

# Ueber die Bestimmung der Homogentisinsäure im Alkaptonharn.

Von

**E. Baumann.**

(Der Redaction zugegangen am 21. December 1891.)

Vor einiger Zeit habe ich in Gemeinschaft mit M. Wolkow eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Homogentisinsäure beschrieben<sup>1)</sup>, zu welcher einige nachträgliche Bemerkungen zu machen die sorgfältigen Beobachtungen von Carl Th. Mörner (s. vorstehende Publication) mir Veranlassung geben. Die genannte Methode beruht auf der Ermittlung der Reduction einer ammoniakalischen Silberlösung von bekanntem Gehalt durch die Homogentisinsäure. Damit nach Beendigung der Reduction sofort beim Filtriren eine klare Lösung erhalten wird, ruft man in der vom fein vertheilten Silber getrübbten Flüssigkeit einen Niederschlag von Calciumcarbonat (durch Zusatz einiger Tropfen von Chlorcalcium und Ammoniumcarbonat) hervor.

Bei der Beschreibung der Methode ist in Folge eines Versehens von mir die Anwendung von concentrirtem an Stelle von verdünntem Ammoniak vorgeschrieben worden. Thatsächlich ist bei den Bestimmungen von Wolkow und mir immer verdünntes Ammoniak, dessen Gehalt zwischen 8 und 10% schwanken konnte, gebraucht worden. Dass dieses der Fall war, wird durch die folgenden Angaben bewiesen (l. c., S. 261), wo darauf aufmerksam gemacht wird, dass statt 10 cbcm. Ammoniak 20 cbcm. zu nehmen seien, sobald bei der Bestimmung mehr als 10 cbcm.  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung verbraucht worden seien. Wenn wirklich concentrirtes Ammoniak angewendet worden wäre, so hätte sich eine Veranlassung, die Ammoniakmenge zu vermehren, nicht schon bei einem Verbrauch von 10 cbcm., sondern erst nach Zusatz von 40 bis 50 cbcm. der Silberlösung ergeben können. Dieser

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 259.

Punkt ist daher zu berichtigen. Bei Gegenwart einer grösseren Menge von Ammoniak wird die Endreaction — in Folge der Löslichkeit des Chlorsilbers in einer concentrirten Salmiaklösung — etwas unsicher, wie Carl Th. Mörner bei der Bestimmung der Gallussäure (s. vorstehende Mittheilung) gezeigt hat.

Neuere Versuche, welche Herr cand. med. Embden bei einem neuen Falle von Alkaptonurie angestellt hat, ergaben, dass man bei der Bestimmung der Homogentisinsäure mit der Concentration des Ammoniaks (bei Anwendung gleicher Volumina von Harn und verdünntem Ammoniak) bis auf 2,5 bis 3% heruntergehen kann. Diese Grenze darf aber nicht wesentlich unterschritten werden, sonst tritt die Reduction zu langsam ein.

C. Th. Mörner hat bei den Bestimmungen der Gallussäure nach der von Wolkow und mir angegebenen Methode die Wahrnehmung gemacht, dass die Endreaction am deutlichsten zu erkennen ist, wenn man das Filtrat vom abgetrennten Silber nicht auf noch vorhandene reducirende Substanz (mit Silberlösung), sondern nur auf den Ueberschuss von Silber in dem Filtrat (durch Salzsäure) prüft. Dass diese beiden Proben bei der Ermittlung der Endreaction nicht durchaus gleichwerthig sind, haben Wolkow und ich gleichfalls beobachtet, ohne dieses Umstandes besonders zu erwähnen, weil man ihn bei der Ausführung des Versuches alsbald bemerkt.

C. Th. Mörner hat bei den Bestimmungen der Gallussäure im Harn eine Correction wegen der durch die Harnsäure bedingten Reduction der Silberlösung eingeführt, welche nach seinen Controlversuchen für 10 ccm. bei normalem Harn 0,3 ccm. der  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung ausmacht. Es liegt nahe, eine solche Correction auch für den Alkaptonharn in Betracht zu ziehen. Dagegen ist aber zu bemerken, dass sowohl der von Wolkow und mir, als der neuerdings von Embden untersuchte Alkaptonharn, so minimale Mengen von Harnsäure enthielt, dass diese Correction in diesen Fällen nicht angebracht erscheint<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Herr Embden wird über seine an einer zweiten Person gemachten Beobachtungen über die Homogentisinsäureausscheidung bei Alkaptonurie demnächst eingehend berichten.

Mit Berücksichtigung der vorstehenden Ausführungen lautet nunmehr die Vorschrift zur Bestimmung der Homogentisinsäure im Harn folgendermassen:

10 ccm. des Alkaptonharns werden in einem Kölbchen mit 10 ccm. Ammoniak von 3% versetzt. Zu dieser Mischung lässt man unverzüglich einige ccm.  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung hinzufließen, schüttelt einmal um und lässt 5 Minuten stehen. Alsdann werden der Mischung 5 Tropfen Chlorcalciumlösung (1:10) und 10 Tropfen Ammoniumcarbonat hinzugefügt. Nach dem Umschütteln wird filtrirt. Das bräunlich gefärbte, aber immer ganz klare Filtrat wird mit Silbernitrat geprüft; tritt dabei sofort wieder eine starke Abscheidung von Silber ein, so wird bei dem zweiten Versuch gleich eine grössere Menge (das Doppelte bis Dreifache)  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung zu der Mischung von 10 ccm. Harn und 10 ccm. Ammoniak hinzugesetzt. Kennt man schon annähernd die zur Oxydation erforderliche Menge der Silberlösung, so bedient man sich — in Uebereinstimmung mit Mörner's Erfahrungen bei der Bestimmung der Gallussäure —, um die Endreaction zu erkennen, nur noch der Prüfung mit Salzsäure. Die Endreaction ist erreicht, wenn das Filtrat vom Silberniederschlag beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure eine eben noch sichtbare Trübung von Chlorsilber liefert. Man findet diesen Punkt sehr scharf durch 4- bis 5- oder 6malige Wiederholung des Versuches. Sind mehr als 8 ccm.  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung auf 10 ccm. Harn + 10 ccm. Ammoniak erforderlich, so sind bei der Wiederholung des Versuches 20 ccm. (statt 10 ccm.) Ammoniak zu verwenden.

Nach den früher ausgeführten Bestimmungen von reiner Homogentisinsäure (in Wasser oder in Harn gelöst) reducirt 1 gr. wasserfreier Homogentisinsäure unter den angegebenen Bedingungen eine Quantität Silberlösung, welche 2,60 bis 2,65 gr. Silber enthält, d. h. 240 bis 245 ccm. der  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung. Danach werden durch 1 ccm.  $\frac{1}{10}$ -N.-Silberlösung 0,004124 gr. Homogentisinsäure angezeigt.

Freiburg i. B., Universitätslaboratorium.