dr. Taniguti hat auf meine Veranlassung einige Versuche in dieser Richtung angestellt, deren Resultat in nachfolgender kleinen Tabelle zusammengestellt ist. In allen Fällen kamen 300 ccm. Harn und 5 ccm. concentrirte Schwefelsäure zur Anwendung. Der Harn reagirte sauer. a bedeutet das ganze Destillat auf einmal aufgefangen und gefällt, b: das Destillat in einzelnen Fractionen von etwa 50 ccm. aufgefangen, diese getrennt für sich gefällt, das Jodoform dann auf einem Filter vereinigt.

Versuchsnummer.	Spec. Gewicht des Harns.	Jodoform.	
		a.	b.
1.	1030	0,016	0,016
2.	1019	0,015	0,023
3.	1027	0,015	0,024
4.	1027	0,011	0,012
5.	1027	0,015	0,019
6.	1022	0,020	0,021
7.	1021	0,029	0,030

In der Mehrzahl der Fälle hat somit in der That das Verfahren b etwas mehr Jodoform geliefert, in keinem weniger. Ueber die Ursachen dieser Erscheinung muss ich mich des Urtheils einstweilen enthalten; auch in dieser Versuchsreihe sind die absoluten Mengen des Jodoforms erheblich höher, als die von mir erhaltenen.

### III. Zur Kenntniss der ammoniakalischen Harnsäuerung.

In Bd. XIII dieser Zeitschrift, S. 264 u. ff., habe ich mitgeteilt, dass die im Harn als Salze enthaltenen flüchtigen Fettsäuren bei der ammoniakalischen Gährung des Harns regelmässig eine erhebliche Zunahme erfahren, welche bei mehrtägigem Stehen das 6fache der im frischen Harn enthaltenen Quantität beträgt, bei monatelanger Aufbewahrung bis auf das 16fache ansteigen kann.

Herr Dr. Taniguti hat zunächst meine Beobachtungen wiederholt. Die Methode war dieselbe, die ich angewendet hatte. Von frischem Harn wurden zwei Portionen von je 300 ccm. abgemessen, die eine sofort nach dem Ansäuern destillirt, die andere, nachdem sie in ammoniakalische Gährung übergegangen war. Zum Ansäuern dienten 5 ccm. concentrirte Schwefelsäure, die Destillation wurde ziemlich weit fortgesetzt (treibt man sie allzuweit, so geht Salzsäure über — dieses muss vermieden werden). Das Volumen des Destillates betrug 240—250 ccm. Das Destillat wurde mit  $\frac{1}{4}$ -Normal-lauge titrirt, unter Anwendung von Lacmuspapier als Indicator. Nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werthe.

Ver- suchs- num- mer.	Spec. Gewicht des Harns.	Reaction des Harns.		Das Destillat erfordert 1/4-Normallauge.		Zeit zwischen beiden Unter- suchungen.
		a) Frisch.	b) Zersetzt.	a) Frisch.	b) Zersetzt.	
1.	1019	sauer	alkalisch	2,8 ccm.	7,2 ccm.	5 Tage
2.	1022	»	»	2,0 »	12,0 »	4 »
3.	1028	»	stark alkalisch	1,8 »	11,0 »	6 »
4.	1025	»	alkalisch	2,6 »	7,1 »	6 »
5.	1025	»	»	1,4 »	9,0 »	6 »
6.	1026	»	stark alkalisch	1,2 »	30,0 »	6 »
7.	1022	»	alkalisch	1,6 »	14,0 »	6 »
8.	1025	»	stark alkalisch	1,4 »	12,3 »	7 »
9.	1025	»	»	1,6 »	14,0 »	7 »
10.	1022	»	»	4,0 »	18,0 »	7 »
11.	1026	»	alkalisch	1,7 »	11,0 »	5 »
12.	1030	»	schwach alkal.	1,4 »	8,0 »	6 »

Im Mittel brauchten die flüchtigen Fettsäuren aus 300 cbcm. frischem Harn 1,96 cbcm. Einviertelnormallauge, die aus gefaultem Harn 12,47, also etwas mehr als das 6fache; ich fand für frischen Harn 2,0 cbcm., für den zersetzten 12,2; die Uebereinstimmung ist, wie man sieht, eine sehr nahe. In Uebereinstimmung mit mir hat ferner Dr. Taniguti constatirt, dass die Quantität der Fettsäuren nicht direct abhängig ist von der Zeitdauer des Stehens des Harns, sondern von der Intensität der Gährung. Lässt man den Harn monatelang stehen, so enthält er allerdings stets erhebliche Quantitäten flüchtiger Fettsäuren.

Das Destillat aus 300 cbcm. eines Harns, welcher 5 Wochen lang sich selbst überlassen war, brauchte in einem früheren von mir angestellten Versuch im Mittel 32,1 cbcm.  $\frac{1}{4}$ -Normallauge; bei einem Harn vom spec. Gewicht 1022, der vom 15./9. 88 bis 30./1. 89, also  $4\frac{1}{2}$  Monate gestanden hatte, fand Dr. Taniguti 43,4 cbcm. Einviertelnormallauge erforderlich.

Zur Darstellung etwas grösserer Mengen der Fettsäuren wurde ammoniakalischer Harn — im Ganzen 20 Liter — in einzelnen Portionen auf dem Wasserbad eingedampft, dann mit Schwefelsäure angesäuert und destillirt, das Destillat mit Natriumcarbonat schwach alkalisirt, auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, der Rückstand mit 80procentigem Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug auf dem Wasserbad eingedampft, in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure stark angesäuert und destillirt. Das Destillat zeigte mit Silberlösung nur minimale Reduction. Es wurde mit frisch gefälltem Baryumcarbonat unter Erwärmen neutralisirt, filtrirt, eingedampft. Die auskrystallisirten Barytsalze von Resten anhängender Mutterlauge auf einer Thonplatte befreit.

Zur Analyse wurde ein ungefähr bekanntes Quantum des Barytsalzes im gewogenen Platintiegel bei  $110^{\circ}$  bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, mit verdünnter Schwefelsäure übergossen, zuerst auf dem Wasserbad, dann bei höherer Temperatur.

endlich sehr vorsichtig auf freiem Feuer erhitzt, schliesslich  
geglüht und gewogen.

0,439 gr. gab 0,397  $\text{BaSO}_4$  = 53,17% Ba.

0,410 gr. gab 0,372  $\text{BaSO}_4$  = 53,34% Ba.

0,507 gr. gab, in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, mit ver-  
dünnter Schwefelsäure heiss gefällt, nach 24 Stunden filtrirt, 0,460  
 $\text{BaSO}_4$  = 53,34% Ba.

Essigsäures Baryt verlangt 53,72% Ba.

Somit bestanden die erhaltenen Fettsäuren ganz über-  
wiegend aus Essigsäure. Dieses Resultat steht nicht ganz im  
Einklang mit dem von mir erhaltenen. Bei der Analyse des  
Silbersalzes erhielt ich einmal 62,75 resp. 62,90%, das andere  
Mal 62,06 resp. 62,05% metallisches Silber.

Essigsäures Silber erfordert 64,67, propionsäures 59,67.  
Da im Destillat auch höhere Fettsäuren enthalten waren,  
namentlich, nach dem Geruch zu urtheilen, Buttersäure mit  
einem geringeren Gehalt der Silbersalze an Silber, so nahm  
ich an, dass die Essigsäure unter den Producten der am-  
moniakalischen Gährung etwas überwiegt.

Die Differenz des Resultats ist vielleicht darauf zurück-  
zuführen, dass in dem vorliegenden Fall der Harn vor der  
Destillation eingedampft wurde: es ist wohl möglich, dass die  
Ammonsalze der Fettsäuren mit höherem Kohlenstoffgehalt  
weniger beständig sind, leichter Fettsäure abgeben, wie das  
essigsäure Ammon: man kann dieses in Gemässheit der  
leichteren Flüchtigkeit der Fettsäuren von höherem Kohlen-  
stoffgehalt mit Wasserdämpfen vermuthen. Möglicherweise  
kommt auch das Alter des Harns dabei in Betracht, über  
den keine genauere Angabe vorliegt.

Weitere Versuche von Dr. Taniguti beziehen sich auf  
die Abstammung der Fettsäuren. In der erwähnten Abhand-  
lung habe ich als Quelle der Fettsäuren des ammoniakalischen  
Harns die Kohlehydrate desselben angesehen, hauptsächlich  
deshalb, weil der gefaulte Harn die Reaction von Molisch  
mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefelsäure unvergleichlich schwächer  
gibt als der genuine, eine Beobachtung, die auf's Neue be-

stätigt werden konnte. Mit dieser Deutung stehen nun aber, wie ich l. c., S. 271 ausgeführt habe, Beobachtungen von L. v. Udránszky im Widerspruch: v. Udránszky hat gefunden, dass sich bei längerem Erhitzen von Harn mit Salzsäure stickstoffhaltige Huminsubstanzen ausscheiden; als Quelle derselben sieht v. Udránszky<sup>1)</sup> die reducirenden Kohlehydrate an und zwar aus einem doppelten Grunde. Erstens zeigt nach ihm Harn, welcher längere Zeit zur Abscheidung der Huminsubstanzen mit Salzsäure erhitzt ist, kein Reduktionsvermögen für Fehling'sche Lösung mehr, andererseits besteht zwischen der Menge der aus einem Harn darstellbaren Huminsubstanz und dem Reduktionsvermögen, ausgedrückt als Traubenzucker, ein annähernd constantes Verhältniss, und zwar derart, dass die Huminsubstanz etwa  $\frac{1}{7}$  des anscheinenden Traubenzuckers beträgt. Beiläufig bemerkt ist sowohl das Verschwinden der reducirenden Eigenschaften des Harns nach dem Kochen mit Salzsäure, als auch die Constanz des Verhältnisses eine recht auffallende Erscheinung. An der reducirenden Eigenschaft des Harns sind ausser seinem Gehalt an Kohlehydraten resp. an Glycuronsäureverbindungen auch das Kreatinin und die Harnsäure wesentlich betheilig.

Wenn der Harn nach dem Kochen mit Säuren nicht mehr reducirt, so muss man annehmen, dass auch das Kreatinin durch das Kochen mit Salzsäure zerstört ist (die Harnsäure kommt hierbei nicht in Betracht, da sie vorher abgeschieden ist). Ebenso schwer zu verstehen ist die Constanz des Verhältnisses zwischen den Huminsubstanzen und dem Reduktionsvermögen, da das Reduktionsvermögen ja nicht allein von den Kohlehydraten, sondern auch von dem Kreatinin und der Harnsäure abhängt und zwar zu einem sicherlich stark wechselnden Theil von diesen Körpern, an der Bildung der Huminsubstanzen aber nach v. Udránszky nur die Kohlehydrate betheilig sind.

Wie dem auch sei, nimmt man mit Udránszky an, dass die Huminsubstanzen aus den Kohlehydraten entstehen.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 36 u. ff.

so muss man erwarten, dass mindestens die Ausbeute an Huminsubstanzen aus gefaultem Harn sehr viel geringer sein müsse. Dem war jedoch in früheren Versuchen nicht so, anscheinend lieferte der gefaulte Harn ebenso viel Huminsubstanz wie der frische. Eventuell konnte freilich ihre Zusammensetzung eine andere sein.

Herr Dr. Taniguti hat deshalb die Quantität und Zusammensetzung der Huminsubstanz näher untersucht. Zur Darstellung von Huminsubstanz wurde zunächst filtrirter ammoniakalischer Harn auf dem Wasserbad auf  $\frac{1}{6}$  des Volumens eingedampft, dann mit concentrirter Schwefelsäure (5 cbcm. auf 300 cbcm. ursprünglichen Harn) 48 Stunden stehen gelassen, wobei eine ziemlich reichliche Ausscheidung entstand (Ausscheidung I), von dieser wurde abfiltrirt, etwas nachgewaschen, das Filtrat 12 Stunden gekocht: Ausscheidung II.

Die beiden Ausscheidungen wurden jede für sich gewaschen, dann in verdünnter Natronlauge gelöst, durch Salzsäurezusatz gefällt, der Niederschlag auf einem gewogenen Filter gesammelt, so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Trübung mit  $\text{AgNO}_3$  mehr zeigt (bei grösseren Mengen war dies schwer zu erreichen), dann bei  $110^\circ$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Es wurden so folgende Werthe erhalten:

An- gewendete Harmenge. cbcm.	Spec. Gew. des Harns.	Ausscheidung I.		Ausscheidung II.		Summe von I + II.	
		gr.	‰	gr.	‰	gr.	‰
2000	1,027	0,377	0,188	0,210	0,105	0,587	0,293
3000	1019	0,332	0,110	0,214	0,071	0,546	0,182
5000	1020	1,720	0,344	0,980	0,196	2,700	0,540
5400	1020	1,759	0,325	1,272	0,235	3,031	0,561
5000	1024	2,139	0,427	1,142	0,228	3,281	0,656
Mittel . .	—	—	0,279	—	0,167	—	0,446

Zur Controlle wurde frischer Harn ganz ebenso behandelt. Die erste Ausscheidung bestand, wie auch v. Udránszky

angiebt, so überwiegend aus Harnsäure, dass sie nicht berücksichtigt zu werden brauchte.

2000 cbcm. Harn von 1,020	lieferte	0,652 gr. = 0,326 ‰
2000 » » » 1,018	»	0,532 gr. = 0,266 ‰
Mittel . .		0,296 ‰

Für den Vergleich der aus dem frischen und ammoniakalischen Harn erhaltenen Quantität kommt in Betracht, ob man die Ausscheidung I aus dem letzteren Harn mit in Rechnung ziehen soll oder nicht. Meiner Ansicht nach muss man die Ausscheidung I unbedingt mit hinzurechnen, da sie sich nach ihrem ganzen Verhalten in nichts von II unterscheidet; ein geringer Unterschied besteht nur in der Farbe: dieselbe ist etwas matter, wie bei II. Harnsäure konnte in dem Niederschlag I nach dem Auflösen in Alkalien auch durch die Silbermethode nicht nachgewiesen werden. Rechnet man beide Ausscheidungen zusammen, so ist die Quantität der aus dem ammoniakalischen Harn erhaltenen Huminsubstanz erheblich grösser, wie die aus dem frischen erhaltene. Rechnet man nur die Ausscheidung II, was meiner Ansicht nach aber ganz unberechtigt ist, so beträgt sie immer noch erheblich mehr als die Hälfte.

Die Zusammensetzung, welche nur für die Ausscheidung II ermittelt wurde, ergab sich nach den von Herrn Dr. Kumagawa ausgeführten Analysen folgendermassen:

1. 0,5143 gr. gab 0,0009 gr. Asche = 0,175 ‰. Die beim Verkohlen hinterbleibende äusserst dichte, graphitartige Kohle verbrannte nur unter Zuhilfenahme von Sauerstoff.
2. 0,2946 gr. gab mit chroms. Blei im geschlossenen Rohr verbrannt mit vorgelegtem metallischem Kupfer 0,1517 H<sub>2</sub>O und 0,6985 CO<sub>2</sub>.
3. 0,2336 gr. gab 0,1295 H<sub>2</sub>O und 0,555 CO<sub>2</sub>.
4. 0,5029 gr. gab 38,2 cbcm. N bei 23° C. und 764 mm. Barometerstand.
5. 0,4542 gr. gab 38,0 cbcm. N bei 24° C. und 762,5 mm. Barometerstand.
6. 0,4281 gr. gab 30,3 cbcm. N bei 23° C. und 750 mm. Barometerstand.

Hieraus berechnet sich folgende procentische Zusammensetzung<sup>1)</sup>:

	I.	II.	III.	IV.	V.
C	64,66	64,79	—	—	—
H	5,72	6,16	—	—	—
N	—	—	8,61	9,41	7,87

Im Mittel aller Analysen ist die Zusammensetzung C 64,73, H 5,94, N 8,63, O 20,70.

Die von v. Udránszky aus frischem Harn dargestellten Huminsubstanzen hatten eine wesentlich andere Zusammensetzung. Dieselbe betrug: C 55,31 resp. 56,32, H 4,38 resp. 4,16, N 10,29 resp. 8,44.

Der unerwartete Ausfall der Analyse bestimmte uns, statt der Schwefelsäure, ebenso wie v. Udránszky, Salzsäure in Anwendung zu ziehen, da möglicherweise die Säure auf Menge und Beschaffenheit der Huminsubstanzen Einfluss haben kann. Dieses wäre von vorneherein geschehen, wenn die Angaben von v. Udránszky über die Quantität und Stärke der von ihm benutzten Salzsäure jeden Zweifel ausgeschlossen hätte. Das ist nun leider nicht der Fall.

Auf S. 550, Bd. XI dieser Zeitschrift heisst es: «Der normale Menschenharn . . . wurde bei 60° C. bis auf  $\frac{1}{6}$  eingedampft, dann zur möglichst vollständigen Entfernung der Harnsäure mit 10 Vol.-% Salzsäure versetzt und 48 Stunden lang an einem kühlen Ort stehen gelassen» u. s. w. Es bleibt hier zweifelhaft, wie stark die von v. Udránszky angewendete Salzsäure war. Ich habe angenommen, dass die officinelle Salzsäure von 1,124 spec. Gew. gemeint ist. Auf der folgenden Seite heisst es: «Am besten verlief die Reaction, wenn auf 100 ccm. Harn 10 ccm. Salzsäure genommen wurden.» Hier spricht v. Udránszky also

<sup>1)</sup> Es ist leider aus den Notizen von Dr. Taniguti nicht zu ersehen, ob sich alle Analysen auf ein und dasselbe Präparat beziehen, für die N-Bestimmungen ist dieses in Anbetracht der grossen Differenzen unwahrscheinlich.

von 10 cbcm. Salzsäure auf 100 cbcm. Harn, während man nach dem Wortlaut der oben angeführten Stelle annehmen muss, dass sich das Verhältniss 1 : 10 auf den eingedampften Harn bezieht. Wir haben die zweite Angabe für massgebend gehalten, da sie ganz positiv ist, und sind somit so zu Werke gegangen, dass der Harn gemessen, auf  $\frac{1}{6}$  eingedampft und dem  $\frac{1}{10}$  des Volumens des ursprünglichen Harns Salzsäure von 1,124 spec. Gew. hinzugesetzt wurde.

Auch bei Anwendung von Salzsäure schied sich aus dem eingedampften frischen Harn beim 48stündigen Stehen fast nur Harnsäure, aus dem nach dem Filtriren eingedampften zersetzten Harn dagegen Huminsubstanz aus, welche für sich gesammelt und wie oben ausgeführt ist, quantitativ bestimmt wurde.

Aus je 1000 cbcm. frischen Harns vom spec. Gew. 1019 resp. 1018 wurde 0,579 und 0,556, im Mittel 0,568 gr. Huminsubstanz erhalten.

Bei zersetztem Harn ergaben sich folgende Zahlen:

Harnmenge.	Spec. Gew.	Aus- scheidung I.	Aus- scheidung II.	Summe.
1000	1024	0,340	0,295	0,635
1000	1024	0,310	0,263	0,573

Vergleicht man die Quantität der Huminsubstanz aus frischem und zersetztem Harn, so sieht man, dass eine Differenz kaum vorhanden ist, wenn man in letzterem Fall beide Ausscheidungen zusammenrechnet. Auffallender Weise sind die von Dr. Taniguti erhaltenen Zahlen weit höher, wie die von v. Udránszky angegebenen. Udránszky erhielt p. M. 0,231 — 0,304 — 0,333 — 0,272 — 0,293, daraus berechnet sich im Mittel 0,289 p. M.

Aus diesen Versuchen geht jedenfalls soviel hervor, dass die huminartigen Substanzen, welche man aus ammoniakalischem Harn beim Kochen mit Säuren erhält, mit denen des frischen Harns nicht identisch sind und dass sie sich nicht

aus Kohlehydraten, sondern aus anderen Harnbestandtheilen bilden.

Da die Angaben von Udránszky sich ausschliesslich auf frischen Harn beziehen, seine Huminsubstanzen auch eine andere Zusammensetzung haben, so werden dieselben durch unsere Beobachtungen nicht berührt.

Ich möchte hieran noch eine auf die Huminsubstanzen des Harns bezügliche Bemerkung schliessen.

v. Udránszky wirft Bd. XII, S. 51 dieser Zeitschrift die Frage auf, ob die Huminsubstanzen zum Theil vielleicht schon im Harn präformirt sind; er ist geneigt, dieselbe zu bejahen und auf ihre Gegenwart die normale Färbung des Harns zurückzuführen, wenigstens in denjenigen Fällen, in denen präformirtes Urobilin im Harn nicht nachzuweisen ist. Udránszky ist dabei trotz seiner sorgfältigen Litteraturstudien eine Abhandlung von mir entgangen, welche bei Entscheidung dieser Frage in Betracht gezogen zu werden verdient. Ich will v. Udránszky mit diesem Uebersehen keineswegs einen Vorwurf machen; dasselbe ist vielmehr durchaus erklärlich, da diese Abhandlung sehr weit zurückliegt, der Titel derselben keinen Hinweis auf den in Rede stehenden Gegenstand enthält und die Jahresberichte davon nur sehr dürftig Notiz genommen haben.

In Pflüger's Archiv, Bd. II, S. 354, beschäftigte ich mich mit der Untersuchung des Niederschlages, den Eisenchlorid im Harn nach Ausfällung der Phosphorsäure verursacht. Zur Untersuchung der in diesem Niederschlag enthaltenen organischen Substanzen wurde der Eisenniederschlag mit einer verdünnten Lösung von Natriumcarbonat übergossen, wobei er sich zu einer klaren braunrothen Flüssigkeit auflöst. Beim Erhitzen dieser Lösung zum Kochen fiel sämtliches Eisen als Eisenoxyd aus; aus dem eisenfreien Filtrat gelang es mir durch ein sehr schonendes Verfahren, betreffs dessen auf das Original verwiesen werden muss, einen Körper darzustellen, welcher in seinem Verhalten an das Uromelanin

von Thudichum erinnerte. Analysen sind damals nicht ausgeführt, weil die Substanz mir keine Garantie für chemische Individualität zu bieten schien; jedoch wurde constatirt, dass dieselbe, in alkalischer Lösung Kaninchen subcutan injicirt, sehr bald im Harn erscheint. Die Beschäftigung mit den Huminsubstanzen des Harns hat es mir sehr wahrscheinlich gemacht, dass auch die damals durch eine einfache Fällung unter Vermeidung aller stark wirkenden Reagentien aus dem Harn dargestellte Substanz in die Reihe der Huminsubstanzen gehört oder wenigstens in einer sehr nahen Beziehung zu denselben steht. Die kleine Quantität von Substanz, welche ich noch von meinen damaligen Arbeiten her in Händen habe, reicht nicht aus, um dieser Frage durch Analysen und event. durch die von Udránszky angewendete Kalischmelze näher zu treten, ich gedenke jedoch, noch einmal auf den Gegenstand zurückzukommen.