

# Ueber den Nachweis der Kohlehydrate im Harn und die Beziehung derselben zu den Huminsubstanzen.

Von

**Prof. E. Salkowski.**

---

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaction zugegangen am 21. Juli 1892:)

---

Vor einigen Jahren habe ich<sup>1)</sup> beobachtet, dass in ammoniakalischer Gährung begriffener Harn nicht unbeträchtliche Quantitäten von Fettsäuren, hauptsächlich Essigsäure, enthält. Für einen Harn, der 5 Wochen lang bei Sommertemperatur gestanden hatte, ergab sich ein Gehalt an flüchtigen Fettsäuren, auf Essigsäure berechnet, von 1,605 p. M. Für einen anderen Harn, welcher 4 $\frac{1}{2}$  Monate gestanden hatte, fand Taniguti<sup>2)</sup> noch etwa ein Viertel mehr, nämlich 2,17 p. M.

In einer im Novemberheft 1891 dieser Zeitschrift erschienenen, aus dem Laboratorium von Baumann hervorgegangenen Abhandlung hat Treupel<sup>3)</sup> dieser Befunde Erwähnung gethan, indessen in einer Form der Darstellung, deren Berechtigung ich nicht anzuerkennen vermag. Treupel beginnt seine Arbeit mit den Worten: «Dass bei der Fäulniss des Harns merkliche Mengen von Fettsäuren gebildet werden, ist seit längerer Zeit bekannt. Nach Neubauer's Beobachtungen (Neubauer und Vogel, Analyse des Harns, 7. Aufl., 1876, S. 8) kann man aus jedem alten Harn, insbesondere dem diabetischen, Essigsäure in erheblicher Menge mit Leichtig-

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 265.

<sup>2)</sup> Ebendas., Bd. XIV, S. 471.

<sup>3)</sup> Ebendas., Bd. XVI, S. 47.

keit abscheiden.» Weiterhin erwähnt Treupel die Beobachtungen von Röhmann, auf die ich später noch zu sprechen komme, und fährt dann fort:

«Salkowski hat vor wenigen Jahren die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen und in Uebereinstimmung mit älteren Autoren gefunden, dass der gefaulte Harn grosse Mengen von Essigsäure neben einigen anderen Fettsäuren enthält und dass diese Säuren im Wesentlichen aus den Kohlehydraten des Harns gebildet werden.»

Gegen diese Darstellung, welche meine Befunde lediglich als eine Bestätigung älterer Angaben erscheinen lässt, habe ich Folgendes einzuwenden.

Es ist richtig, dass Neubauer an der von Treupel citirten Stelle sagt, dass sich Essigsäure «aus jedem alten Harn, namentlich aus altem diabetischem Harn, in erheblicher Menge abscheiden lässt», diese Angabe war mir aber nicht bekannt und wie wenig sie allgemein bekannt und anerkannt war, geht daraus hervor, dass sie sich in der 8. von Huppert herausgegebenen Auflage von Neubauer und Vogel<sup>1)</sup>, welcher man Ungenauigkeit oder Unvollständigkeit gewiss nicht vorwerfen wird, nicht findet; auch in den bekannten Lehrbüchern von Löbisch und Schotten ist der Bildung von Essigsäure bei der ammoniakalischen Harngährung nicht Erwähnung gethan. Ebenso habe ich Maly's Jahresberichte vergeblich nach analogen Beobachtungen durchsucht. Endlich kann ich mich noch auf eine Aeusserung von Huppert in der neuesten (9.) Auflage von Neubauer und Vogel berufen. Huppert sagt, l. c., S. 5: «Die Lehre von der sauren Harngährung hat durch neue von Salkowski entdeckte Thatsachen einen anderen Inhalt bekommen.» Diese Aeusserung zeigt, dass ich mich in der Anschauung, dass meine Beobachtungen etwas Neues enthielten und nicht einfache Bestätigungen bereits

<sup>1)</sup> In der 9. Auflage findet sich S. 105 die Bemerkung: «Bei der ammoniakalischen Gährung des Harns bilden sich grosse Mengen flüchtiger Fettsäuren (Liebig, C. G. Lehmann, Neubauer, Salkowski).» Die 9. Auflage kommt aber hier nicht in Betracht, da meine Publication vor dem Erscheinen der 9. Auflage erfolgt ist.

bekannter Thatsachen seien, doch nicht allein befunden habe, dass sie vielmehr von dem hervorragendsten Autor der Lehre vom Harn getheilt worden ist und dass ich ausserdem bona fide gehandelt habe, wenn ich meine Beobachtungen als neue publicirte, während die von Treupel gebrauchte Redewendung, dass ich «die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen» habe, den Anschein erwecken könnte, dass ich ältere Beobachtungen wissentlich verschwiegen habe. Das ist selbstverständlich nicht der Fall.

Immerhin lässt sich nicht in Abrede stellen, dass eine positive, wenn auch halb vergessene und nicht genau präcisirte Angabe von Neubauer über den Gehalt gefaulten Harns an Essigsäure vorliegt. Durchaus sachlich unbegründet ist es aber, wenn Treupel eine Publication von Röhmann<sup>1)</sup> als Vorläufer der meinigen citirt, bezüglich deren mich ja ohne Zweifel der Vorwurf wissentlichen Verschweigens treffen würde, wenn sie in der That als Vorläufer der meinigen anzusehen wäre. Röhmann's, damals unter Leitung von Baumann ausgeführte Arbeit hat aber mit der meinigen durchaus nichts zu thun und es lag für mich nicht die geringste Veranlassung vor, sie zu citiren.

Röhmann's Arbeit behandelt die sogenannte saure Harngährung der älteren Autoren. Er beschränkte sich auf Bestimmungen der Acidität und verfolgte die Zunahme resp. Abnahme derselben beim Aufbewahren des Harns. Es ist einleuchtend, dass diese Art der Untersuchung keineswegs geeignet ist, unter allen Umständen Aufschluss darüber zu geben, ob beim Stehen des Harns sich Säuren bilden. Denn etwa gebildete Säure kann sehr wohl durch Zunahme des Ammons verdeckt werden. In wie hohem Grade dieses der Fall sein kann, sieht man aus meinen Versuchen, in denen sich reichlich Säure bildete, trotzdem die Reaction alkalisch wurde, als Begleiterscheinung der ammoniakalischen Harngährung. In der That hat Röhmann auch nur in wenigen Fällen die Acidität des Harns zunehmen sehen und nach der Art der Frage-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. V, S. 102.

stellung und entsprechend der gewählten Methode hörten Röhmann's Versuche da auf, wo meine anfangen, nämlich bei der ammoniakalischen Harngährung: wenn der Harn ammoniakalisch wurde, hatte Röhmann kein Object der Titirung mit Natronlauge mehr. Endlich handeln meine Beobachtungen ausschliesslich von der Bildung flüchtiger Fettsäuren; die von Röhmann in einigen Fällen beobachtete Zunahme der Acidität braucht nicht auf Bildung flüchtiger Fettsäuren zu beruhen, sie kann ebenso gut auf Milchsäurebildung, vielleicht auch auf Oxydation von Ammoniak zu salpetriger Säure zurückzuführen sein. Kurzum die Versuche von Röhmann haben nach der Art der Fragestellung, dem Versuchsplan und der Art der Ausführung mit den meinigen durchaus nichts zu thun, wodurch selbstverständlich der Werth derselben nicht herabgesetzt wird, ich kann sie nicht als Vorläufer der meinigen anerkennen und es lag für mich keine Veranlassung vor, sie zu citiren.

Als Quelle der flüchtigen Fettsäuren habe ich damals die Kohlehydrate des Harns betrachtet, hauptsächlich aus dem Grunde, weil der gefaulte Harn nur noch eine sehr schwache Furfuolreaction gab. Selbstverständlich musste ich mir die Frage vorlegen, ob der Gehalt des Harns an Kohlehydraten auch ausreicht, um die Entstehung verhältnissmässig grosser Mengen von Fettsäuren zu erklären. Treupel meint nun, dass ich bei dieser Ueberschlagsrechnung «von der nicht zutreffenden Voraussetzung ausgegangen» sei, dass der Kohlehydratgehalt des Harns nur aus Traubenzucker bestehe, während er überwiegend eine dextrinartige Substanz enthalte, «welche mit dem thierischen Gummi von Landwehr identisch ist». Das ist nicht richtig.

Allerdings habe ich bei der Ueberlegung, ob die Kohlehydrate, deren Gegenwart im Harn damals durch Molisch und v. Udránszky sehr wahrscheinlich gemacht war, die Fettsäuren liefern könnten, den Traubenzucker in erster Linie in Betracht gezogen, aber ich habe auch der Möglichkeit, dass der Harn noch andere Kohlehydrate ausser Traubenzucker enthalten könnte und diese an der Bildung der Fett-

säuren betheilig sein könnten, ausdrücklich gedacht und zwar aus dem Grunde, weil nach meiner Rechnung der etwa im Harn enthaltene Traubenzucker zur Erklärung des Gehaltes an Essigsäure in gefaultem Harn nicht ausreicht (l. c., XIII, S. 271 Ende und 272 Anfang). Mehr konnte man, der damaligen Sachlage nach, von mir nicht verlangen. Allenfalls hätte ich speciell des «thierischen Gummis» von Landwehr im Harn als mögliche Quelle der Fettsäuren gedenken können, aber nach der damals und bis jetzt allein vorliegenden Mittheilung von Landwehr im Centralbl. für d. med. Wissensch., 1885, No. 21, schien es, dass sich das Gummi stets nur in äusserst kleinen Mengen im Harn vorfindet, somit nicht erheblich in Betracht kommt.

Daran, dass die flüchtigen Fettsäuren des gefaulten Harns aus den Kohlehydraten des Harns stammen, dürfte nun wohl nicht zu zweifeln sein. Bereits in meiner ersten Mittheilung habe ich indessen auf einen Widerspruch aufmerksam gemacht, in welchen diese Annahme mit anderen Angaben geräth. Aus derselben Quelle nämlich, den Kohlehydraten, stammen nach v. Udránszky<sup>1)</sup> die von ihm beim Kochen des Harns mit Salzsäure erhaltenen stickstoffhaltigen Huminsubstanzen. Man sollte danach erwarten, dass der gefaulte Harn, dessen Kohlehydrate grösstentheils in Fettsäuren übergegangen sind, keine Huminsubstanzen mehr liefere oder sehr viel weniger. Das ist nun nach meinen Beobachtungen und den ausführlicheren von Taniguti<sup>2)</sup> nicht der Fall. Allerdings haben die aus dem gefaulten Harn erhaltenen Huminsubstanzen eine andere Zusammensetzung, aber sie haben doch unzweifelhaft den Charakter von N-haltigen Huminsubstanzen.

Treupel weist in seiner öfters citirten Abhandlung darauf hin, dass die Furfurolreaction mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure sehr subtil sei, und ist der Meinung, dass meine Angabe über den negativen Ausfall dieser Reaction in dem lange gefaulten Harn auf dieser Schwierigkeit in der Anstellung der Reaction beruhen könne. Treupel hat auch nachgewiesen,

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

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 484.

dass ein Harn, welcher lange Zeit der Fäulniss unterworfen gewesen ist, immer noch einen Theil der Kohlehydrate unverändert enthält. Dieser Bruchtheil des Kohlehydratgehaltes würde aber die relativ grosse Quantität von Huminsubstanz, die Taniguti aus gefaultem Harn erhalten hat, nicht erklären. Man muss sich doch nothwendig die Frage vorlegen, inwieweit es festgestellt ist, dass die N-haltige Huminsubstanz, die sich beim Kochen des Harns mit Säure ausscheidet, aus dem Kohlehydratbestand des Harns stammt.

Den Umstand, dass die aus dem Harn enthaltenen Huminsubstanzen trotz ihrer supponirten Abstammung aus Kohlehydraten N-haltig sind, hat v. Udránszky in einer meiner Ansicht nach ausreichenden Weise aufgeklärt, es ist auch nicht daran zu zweifeln, dass die Kohlehydrate des Harns, deren Existenz nach den zahlreichen aus dem Baumann'schen Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten feststeht, beim Kochen mit Säuren Huminsubstanz liefern, dagegen kann ich die Stichhaltigkeit der Beweisführung Udránszky's, dass die Kohlehydrate die einzige Quelle der Huminsubstanz seien, nicht anerkennen. In allen Theilen wird v. Udránszky dieselbe wohl selbst nicht mehr aufrecht erhalten; ich würde auch auf seine Beweisführung nicht wieder zurückkommen, wenn meine thatsächlichen Beobachtungen über diesen Punkt nicht von denen Udránszky's erheblich abwichen. Zunächst berücksichtigt Udránszky nur die reducirenden Kohlehydrate. Daraus ist ihm allerdings kein Vorwurf zu machen, da man zur Zeit seiner Abhandlung die nicht reducirenden, abgesehen von Landwehr's thierischem Gummi, noch nicht kannte, aber man kann die Stichhaltigkeit einer Beweisführung, die sich hierauf stützt, nicht mehr anerkennen. Dann aber bezieht er auffallender Weise das Reductionsvermögen des Harns nur auf Kohlehydrate, während doch auch das Kreatinin und die Harnsäure in erheblichem Grade betheilt sind; letztere kommt allerdings nur zum kleinen Theil in Betracht. Er findet nun, dass der mit Salzsäure ausreichend gekochte Harn (Harn mit 10 Vol.-% Salzsäure 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht) Kupferoxyd nicht mehr reducirt, und schliesst daraus, dass

die reducirenden Kohlehydrate unter Bildung von Huminstanzen zerstört sind. Beruhte die Reducionsfähigkeit des Harns wirklich nur auf reducirenden Kohlehydraten und würde sie durch Kochen mit Salzsäure aufgehoben, so wäre gegen diese Schlussfolgerung nichts einzuwenden. Weiterhin hat v. Udránszky gefunden, dass wenn man das Reducionsvermögen des genuinen Harns auf Traubenzucker umrechnet, die von diesem Harn beim Kochen mit Salzsäure gelieferte Huminsubstanz stets annähernd  $\frac{1}{7}$  des Kohlehydratgehaltes beträgt, dass sich also eine bestimmte Gewichtsbeziehung zwischen Kohlehydraten und Huminsubstanz nachweisen lasse. Hier können wohl nur Zufälligkeiten im Spiel gewesen sein, obwohl sie schwer verständlich sind, da ja, wie gesagt, das Reducionsvermögen nicht nur von Kohlehydraten abhängt.

Nun habe ich mich aber auch von der Richtigkeit der Angabe v. Udránszky's, dass der 18 Stunden mit 10 Vol.-% Salzsäure gekochte Harn, von der Huminsubstanz abfiltrirt, nicht mehr reducire, durchaus nicht überzeugen können, ich habe im Gegentheil das Reducionsvermögen dieser Filtrate recht stark gefunden. Nimmt man eine Probe von dem auf das Volumen des ursprünglichen Harns aufgefüllten salzsauren Harnfiltrat, neutralisirt sie und kocht mit Fehling'scher Lösung, so tritt allerdings keine Ausscheidung von Oxydul ein, wohl aber grünliche Verfärbung. So verhält sich aber auch normaler Harn. Säuert man nun die Probe mit Salzsäure an und setzt Kaliumsulfocyanat hinzu, so entsteht ein starker weisser Niederschlag von Kupferrhodanür. — Macht man die Probe des salzsauren Filtrates stark alkalisch, setzt ziemlich viel Kupfersulfat hinzu und kocht energisch, so tritt grünliche Verfärbung ein und, wenn man die Probe stehen lässt, massenhafte Ausscheidung von eigelb gefärbtem Kupferoxydulhydrat. Der mit Salzsäure gekochte Harn verhält sich also gerade so, wie der normale Harn.

Als Ursache des abweichenden Befundes ist in Betracht zu ziehen, dass v. Udránszky das salzsaure Filtrat vor der Prüfung seines Reducionsvermögens mit Thierkohle entfärbt hat, während ich dasselbe direct untersuchte. In der That

fand ich auch das Reduktionsvermögen der mit Kohle entfarbten Lösung erheblich geringer, aber keineswegs ganz fehlend. Diese Differenz des Verfahrens klärt also die Abweichung der Beobachtung nicht auf. Jedenfalls aber ist die Anwendung von Kohle bei der Prüfung des Reduktionsvermögens unzulässig.

Zur genaueren Bestimmung des Reduktionsvermögens bediente ich mich zunächst der von Flückiger<sup>1)</sup> angegebenen Methode, welche auch v. Udránszky angewendet hat und betreffs deren Einzelheiten ich wohl auf das Original verweisen kann. Es wurde zunächst das Reduktionsvermögen von den bei der Bestimmung der Huminsubstanz erhaltenen Filtraten bestimmt, welche auf das ursprüngliche Harnvolumen aufgefüllt waren, und zwar 1. an einer Quantität, welche aus 3 Litern stammte, 2. an einer zweiten Quantität aus 1 Liter, 3. an einer dritten, gleichfalls aus 1 Liter Harn. Es kamen jedesmal 20 ccm. dieser salzsauren Filtrate, 20 ccm. Fehling'sche Lösung und 80 ccm. Wasser in Anwendung. Die Bestimmung gelang bei diesen Flüssigkeiten ohne besondere Schwierigkeiten, d. h. es wurde ein klares oder fast ganz klares hellgelbes Filtrat erhalten. Allerdings enthält dasselbe eine Spur gelöstes Kupferoxydul und selbstverständlich, da das gelöste Kupferoxydul sich sehr schnell oxydirt, auch von Kupferoxyd. Wurde das Filtrat mit Salzsäure angesäuert, dann mit Ammoniak alkalisirt, so zeigte es einen minimalen bläulichen Schimmer und färbte sich beim Stehen an der Oberfläche und allmählig weiter in die Tiefe schreitend stärker blau. Diese Spur von Oxydul bleibt aber stets im Filtrat, wenn man auch noch so viel Zuckerlösung hinzusetzt. Hier von abgesehen gelang, wie gesagt, die Bestimmung ohne besondere Schwierigkeit. Es ergab sich so ein scheinbarer Zuckergehalt:

für 1 = 0,26<sub>0</sub>,

für 2 = 0,24<sub>0</sub>,

für 3 = 0,24<sub>0</sub>.

Diese Zahlen liegen sehr nahe denen, welche Flückiger für den Gehalt des normalen Harns an reducirender Substanz,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. IX, S. 335.



ausgedrückt als Traubenzucker, angiebt. Dennoch lag mir daran, diese Uebereinstimmung selbst zu constatiren, was wenigstens für Harn 3 möglich erschien, da von diesem Harn ein Theil zur Bestimmung des Reductionsvermögens reservirt war. J. Munk<sup>1)</sup> hat nun bei Anwendung des Verfahrens von Flückiger sehr ungünstige Erfahrungen gemacht, auch mir gelang die Bestimmung im vorliegenden Falle und in einigen anderen nicht.

Unter diesen Umständen erinnerte ich mich eines Verfahrens, welches ich früher einmal zur Bestimmung der reducirenden Substanz angegeben habe<sup>2)</sup> und welches auf der Ausfällung des Kupferoxyduls als Kupferrhodanür, Wägung desselben nach längerem Trocknen bei 115° beruht. Das an dem angeführten Ort beschriebene Verfahren habe ich seitdem dahin modificirt, dass ich statt des dort angegebenen Gemisches von Natronlauge und Kupfersulfat Fehling'sche Lösung anwende, weil es bei Anwendung der l. c. angeführten Mischung doch öfters vorkommt, dass sich plötzlich schwarzes Kupferoxyd ausscheidet und eine Reduction überhaupt nicht eintritt.

Das angewendete Verfahren ist nun folgendes: 20 ccm. frisch hergestellter Fehling'scher Lösung (auch die Lösung von weinsaurem Natronkali und Natronlauge wird am besten unmittelbar vor dem Gebrauch hergestellt), 80 ccm. Wasser und 10 ccm. Harn werden im Kolben zum Sieden erhitzt. Dabei wird die Mischung oft ziemlich stark gelbroth und getrübt durch ausgeschiedenes Kupferoxydul. Alsdann säuert man mit Salzsäure, nicht zu stark, an, verdünnt mit ausgekochtem Wasser auf das ursprüngliche Volumen oder etwas mehr, giesst die Lösung aus dem Kolben in ein Becherglas, spült nach und fällt sofort mit einer verdünnten, etwa 2procentigen, Lösung von Rhodankalium oder besser Rhodanammonium in möglichst geringem Ueberschuss. Der entstandene weisse Niederschlag von Kupferrhodanür wird nach 24 Stunden unter leichtem Erwärmen oder auch in der Kälte abfiltrirt, gewaschen, bei 115° getrocknet, gewogen. 607 Theile entsprechen 180 Theilen wasserfreiem Traubenzucker. Auf die sofortige Fällung der erhaltenen salzsauren Lösung ist Werth zu legen, zögert man damit, so erleidet man Verlust durch Oxydation von Kupferoxydul. Die Filtration des Kupferrhodanür bietet Schwierigkeiten, es bedarf sehr guten Papiers und grosser Vorsicht beim Auswaschen, um ein klares Waschwasser zu erhalten. Eine kleine Un-

<sup>1)</sup> Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1886, No. 10.

<sup>2)</sup> Virchow's Archiv, Bd. 105, S. 63.

bequemlichkeit bilden die manchmal am Boden der Flüssigkeit ausgeschiedenen Krystalle von Monokaliumtartrat. Dieselben schliessen etwas Kupferrhodanür ein, dürfen daher nicht vernachlässigt werden; man bringt sie durch Erwärmen mit Wasser unter Zusatz von Salzsäure in Lösung. Falls die Krystalle, was auch mitunter vorkommt, an der Oberfläche schwimmen, bringt man sie zum Untersinken, damit sie nicht auf das Filter gerathen, auf dem sie kaum noch in Lösung zu bringen sind. Diese Ausscheidung von Weinstein erfolgt mitunter selbst dann, wenn man zur Herstellung der Fehling'schen Lösung nur weinsaures Natron oder Weinsäure in Natron gelöst angewendet hat (etwa 9 g. Weinsäure, 22 cbcm. Natronlauge von 1,34 spec. Gew. aufgefüllt auf 50 cbcm.). Dagegen habe ich sie nicht auftreten sehen bei Anwendung von Rhodanammonium statt Rhodankalium, auch dann nicht, wenn man weinsaures Natronkali zur Fehling'schen Lösung nimmt, Rhodammon dürfte daher vorzuziehen sein.

Von der Reinheit des Kupferrhodanürs kann man sich in folgender Weise überzeugen: Dasselbe wird gegläht, mit Wasser ausgekocht, filtrirt, in den Auszug Schwefelwasserstoff eingeleitet zur Entfernung einer geringen Quantität Kupfer (schwefelsaures Kupfer beim Verbrennen des Rhodanür gebildet), wiederholt filtrirt, bis das Filtrat wasserhell ist. Dasselbe wird in einer gewogenen Platinschale eingekocht, der Rückstand zum gelinden Glühen erhitzt: es bleibt entweder ein unwägbarer Rückstand oder etwa 1 Milligr.

Sehr empfehlenswerth ist stets die Ausführung eines genau ebenso angestellten Controllversuches ohne Harn resp. mit noch 10 cbcm. Wasser statt Harn.

Dieses Verfahren gibt nun ganz überraschend hohe Werthe, es kommt selbst vor, dass die angegebenen 20 cbcm. Fehling'scher Lösung auf 10 cbcm. Harn nur knapp ausreichen; die folgende kleine Tabelle enthält die gefundenen Werthe.

Angewendet 10 cbcm.	Specificsches Gewicht.	Kupfer-rhodanür erhalten.	Scheinbarer Zuckergehalt in Procenten.
Salzsaures Filtrat I . . . . .	—	0,3071	0,912
» » II . . . . .	—	0,334	0,981
» » III . . . . .	—	0,334	0,981
Harn entsprechend dem Filtrat III	1020	0,2922	0,866
Harn . . . . .	1024	0,3002	0,895
» . . . . .	1015	0,1256	0,372
» . . . . .	1022	0,3314	0,983
» . . . . .	1018	0,3096	0,918
» . . . . .	1017	0,1672	0,496

Die Aufklärung dieser auffallenden Ergebnisse muss weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, jedenfalls aber folgt aus den obigen Bestimmungen, dass das Reduktionsvermögen des Harns nach 18stündigem Kochen mit 10% Salzsäure (von 1,12 spec. Gew.) nicht vermindert ist. Da nun in den salzsauren Filtraten die Harnsäure, welche für das Reduktionsvermögen des normalen Harns sehr wesentlich in Betracht kommt, eliminirt ist oder wenigstens zum grossen Theil eliminirt ist, so lässt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit sagen, dass das Reduktionsvermögen des Harns bei anhaltendem Kochen mit Säuren zunimmt.

Aus dem Verhalten des Harns lässt sich also keinerlei Schluss ziehen über die etwaige Betheiligung der reducirenden Kohlehydrate an der Bildung der Huminsubstanzen. Das wäre eben nur möglich bei Abnahme des Reduktionsvermögens. Aber auch der umgekehrte Schluss, welcher darauf hinauskommen würde, dass im Harn keine reducirenden Kohlehydrate enthalten sind, ist nicht zulässig. Man könnte vielleicht geneigt sein, folgendermassen zu schliessen: Wenn man die Lösung reducirender Kohlehydrate mit 10% Salzsäure versetzt, auf etwa  $\frac{1}{10}$  des Volumens eindampft und nun noch 16—18 Stunden am Rückflusskühler kocht, so werden die Kohlehydrate ohne Zweifel unter Bildung von Huminsubstanzen zersetzt und das Reduktionsvermögen der Flüssigkeit hört auf oder nimmt bis auf ein Minimum ab. Da der Harn dieser Behandlung unterworfen ist und sein Reduktionsvermögen nicht abgenommen hat, so enthält der Harn keine reducirenden Kohlehydrate. Dieser Schluss ist nicht zwingend, denn es ist sehr wohl denkbar, dass das Reduktionsvermögen anderer Harnbestandtheile bei diesem Verfahren zunimmt und auf diesem Wege das durch Zerstörung der Kohlehydrate entstandene Deficit des Reduktionsvermögens compensirt und selbst übercompensirt wird.

Aus dem Reduktionsvermögen des Harns vor und nach dem Kochen mit Salzsäure lässt sich also überhaupt nichts schliessen über die Betheiligung der Kohlehydrate an der

Bildung der stickstoffhaltigen Huminsubstanzen; aus diesem Grunde habe ich auch die Reductionsverhältnisse an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

Bereits vor dem Erscheinen der Abhandlung von Treupel habe ich mich bemüht, die Frage, wie es komme, dass der längere Zeit gefaulte Harn doch beim Kochen mit Salzsäure Huminsubstanz liefert, aufzuklären, z. Th. veranlasst durch den zufälligen Umstand, dass mir einige Liter eines Harns zur Verfügung standen, welcher bereits 1 $\frac{1}{2}$  Jahre alt war. Ich habe mir dabei natürlich nicht verhehlen können, dass die Frage nach der Muttersubstanz der Huminsubstanzen an sich von untergeordneter Bedeutung ist und ihre Aufklärung schwerlich ein genügendes Aequivalent für einen grösseren Aufwand von Zeit und Mühe bildet, dagegen schien es mir lohnend, bei dieser Gelegenheit die neueren Methoden der Untersuchung auf Kohlehydrate einer Nachprüfung zu unterziehen.

Der der Arbeit zu Grunde liegende Plan war folgender: Durch eine Anzahl quantitativer Bestimmungen sollte ermittelt werden, ob sich für normalen Harn eine in gewissen Grenzen schwankende Relation zwischen dem Gehalt an Kohlehydraten und der Quantität der aus dem Harn darstellbaren Huminsubstanz feststellen liesse. Dasselbe sollte an gefaultem Harn ausgeführt werden. Wenn die Kohlehydrate die einzige Quelle der Huminsubstanzen sind, so muss diese Verhältnisszahl in dem gefaulten Harn dieselbe sein. Erwies sich dagegen die Verhältnisszahl für Huminsubstanz : Kohlehydrat in dem gefaulten Harn vergrössert, so war damit erwiesen, dass die Huminsubstanz nur zu einem Theil aus den Kohlehydraten abstammen konnte.

### **I. Der Nachweis und die Bestimmung der Kohlehydrate im Harn.**

Es stehen uns für diesen Zweck bekanntlich zwei Methoden zu Gebote, von denen wir die eine, die Bildung von Benzoyl-estern, Baumann ganz verdanken, die andere ursprünglich

von Molisch herrührt, jedoch im Baumann'schen Laboratorium wesentliche Verbesserungen erfahren hat und als quantitative Methode ausgebildet ist.

Die dritte Methode, die man noch anführen könnte, die Bildung von Osazonen, scheint für normalen Harn wenig anwendbar zu sein.

Die Angaben der verschiedenen Autoren über das Verhalten des normalen Harns zu salzsaurem Phenylhydrazin + Natriumacetat und ebenso die Ansichten über die Verwerthbarkeit dieser Reaction zum Nachweis kleiner Quantitäten von Zucker im Harn gehen, wie Roos<sup>1)</sup> ausgeführt hat, sehr weit auseinander. Augenscheinlich kommt sehr viel auf die speciellen Einzelheiten des Verfahrens und namentlich auch auf die Quantität des angewendeten Phenylhydrazins an. Die Differenzen der Autoren möchten hierdurch wohl ihre Erklärung finden.

Im Allgemeinen kann ich mich den Angaben von Roos anschliessen. Wenn man 10 ccm. Harn mit 0,5 g. salzsaurem Phenylhydrazin und 1 g. Natriumacetat eine volle Stunde im Reagensglas in einem kochenden Wasserbad (in dieses versenkt) erhitzt und dann mit demselben erkalten lässt, so findet man wohl stets in dem Niederschlag bei der mikroskopischen Untersuchung am nächsten Tage unzweifelhafte Nadelbüschel, oft noch viel grössere, als Roos sie bei 300maliger Vergrösserung abbildet, dabei aber auch stets ölige Tropfen. Die Nadelbüschel sind oft ganz ausserordentlich zart und weich; wenn man das Deckglas nur ein wenig andrückt, so kann es vorkommen, dass die Nadeln zerdrückt und von den sich ausbreitenden ölförmigen Beimischungen ganz überfluthet werden, so dass man dann durchaus nichts mehr von krystallinischen Gebilden sieht.

Etwas anders verhalten sich grosse Quantitäten Harn auf einmal erhitzt. Ich habe kürzlich im Verein mit Herrn Sanitätsrath Dr. Jastrowitz<sup>2)</sup> in einem pathologischen Harn

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XV, S. 529.

<sup>2)</sup> Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1892, No. 19 und No. 32.

ein neues Kohlehydrat aufgefunden — entweder an sich neu oder für den Harn neu, wahrscheinlich eine Pentose —, dessen Osazon scharf bei  $159^{\circ}$  schmilzt. Um zu sehen, ob dasselbe nicht vielleicht in kleinen Mengen auch im normalen Harn vorkomme, wurden grössere Quantitäten Harn mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat behandelt.

Er wurde jedesmal 1 Liter Harn mit 20 g. salzsaurem Phenylhydrazin und 40 g. Natriumacetat 1 bis  $1\frac{1}{2}$  Stunde im strömenden Dampf erhitzt (die Zeitangabe bezieht sich auf den Beginn des Ausströmens des Dampfes, die Bechergläser wurden in den Apparat gesetzt, dann erst dieser angeheizt) und dann mit dem Apparat erkalten gelassen. Die mikroskopische Untersuchung des Niederschlages am nächsten Tage ergab fast nur sehr kleine, aber sehr wohl ausgebildete Rosettenformen neben ganz verschwindend geringen amorphen Beimischungen. Ich will nicht versäumen, hervorzuheben, dass ich mit dieser Angabe nur eine mir mündlich gemachte Mittheilung von Röhmann bestätige. Die Krystallbüschel sind weit widerstandsfähiger, wie die bei den kleinen Proben erhaltenen. Die Farbe des abfiltrirten und über Schwefelsäure getrockneten Niederschlages ist, abweichend von dem Phenylglycosazon, fast braun, der Schmelzpunkt nicht scharf, etwa bei  $175-180^{\circ}$ . Von einer Verwechslung dieses Niederschlages mit Phenylglucosazon kann, wenn man nur einigermaßen auf den äusseren Habitus und die mikroskopische Form achtet, nicht die Rede sein.

Kocht man diesen Niederschlag mit Wasser aus, so löst sich nur ein Theil auf, während ein grosser Theil verharzt. Aus der filtrirten heissen Lösung scheidet sich ein hellgelber mikrokrySTALLINISCHER Niederschlag aus, dessen Schmelzpunkt bei  $170^{\circ}$  liegt, aber gleichfalls nicht ganz scharf ist. Die Quantität der so erhaltenen hellgelben Verbindung ist gering. — Auch die Behandlung der ursprünglichen Verbindung mit Alkohol, Eingiessen in Wasser und Fortkochen des Alkohols führte zu keinen besseren Resultaten, auch hierbei findet umfangreiche Verharzung statt. Ein etwas besseres Resultat gibt die Auflösung in Eisessig und Eingiessen in Wasser.

In allen Fällen ist die über dem Niederschlag stehende Harnflüssigkeit, wie auch Roos hervorhebt, lehmig trüb und geht in dieser Beschaffenheit auch durch das Filter hindurch (wenigstens ist dieses bei den Versuchen im Grossen constant der Fall, während ich bei den nach Roos angestellten Proben mit 10 ccm. Harn und einem grösseren relativen Verhältniss von Phenylhydrazin zum Harn einige Male auch fast ganz klare Filtrate erhielt), so dass an eine quantitative Verwerthung der Reaction mit salzsaurem Phenylhydrazin + Natriumacetat — abgesehen von allen anderen sonst noch möglichen Einwänden — nicht zu denken ist.

Was die Brauchbarkeit der Reaction mit Phenylhydrazin + Natriumacetat zum Nachweis kleiner Quantitäten von Dextrose betrifft, so halte ich diese Frage noch nicht für abgeschlossen. Man könnte wohl geneigt sein, nach den Resultaten von Roos diese Frage im Wesentlichen als im negativen Sinne beantwortet anzusehen, indessen weicht die Versuchsanordnung von Roos in ihren Einzelheiten wesentlich von der von v. Jaksch gegebenen Vorschrift ab, so dass dadurch die positiven Angaben einer Reihe von Autoren nicht entwerthet werden. Es wäre immerhin wohl möglich, dass sich bei Einhaltung der von Jaksch angegebenen Versuchsbedingungen oder einer Modification dieser das Verhalten schwach zuckerhaltiger Harne doch als charakteristisch herausstellt. Eine neue Complication würde dabei freilich das oben erwähnte abnorme Kohlehydrat bilden. Für die vorliegende Frage war, wie erörtert, die Phenylhydrazinprobe nicht anwendbar.

#### 1. Die Feststellung des Kohlehydratgehaltes durch Benzoylirung.

Zur Darstellung der Benzoylverbindungen der Kohlehydrate wird der Harn nach der von Wedenski<sup>1)</sup> gegebenen Vorschrift zuerst mit wenig Natron versetzt, von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt, dann werden auf je 100 ccm.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., C.J. XIII, S. 122

Harn 3—5 ccm. Benzoylchlorid und 25—40 ccm. 10- bis 12procentiger Natronlauge hinzugefügt; das Gemisch wird stark durchgeschüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden ist; während des Schüttelns wird das Gefäss durch Wasser gekühlt.

In einer späteren gleichfalls aus dem Laboratorium von Baumann hervorgegangenen Arbeit verwendet Roos auf je 100 ccm. Harn 100 ccm. Natronlauge der angegebenen Concentration und 10 ccm. Benzoylchlorid. Roos nimmt also nicht allein mehr Benzoylchlorid auf dasselbe Volumen Harn, sondern auch das Verhältniss zwischen Benzoylchlorid und Natronlauge ist bei ihm, wie man sieht, ein etwas anderes. Eine Begründung dieser Abweichung findet sich, soviel ich sehen kann, nicht bei Roos. Treupel acceptirt die Zahlen von Roos und gibt als Vorschrift für die Probe im Reagensglas 10 ccm. Harn, 10 ccm. Natronlauge (10—12procentig) und 1 ccm. Benzoylchlorid.

Ich habe mich in den meisten Fällen an die Angaben von Wedenski gehalten und zwar an die höheren Zahlen — 40 ccm. Natronlauge und 5 ccm. Benzoylchlorid auf 100 ccm. Harn —, doch kam in einigen Fällen auch die doppelte Quantität Benzoylchlorid zur Anwendung. Das Verhältniss der Natronlauge zum Benzoylchlorid zu steigern, fand ich keine Veranlassung, da die Mischungen nach Ablauf der Reaction stark alkalisch reagirten.

Man stösst nun, wenn man die Quantität der aus dem Harn darstellbaren Benzoylverbindungen bestimmen will, auf eine kleine Schwierigkeit. Nach der Angabe von Wedenski soll der Harn zuerst mit wenig Natronlauge versetzt und dann filtrirt werden, um die Phosphate zu entfernen. Der Harn geht dabei in der Regel Anfangs trüb durch's Filter und muss mehrmals zurückgegossen werden, es macht sogar einige Schwierigkeiten, ein ganz klares Filtrat zu erhalten. Erleichtert wird dieses dadurch, dass man den alkalisirten Harn vor dem Filtriren einige Stunden stehen lässt. Das Stehenlassen empfiehlt sich auch schon aus dem Grunde, weil sonst sehr leicht noch nachträglich Ammoniummagnesiumphosphat ausfällt und sich dem Niederschlag beimischt. Will man nun die Quantität der Benzoylverbindungen aus einem bestimmten Volumen Harn ermitteln, so muss man warten, bis der alkalisirte Harn völlig filtrirt ist, und dann natürlich noch genügend nachwaschen. Da



die Filtration langsam erfolgt, so ist das vorgängige Alkalisiren eine lästige Complication und es wird ausserdem durch das Nachwaschen der Harn unnöthig weiter verdünnt.

Um diese Complication zu vermeiden, bin ich folgendermassen vorgegangen: Wenn beispielsweise die Benzoylverbindungen aus 500 ccm. bestimmt werden sollten, wurden 600 ccm. desselben mit Natronlauge stark alkalisirt, dann durch Wasserzusatz auf 660 ccm. gebracht, durch ein trocknes Filter filtrirt und vom Filtrat 550 ccm. abgemessen, entsprechend 500 Harn. Es ist sogar zweckmässig, noch mehr Harn zu nehmen, also etwa 700 ccm. auf 770 ccm. gebracht, da die Filtration sich allmählig sehr verlangsamte. Dieser Handgriff ist kaum der Erwähnung werth, ich erwähne ihn auch nur, um mich keiner Unterlassung schuldig zu machen. Wedenski spricht sich über diesen Punkt nicht aus, ebenso wenig Roos und Treupel.

Angaben über die Art der Aufsammlung des Niederschlages zum Zweck der Gewichtsbestimmung finden sich bei Wedenski und Roos nicht. Handelt es sich um eine irgend erhebliche Quantität Harn, so macht die Aufsammlung in der That nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Da die Filtration sehr langsam erfolgt, so kann man nicht allzu kleine Filter nehmen, die Trocknung irgend grösserer Filter über Schwefelsäure ist aber bekanntlich eine äusserst missliche Sache; ebenso erweist es sich als ganz unausführbar, die Benzoylverbindungen nach dem Trocknen vom Filter abzulösen und für sich zu wägen. Der getrocknete Niederschlag hat zwar nicht direct klebrige Beschaffenheit, aber er stäubt einerseits sehr stark, weil er sehr leicht ist, und er haftet andererseits sehr fest am Filter, so dass die Ablösung von Papierfasern nicht zu vermeiden ist. Eine Ablösung des Niederschlages vom Filter ohne erheblichen Verlust einerseits und Beimischung von Papierfasern andererseits ist ganz unausführbar.

Folgendes Verfahren hat sich mir als zweckmässig erwiesen: Die wenigstens eine halbe Stunde lang in einem Kolben mit Glasstöpsel oder einer Glasstöpselflasche geschüttelte Mischung bleibt bis zum nächsten Tage an einem kühlen Ort stehen und wird dann mittelst der Saugpumpe durch ein Filter von gehärtetem Papier (von Schleicher und Schüll) filtrirt; der Niederschlag, vollständig auf's Filter gebracht,

wird so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine oder nur eine ganz minimale Salzsäurereaction gibt. Die Filtration erfolgt langsam. Alsdann breitet man das Filter auf einer Papierunterlage oder Thonplatte aus und lässt den Niederschlag ein wenig trocknen. Der noch etwas feuchte Niederschlag wird vorsichtig abgenommen, in ein grosses Uhrglas gebracht und zum Trocknen über Schwefelsäure gestellt. Um die anhaftenden Reste der Benzoylverbindungen zur Wägung zu bringen, zerschneidet man das Filter über einem grossen Becherglas, welches der Vorsicht halber noch auf ein Blatt glattes Papier gestellt wird, giesst auf die Schnitzel so viel Alkohol absolut., dass sie mehr als bedeckt sind, deckt das Becherglas mit einem grossen Uhrglas zu und erhitzt es auf dem Wasserbad so lange, bis die Schnitzel ganz rein erscheinen; man giesst nun den alkoholischen Auszug unter Zurücklassung der Schnitzel möglichst vollständig auf ein Filter, behandelt die Papierschnitzel noch einmal mit Alkohol und bringt sie schliesslich auf's Filter, wäscht mit Alkohol nach. Die gesammelten alkoholischen Auszüge werden entweder direct in einer gewogenen Platinschale eingedampft, oder nachdem sie vorher in einer grösseren Schale concentrirt sind, der Rückstand kurze Zeit (1 Stunde) bei 100 bis 110° getrocknet und gewogen. Die so erhaltene Quantität wird zur Hauptmenge hinzuaddirt. Das Trocknen der Hauptmenge des Niederschlages über Schwefelsäure dauert bei Quantitäten von mehr als 1 g. sehr lange; anscheinend trockne Niederschläge verlieren oft noch erstaunlich viel an Gewicht. Aus diesem Grunde ist auch für häufige Erneuerung der Schwefelsäure des Exsiccators Sorge zu tragen.

Die von mir untersuchten Harne waren ausschliesslich Tagesharne, die 24stündige Menge nicht bekannt; jede untersuchte Harnprobe ist ein Theil einer grösseren Quantität des von einem Individuum entleerten Harns, einzelne Harnentleerungen sind nicht untersucht. Die Harne stammten von verschiedenen gesunden Individuen. Absichtlich wurden sehr verschiedene Volumina Harn angewendet. Nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werthe.

Versuchs- Nummer.	Angewandte Harnmenge in ccm.	Specificsches Gewicht.	Erhaltene Benzoyl- verbindung in g.	Auf 100 ccm. berechnet.		
1	300 <sup>1)</sup>	1024	1,087	0,366		
2	300	1022	0,692	0,231		
3	a) 200 b) 200	1024	0,313 0,244	0,157 0,122	Mittel 0,140	
4	300		1020	0,656		0,219
5	200	1017	0,317	0,159		
6	200	1019	0,388	0,194		
7	800	1020	0,806	0,101		
8	400	?	1,068	0,265		
9	a) 200 b) 200	1022	0,588 0,560	0,294 0,280	Mittel 0,287	
10	1000		1024	2,279		0,228
11	1000	1017	1,651	0,165		
12	a) 200 b) 200 c) 700	1021	0,233 0,295 1,322	0,117 0,148 0,189	Mittel 0,151	
13	1000		1018	1,958		0,196

Was zunächst die Doppelbestimmungen betrifft, so ist die Uebereinstimmung derselben, trotzdem die Bedingungen so viel wie möglich gleich gehalten werden, nur eine sehr mässige zu nennen. Man wird dementsprechend auch nur auf grosse Differenzen Gewicht legen können. Man könnte geneigt sein, die Ursache der Differenz in dem Auswaschen des Niederschlages zu suchen. Wedenski hat schon angegeben, dass beim Auswaschen schwach saure Reaction eintritt, was Roos bestätigt. Es geht hierbei, wie vorauszusehen war, etwas Kohlehydrat verloren. Versetzt man ein solches Waschwasser, welches mit Silberlösung keine oder keine merkliche Trübung gibt, mit Silbernitrat, Ammoniak und Natronlauge und erhitzt zum Sieden, so tritt Silberreduction ein. Augenscheinlich aber ist die Zersetzbarkeit des Niederschlages durch Wasser

<sup>1)</sup> Die Zahlen entsprechen den wirklich in der Mischung vorhandenen Quantitäten Harn; vergl. die früheren Erörterungen über diesen Punkt.

nicht gross genug, um die ungenügende Uebereinstimmung der Doppelbestimmungen zu erklären. Es scheint vielmehr, dass die Bedingungen für die Ausfällung der Benzoylverbindung in den Doppelbestimmungen doch nicht ganz gleichmässig sind, trotz aller Bemühungen, sie gleichmässig zu machen.

Ueber die Quantität der Benzoylverbindungen aus menschlichem Harn liegt meines Wissens bisher nur eine Angabe von Wedenski vor (l. c., S. 124): «Die Ausbeute an den genannten Benzoylverbindungen betrug bei einer grösseren Zahl von Bestimmungen zwischen 0,138 und 1,309 g. auf 100 chem. Harn berechnet.» Bei Wedenski beträgt das Maximum also fast das 10fache des Minimums.

In meinen Versuchen betrug das Minimum für 100 chem. Harn von etwas mehr als mittlerer Concentration 0,122 g., das Maximum 0,366 g., die Schwankung also das Dreifache. Das Minimum stimmt ungefähr mit dem von Wedenski gefundenen überein, dagegen betrug das Maximum noch nicht  $\frac{1}{3}$  des von Wedenski ermittelten. Worin diese Differenz begründet ist, lässt sich bei dem Mangel näherer Angaben nicht sagen. Im Ganzen wurden in meinen Versuchen 7400 chem. Harn<sup>1)</sup> von etwas mehr als mittlerer Concentration mit Natronlauge + Benzoylchlorid behandelt und daraus 15,113 g. Benzoylverbindung erhalten. Das ergibt im Mittel 2,042 g. im Liter.

Was die Natur des durch Natronlauge + Benzoylchlorid aus Harn erhaltenen Niederschlages betrifft, so liegt kein Grund vor, an der Richtigkeit der Anschauung von Baumann und Wedenski, dass er der Hauptsache nach aus den Benzoylverbindungen von Kohlehydraten besteht, zu zweifeln. Wie Roos und Treupel angegeben haben, kann man sich von der reichlichen Anwesenheit von Kohlehydraten in demselben überzeugen, indem man eine kleine Probe des Niederschlages in Schwefelsäure löst und mit  $\alpha$ -Naphthollösung und

---

<sup>1)</sup> Es sind ausserdem noch mehrere Fällungen aus je 1 Liter Harn gemacht, das Gewicht des Niederschlages jedoch nicht festgestellt.

Wasser versetzt: man erhält so eine intensive Furfurolreaction<sup>1)</sup>).

Auch die Analysen von Wedenski sprechen für diese Anschauung. Bei der grossen Reactionsfähigkeit des Gemisches von Benzoylchlorid + Natronlauge wäre es aber durchaus nicht auffallend, wenn der Benzoylniederschlag aus Harn ausser den Kohlehydraten noch andere Verbindungen enthielte. Hierauf deutet auch der N-Gehalt des Niederschlages hin.

Wedenski gibt an, dass der Niederschlag Spuren von Stickstoff enthalte, ein Versuch, denselben quantitativ zu bestimmen, aber wegen der allzu geringen Menge desselben aufgegeben sei. Bei einigen Versuchen, die ich ausführte, zeigte sich derselbe zwar gering, aber nach Kjeldahl's Verfahren recht wohl bestimmbar. Zum Auffangen des Ammoniaks dienten 10 ccm. einer Oxalsäurelösung, welche 15,0975 g. Oxalsäure im Liter enthielt. Zurücktirt wurde mit Barytwasser.

1. 0,3172 g. von Probe 6 (10 ccm. Säure = 13,25 ccm. Baryt). Zum Zurücktiren gebraucht 11,55 ccm. Baryt. N-Gehalt = 1,38%.
2. 0,5514 g. von Probe 12 (10 ccm. Säure = 13,25 ccm. Baryt): Zum Zurücktiren gebraucht 10,2 ccm. Baryt. N-Gehalt = 1,39%.
3. 0,5048 g. von Probe 11 (10 ccm. Säure = 13,35 ccm. Baryt). Gebraucht 10,25 ccm. Baryt. N-Gehalt = 1,54%.
4. Reste von Probe 1 und 5 in Eisessig gelöst, durch Wasser gefällt, 0,5638 g. (10 ccm. Säure = 13,25 ccm. Baryt). Gebraucht 10,50 ccm. Baryt. N-Gehalt = 1,39%.
5. Benzoylniederschlag in Alkohol gelöst, nach dem Erkalten filtrirt, durch Wasser und etwas Salzsäure gefällt, gewaschen etc., 0,512 g. (10 ccm. Säure = 13,35 ccm. Baryt). Gebraucht 10,8 ccm. Baryt. N-Gehalt = 1,28%.

Im Mittel würde also der N-Gehalt 1,4% betragen. — Man könnte geneigt sein, diesen N-Gehalt auf Verunreinigung der Niederschläge durch Harnbestandtheile zu beziehen. Abgesehen davon, dass die erwähnte Constanz des N-Gehaltes dieser Annahme widerspricht, wird sie auch dadurch sehr unwahrscheinlich, dass die untersuchten Präparate sich frei von Chloriden erwiesen (Proben derselben wurden mit Wasser

<sup>1)</sup> Schon früher hat v. Udránszky mit dem Niederschlag die Schiff'sche Furfurolreaction erhalten; diese Zeitschr., Bd. XV, S. 379.

ausgezogen, der Auszug mit Silbernitrat geprüft). Bei den Proben 4 und 5 ist diese Möglichkeit der Erklärung nach der Art der Darstellung der Präparate von vorneherein ausgeschlossen. Man muss also wohl annehmen, dass dieser N-Gehalt dem Niederschlag in der That zukommt.

Nach den Angaben von Hugo Schröter<sup>1)</sup> über Aether der Eiweisskörper liegt es sehr nahe, an eine Beimischung von Benzoylestern irgend welcher Eiweisskörper zu denken, vielleicht von Nucleoalbuminen, die man ja jetzt geneigt ist, als normalen Harnbestandtheil zu betrachten. Da der N-Gehalt der Benzoylester der Albumosen nach Schröter 10—11% beträgt, so würden den Kohlehydrateestern etwa 14% dieser Eiweissester beigemischt sein. Wenn diese Annahme richtig ist, so muss der Benzoylniederschlag auch schwefelhaltig sein. Das ist in der That der Fall. Der Schwefelgehalt lässt sich sowohl durch Erhitzen mit Natrium oder Kalium, als auch durch Schmelzen mit  $\text{KNO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$ , sowie mit  $\text{KClO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$  (die Gemische sind explosiv, die Schmelzung daher kaum ohne Verluste ausführbar) nachweisen.

Jedenfalls aber liegt kein Grund vor, daran zu zweifeln, dass der bei Weitem überwiegende Theil des Benzoylniederschlages aus Benzoylestern der Kohlehydrate besteht. Dagegen kann ich die allgemein acceptirte Anschauung, dass diese Kohlehydrate Traubenzucker und thierisches Gummi seien, nicht als genügend begründet anerkennen.

Für die Gegenwart von Benzoylestern des Traubenzuckers führt Wedenski Folgendes an: 1. Der durch Natronlauge nicht verseifbare Antheil des Niederschlages löst sich in Alkohol auf. Dieser Antheil reducirt nach Zusatz von Natronlauge Fehling'sche Lösung. 2. Der durch Natronlauge nicht verseifbare Antheil wird beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure allmählig gespalten. Dabei geht ein Kohlehydrat in Lösung, welches, nach Entfernung der Benzoësäure, «die gewöhnlichen Reactionen des Traubenzuckers gegen alkalische Kupfer- oder Wismuthlösung, wie gegen Alkalien beim Kochen zeigte».

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXII, S. 1950.

Dieses Verhalten ist natürlich nicht beweisend für präformirten Zucker, da ja die Möglichkeit sehr nahe liegt, dass der reducirende Körper erst durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf ein nicht reducirendes Kohlehydrat entstanden ist. Es bleibt also nur die reducirende Wirkung des nicht verseifbaren Antheils (in alkoholischer Lösung) für Fehling'sche Lösung, was offenbar für den Nachweis von Traubenzucker nicht ausreicht. Das zweite Kohlehydrat ist nach Wedenski ein dextrinartiger Körper, welcher mit dem thierischen Gummi von Landwehr wahrscheinlich identisch ist. Das Vorkommen des thierischen Gummis im Harn steht aber noch so wenig fest, dass dieser Theil seiner Angaben überhaupt nicht viel besagt.

Während nun aber Wedenski sich immerhin mit einer gewissen Reserve über die Zusammensetzung des Benzoylniederschlages ausspricht, das Dextrin nur mit Wahrscheinlichkeit für identisch mit dem thierischen Gummi erklärt, bei dem Traubenzucker auch an einer Stelle in Parenthese «Maltose» hinzusetzt, legen sich die späteren Autoren, die auf diesen Gegenstand zu sprechen kommen, kaum noch irgend welche Zurückhaltung auf, sondern sprechen von der Zusammensetzung des Niederschlages wie von einer festgestellten Thatsache, ohne dass sie selbst irgendwie neues Beobachtungsmaterial beibringen. Dem gegenüber scheint es mir nothwendig, die Unsicherheit dieser Angaben in Erinnerung zu bringen.

So beruht es auf einem Irrthum, wenn Luther<sup>1)</sup> sagt: «Wedenski konnte aus dem Gemisch (sc. der Benzoylester) zwei Kohlehydrate gewinnen, das eine ist vorhin schon erwähnt — seinen Eigenschaften und der Analyse nach ist es identisch mit dem thierischen Gummi Landwehr's —, das zweite zeigte für Traubenzucker charakteristische Reactionen und seine Analyse lieferte dem Traubenzucker sehr nahestehende Werthe». Für diese Angaben findet sich in der Litteratur nicht der geringste Anhalt.

<sup>1)</sup> E. Luther, «Methoden der Untersuchung des Harns auf Zucker etc.», Berlin 1890, S. 33.

Ich habe Anfangs natürlich immer geglaubt, dass diese Angaben sich in einer von mir übersehenen Publication Wedenski's fänden, allein eine solche existirt nicht, die einzig vorhandene, oft citirte enthält durchaus nichts, was der Behauptung Luther's zur Unterlage dienen könnte. Luther hat augenscheinlich in Folge eines, allerdings schwer verständlichen, Irrthums die in der Abhandlung von Wedenski angeführten Analysen der Benzoylverbindungen von Dextrin («des Handels», wie Wedenski ausdrücklich hervorhebt) und des Traubenzuckers für Analysen der aus dem Harn erhaltenen Kohlehydrate gehalten!

Auch die Angabe von Roos<sup>1)</sup>: «Genauere Untersuchungen über die Art dieser Benzoylverbindungen stellte Wedenski an und fand, dass dieselben ein Gemenge von zwei Kohlehydraten darstellen, von denen das eine nach seiner Isolirung sich allen Reactionen gegenüber wie Traubenzucker verhält, das andere mit grösster Wahrscheinlichkeit mit dem thierischen Gummi Landwehr's identisch ist» entspricht dem Thatbestand durchaus nicht. Meiner Ansicht nach handelt es sich bei den Angaben Wedenski's über die Natur der Kohlehydrate nicht um «genauere Untersuchungen», sondern um das Resultat vorläufiger Versuche und von einer «Isolirung» des Traubenzuckers und «allen Reactionen» kann nicht ernstlich die Rede sein. Von «allen» Reactionen fehlen nur der Nachweis der Gährfähigkeit, der Rechtsdrehung und die Darstellung des Osazons, also alles bis auf die Reductionserscheinungen.

Ebenso wenig zutreffend ist die Angabe von Treupel<sup>2)</sup>, dass Wedenski gezeigt habe, «dass der Zuckergehalt des Harns nur zum Theil aus Traubenzucker, wahrscheinlich zum grösseren Theil aus einer dextrinartigen Substanz, welche mit dem thierischen Gummi identisch ist, besteht».

Von einer einigermassen befriedigenden Kenntniss des Benzoylniederschlages aus Harn sind wir also noch weit ent-

<sup>1)</sup> L. c., S. 48.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XV. S. 513.



fernt. Aus naheliegenden Gründen habe ich selbst mich nicht eingehender mit dem Benzoylniederschlag beschäftigt, eine eingehendere Untersuchung ist wohl noch aus dem Baumann'schen Laboratorium zu erwarten, dagegen habe ich es nicht vermeiden können, mich so weit mit dem Niederschlag zu beschäftigen, als es nöthig war, um Merkmale zur Identificirung zu gewinnen.

In dieser Beziehung habe ich Folgendes zu bemerken:

1. Die Farbe des Benzoylniederschlages ist etwas wechselnd, mitunter ist er fast rein weiss mit einem leichten Stich in's Gelbliche, meistens gelblich-weiss. Beim Reiben in der Reibschale wird er in hohem Grade electricisch, so dass er sich aus der Reibschale nur zum kleinsten Theil ausschütten lässt.

2. Bezüglich des Schmelzpunktes gibt Wedenski an: Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz beginnt bei 40° zu erweichen, schmilzt aber erst über 60°, die Substanz hat also, wie aus dieser Angabe hervorgeht, keinen scharfen Schmelzpunkt. Ich fand etwas höhere Temperaturen erforderlich. Der nicht weiter behandelte Niederschlag zeigte im Allgemeinen Erweichung bei 60°, Schmelzung bei 76 bis 78°. Der durch Essigsäure gereinigte Niederschlag (siehe weiter unten) Erweichung bei 60°, Schmelzung bei 69°, der durch Alkohol gereinigte Erweichung bei 55°, Schmelzung bei 65°. Die in der Platinschale einmal geschmolzene und dann glasig erstarrte Substanz schmolz bei 73°.

3. Der Niederschlag löst sich leicht und bis auf einen geringen Rückstand in heissem Alkohol, sowohl 90procentigem, wie absolutem. Die heiss filtrirte Lösung trübt sich beim Erkalten etwas und scheidet allmählig einen pulverigen Niederschlag in sehr geringer Menge ab, der bei 350facher Vergrösserung amorph erscheint und nach dem Abfiltriren und Auswaschen eine positive Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefelsäure gibt. Beim Eingiessen der von dem Niederschlag abfiltrirten alkoholischen Lösung in Wasser entsteht eine milchig trübe Flüssigkeit, ein Niederschlag scheidet sich nicht ab.

Dieses geschieht aber sofort in grossen Flocken, wenn man zu der milchigen Flüssigkeit einige Tropfen Salzsäure hinzusetzt. Der Niederschlag lässt sich gut abfiltriren und auswaschen, erscheint mikroskopisch völlig amorph und löst sich leicht in Alkohol beim Erwärmen. Diese Lösung bleibt beim Erkalten völlig klar (im Gegensatz zu der alkoholischen Lösung des ursprünglichen Niederschlages).

Die Ausscheidung der Verbindung aus der alkoholischen Lösung durch Wasser + Salzsäure ist so gut wie vollständig. Dies geht aus Folgendem hervor: 1. Das wässerige Filtrat ist wasserhell und farblos.  $\frac{1}{2}$  chem. desselben gibt mit  $\alpha$ -Naphtol + Schwefelsäure keine Reaction oder nur eine zweifelhafte Andeutung von Rothfärbung. 2. Eine dem Gewicht nach nicht bestimmte Quantität des Benzoylniederschlages wurde in Alkohol gelöst, die erkaltete alkoholische Lösung filtrirt und durch Wasser + Salzsäure gefällt, abfiltrirt, gewaschen etc. Nach vollständigem Trocknen betrug das Gewicht des Ausgefällten 1,594 g. Filtrat + Waschwasser wurde zur Trockne gedampft, das Gewicht des Rückstandes betrug 0,0264 gr., davon 0,0224 organisch, 0,0040 anorganisch (grösstentheils Calciumphosphat).

4. Aether lässt einen beträchtlichen Antheil des Niederschlages ungelöst, man kann denselben auf diesem Wege leicht in zwei Antheile zerlegen.

5. Der Niederschlag löst sich leicht in Eisessig und scheidet sich beim Eingiessen dieser Lösung in Wasser wieder aus, jedoch tritt mitunter nicht völlige Klärung ein. Der abfiltrirte und mit Wasser gewaschene Niederschlag verhält sich gegen Alkohol wie der ursprüngliche Niederschlag.

6. Wie bereits Treupel angegeben hat, gibt der Niederschlag eine vortreffliche Reaction mit Schwefelsäure +  $\alpha$ -Naphtol.

Andere direct anzustellende Reactionen, welche auf die Kohlehydrat-Natur des Niederschlages hindeuten, ausser dieser Reaction und der Schiff'schen Furfurolreaction, sind meines Wissens nicht bekannt. Ich habe daher einige Versuche hierüber angestellt.

a) Die alkoholische Lösung des Niederschlages gibt mit Fehling'scher Lösung für sich oder unter Zusatz von etwas Natron gekocht keine Reaction, während sich mit frisch dargestelltem Benzoyltraubenzucker Reaction erhalten lässt.

b) Vor einiger Zeit habe ich<sup>1)</sup> darauf hingewiesen, dass Mannit und Rohrzucker aus einer ammoniakalischen mit etwas Natronlauge versetzten Silberlösung beim Erhitzen metallisches Silber abscheiden. Dieses thut auch der Benzoylniederschlag, wenn man eine kleine Quantität desselben mit einer ammoniakalisch-alkalischen Silberlösung kocht; in der Regel scheidet sich ein Theil des Silbers als zusammenhängender Spiegel aus. Die ammoniakalische Ag-Lösung bewirkt keine Reduction, auch nicht bei starkem Kochen; man kann daher die Reaction in sehr beweisender Form auch so anstellen, dass man zu dem kochenden Gemisch von Niederschlag und ammoniakalischer Silberlösung etwas Natronlauge hinzufügt, es erfolgt dann sofort Reduction. Andeutungsweise erhält man die Reduction auch mit dem Waschwasser des Benzoylniederschlages zu einer Zeit, in der es keine Chloride mehr enthält, es muss also etwas davon in Lösung gehen oder, was wahrscheinlicher ist und auch von Wedenski mit Wahrscheinlichkeit angenommen wird, eine geringe Zersetzung beim Waschen stattfinden und Kohlehydrat in Lösung gehen. Mit der alkoholischen Lösung lässt sich diese Reaction nicht anstellen, da Alkohol mit ammoniakalisch-alkalischer Silberlösung für sich gleichfalls Silberreduction gibt, was nicht bekannt zu sein scheint.

c) Wenig charakteristisch ist das Verhalten des Benzoylniederschlages zu anderen gebräuchlichen Reagentien auf Zucker. Beim Erhitzen mit Kalihydrat und etwas Wasser tritt mässige Reaction ein unter Orangefärbung. Die erhaltene Lösung reducirt schwach Kupferoxyd, auf Zusatz von Schwefelsäure gibt sie schwachen Caramelgeruch und ausserdem Geruch nach Fettsäuren. Indigcarmin wird beim Kochen mit dem Niederschlag + Natriumcarbonat nur sehr schwach reducirt, ebenso fällt die Böttger'sche Wismuthprobe sehr schwach aus.

## 2. Die Feststellung des Kohlehydratgehaltes durch die Furfurolreaction.

Als zweite Methode zur Bestimmung der Kohlehydrate im Harn kommt die ursprünglich von Molisch zum Nachweis derselben angegebene Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefel-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. IV, S. 133.

säure in Betracht, welche von v. Udránszky, sowie durch verschiedene aus dem Baumann'schen Laboratorium hervorgegangene Arbeiten verbessert und für die quantitative Bestimmung verwerthet ist.

Die Einzelheiten sind bei den verschiedenen Autoren etwas wechselnd, in jedem Falle aber ist die Ermittlung der Menge des Kohlehydrates auf eine Grenzbestimmung basirt, d. h. auf Feststellung des Verdünnungsgrades der zu untersuchenden Flüssigkeit, bei welchem eben noch eine Reaction wahrnehmbar ist.

v. Udránszky<sup>1)</sup> benutzt eine 15procentige alkoholische  $\alpha$ -Naphthollösung. Zur Anstellung der Reaction gibt er zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zuerst zwei Tropfen der  $\alpha$ -Naphthollösung, dann unter Vermeidung der Vermischung  $\frac{1}{2}$  ccm. Schwefelsäure. So angestellt ist die Reaction nach ihm bei Anwendung eines Tropfens 0,05procentiger Traubenzuckerlösung «schon etwas undeutlich». «Nimmt man einen Tropfen einer 0,03procentigen Traubenzuckerlösung, so sind keine charakteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken.»

Luther<sup>2)</sup> zieht eine Lösung von  $\alpha$ -Naphthol in Chloroform vor. Bezüglich der Anstellung der Reaction weicht er nach gemeinschaftlich mit v. Udránszky angestellten Versuchen insofern ab, als er zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zuerst  $\frac{1}{2}$  ccm. Wasser hinzusetzt, dann  $\alpha$ -Naphthollösung (1 Tropfen), dann 1 ccm. Schwefelsäure und leise durchschüttelt. Die Erhitzung der Flüssigkeit ist wesentlich für die Ausbildung der Reaction. Ein Tropfen einer 0,02procentigen Traubenzuckerlösung gibt nach Luther die Reaction noch deutlich, eine 0,01procentige zeigt die charakteristischen Erscheinungen noch, aber erst nach längerem Stehen. Die Reaction hat also, wie Luther hervorhebt, gegen die v. Udránszky'sche an Feinheit gewonnen. Streng genommen hat sie nicht nur um das Doppelte oder etwas mehr gewonnen, sondern um das 20fache und mehr, da ja

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XV, S. 385.

<sup>2)</sup> Luther, Methoden etc., S. 9 ff.

durch den Zusatz von Wasser die Concentration der Traubenzuckerlösung auf ungefähr 0,002% resp. 0,001% herabgedrückt wird. Denn es ist bei farblosen Lösungen selbstverständlich gleichgiltig, ob man zu einem Tropfen der 0,02procentigen Lösung  $\frac{1}{2}$  ccm. Wasser hinzusetzt oder ob man von vorneherein  $\frac{1}{2}$  ccm. einer 0,002procentigen Lösung anwendet; auch eine solche muss die Reaction geben; für farblose Flüssigkeit hat es also keinen Zweck, sich an die Vorschrift zu binden und nur einen Tropfen zur Prüfung zu nehmen, man kann vielmehr direct zu  $\frac{1}{2}$  ccm. der zu prüfenden Flüssigkeit einen Tropfen  $\alpha$ -Naphthol hinzusetzen. Für den Harn liegt die Sache freilich anders, dieser muss unbedingt verdünnt werden, weil der Harn mit Schwefelsäuren allein störende Farbenercheinungen hervorruft.

Luther bemerkt ausserdem, dass die von v. Udránszky constatirte Grünfärbung des  $\alpha$ -Naphthols mit Schwefelsäure nicht dieser selbst angehört, sondern von einem Gehalt der Schwefelsäure an Salpetersäure oder salpetriger Säure abhängt. Eine geringe, bei Zusatz von  $\alpha$ -Naphthollösung zur Schwefelsäure eintretende Grünfärbung schadet nach ihm bei Anstellung der Reaction nicht, dagegen macht eine irgend erhebliche Grünfärbung, welche nicht beim Umschütteln fast momentan einer Gelbfärbung Platz macht, die Schwefelsäure unbrauchbar.

Posner und Epenstein<sup>1)</sup> haben sich nach dem Vorgange von Luther und v. Udránszky der  $\alpha$ -Naphtholreaction zum qualitativen Nachweis und zur annähernden quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen bedient. Gegen die Anwendung der Chloroformlösung des  $\alpha$ -Naphthols machen sie geltend, dass die grosse Flüchtigkeit des Chloroforms zu einer lästigen Ausscheidung von  $\alpha$ -Naphthol an der Ausflussöffnung des Tropfenzählers Veranlassung gibt. Ausserdem heben Posner und Epenstein hervor, dass die quantitative Bestimmung nur eine sehr approximative, wenn auch für die Praxis genügende, sei.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XV. S. 516.

Roos<sup>1)</sup> benutzte beide Naphtollösungen, sowohl die alkoholische wie die Chloroformlösung. Die Grenze der Reaction fand er ebenso wie Luther, bemerkt jedoch, dass Einübung auf die Reaction an Zuckerlösungen erforderlich sei und die Subjectivität des Beobachters in Betracht komme. Die meisten reinen Schwefelsäuren des Handels sind nach ihm nicht zu brauchen, weil sie mit der  $\alpha$ -Naphtollösung störende Grünfärbungen geben. Für die Beurtheilung über den Eintritt der Reaction hielt sich Roos allein an den Farbenring, nicht an die beim Umschütteln auftretende Färbung, weil er gefunden hatte, dass die ihm zu Gebote stehenden Reagentien nicht immer eine rein gelbliche Farbe gaben, wie Luther beobachtet hat, sondern mitunter auch ein röthlicher Schimmer auftrat, besonders nach einigem Stehen der Mischung.

Treupel<sup>2)</sup>, der gleichfalls im Baumann'schen Laboratorium arbeitete, weicht von Roos wiederum in einigen Punkten ab. Er verwirft zunächst das Chloroform als Lösungsmittel des  $\alpha$ -Naphtols und wendet statt dessen theils durch Kohle gereinigten Aethylalkohol, theils acetonfreien Methylalkohol an. Im Gegensatz zu Roos bevorzugt er die bei kräftigem Umschütteln resultirende Mischfarbe vor der Beobachtung des Farbenringes, er scheint also das Auftreten eines röthlichen Schimmers beim Mischen der Reagentien für sich nicht beobachtet zu haben. Die relativen Mengenverhältnisse von Zuckerlösung resp. Harn,  $\alpha$ -Naphtollösung und Schwefelsäure wählt Treupel wie Roos<sup>3)</sup>.

Ueber die Concentration der  $\alpha$ -Naphtollösung habe ich bei Treupel keine Angabe finden können, vermuthlich ist 10procentige gemeint.

Ueber den erforderlichen Grad der Reinheit der Schwefelsäure hat Treupel Folgendes ermittelt: Bei seinen Vorversuchen constatirte Treupel zunächst, dass die ihm zu Gebote

1) Berl. klin. Wochenschr., 1891, No. 8.

2) Diese Zeitschr., Bd. XVI, S. 51.

3) Nur an einer Stelle — S. 51 unten — spricht Treupel von 2 chem. Schwefelsäure statt 1 chem., vermuthlich ist dieses nur ein Druckfehler.

stehende Schwefelsäure keineswegs den Grad der Reinheit besass, welche Luther verlangt. Treupel fährt dann fort: «Da ich eine solche Schwefelsäure nirgend woher erhalten konnte<sup>1)</sup> und auf Selbstdestillation der mir zu Gebote stehenden Schwefelsäure verzichten musste, so suchte ich nach einer Methode, welche es mir ermöglichte, auch mit dieser Schwefelsäure die Reaction gut ausführen zu können. Ich stellte durch zahlreiche Versuche fest, dass man ohne Beeinträchtigung der Schärfe der Reaction eine bis zu einem gewissen, allerdings geringen Grade verunreinigte Schwefelsäure benutzen kann, sofern man sich bei der Beurtheilung nicht an den Farbenring, sondern an die Farbe des Reactionsgemisches hält»<sup>2)</sup>. Die Schwefelsäure kann nach ihm bis zu 0,00006% Salpetersäure enthalten, ohne dass bei Anwendung der Mischung die Empfindlichkeit der Reaction darunter leidet. Eine Angabe, auf welchem Wege diese Grenze festgestellt ist, findet sich nicht; auf directem Wege durch Zumischung von Salpetersäure zu Schwefelsäure kann diese Zahl nicht ermittelt sein, da es ja Treupel an der erforderlichen vollkommen salpetersäurefreien Schwefelsäure gebrach.

Als Grenze der Reaction nimmt Treupel bei Anwendung von 1 Tropfen Traubenzuckerlösung einen Gehalt der Traubenzuckerlösung von 0,01% an.

Ueberblickt man diese Detailangaben, die fast alle aus demselben Laboratorium stammen, so lässt sich nicht verkennen, dass sie manches Auffallende enthalten und in den Einzelheiten auch Widersprüche bestehen. Luther hat eine reine Schwefelsäure zur Verfügung, die sich beim Umschütteln mit  $\alpha$ -Naphthol und Wasser gelb färbt (höchstens nach ganz vorübergehender Grünfärbung); auch Roos steht eine solche reine Schwefelsäure zu Gebote, aber sie gibt beim Mischen mit den genannten Reagentien einen leicht röthlichen Schimmer,

<sup>1)</sup> Es ist nicht recht verständlich, dass Treupel dieses nicht gelang, während Roos, der einige Zeit vorher in demselben Laboratorium arbeitete, eine hinreichend reine Schwefelsäure zur Disposition hatte.

<sup>2)</sup> Welche Roos verwirft.

er verwirft daher die Schüttelprobe. Treupel wiederum hat keine reine Schwefelsäure zur Disposition, die seinige scheint aber beim Durchschütteln mit  $\alpha$ -Naphthol und Wasser keinen röthlichen Schimmer gegeben zu haben, sonst hätte er ja die Schüttelprobe nicht empfehlen können. Diese Differenzen sind gewiss nicht geeignet, ein günstiges Vorurtheil für die Methode zu erwecken.

Mit Hilfe dieses Verfahrens ermittelte Treupel, dass bei der Fäulniss des Harns eine sehr erhebliche Abnahme der Kohlehydrate stattfindet. Auf den ursprünglichen Gehalt berechnet betrug der nach der Fäulniss noch vorhandene Rest von Kohlehydraten:

Harn I	nach	44	Tagen	10—20	%
» II	»	47	»	50	%
» III	»	31	»	40	%
» IV	»	30	»	33	%

Ich habe mich nicht entschliessen können, diese Methode zu quantitativen Bestimmungen des Kohlehydratgehaltes anzuwenden. Es liegt auf der Hand, dass man mit derselben nur ziemlich grobe Annäherungen erreichen kann. Es ist sicherlich schon eine sehr günstige Voraussetzung, wenn man annimmt, dass ein geübter Beobachter im Stande ist, die Reaction, welche eine Lösung von 0,02% Traubenzucker gibt, von einer solchen zu unterscheiden, die man mit 0,022 oder 0,018% erhält. Dieses vorausgesetzt, würde der Fehler immer noch  $\pm 10\%$  betragen. Diese Annahme ist aber sehr günstig und ich muss offen gestehen, sie trifft für mich bei Weitem nicht zu, ja was noch schlimmer ist, es kommen bei diesen extremen Verdünnungen mitunter vollständige Fehlschläge vor. Wenn man eine Anzahl von Proben anstellt mit stark verdünnter Traubenzuckerlösung — 1 Tropfen von 0,02% — oder Harn gleich stark verdünnt, so ist die Intensität der Farbenentwicklung nach Zusatz der Reagentien durchaus nicht immer gleich, sondern wechselnd, ja es kommen mitunter sogar Fehlschläge vor. Das ist auch nicht besonders wunderbar, da sich das  $\alpha$ -Naphthol in fester Form ausscheidet, die sehr wechselnd ist und dementsprechend auch nicht gleich-



mässig in die Reaction eintritt. Was die Frage, ob «Ringprobe», ob «Schüttelprobe», betrifft, so muss ich sagen, dass ich es für unmöglich halte, die Intensität von Farbenringen genau abzuschätzen, in dieser Beziehung ist die Schüttelprobe entschieden vorzuziehen. Alles in Allem halte ich die Methode als quantitative für ziemlich unsicher und für den Beobachter recht quälend, wie alle analogen Methoden, ich will jedoch nicht bestreiten, dass sich bei besonderer Einübung auf die Methode eine annähernde Schätzung des Kohlehydratgehaltes mit derselben erreichen lässt. Ich habe mich dieser Reaction nur zur qualitativen Prüfung bedient. Hierzu benutzte ich als Lösungsmittel des  $\alpha$ -Naphthols theils Aethylalkohol, theils acetonfreien Methylalkohol (in 10procentiger Lösung) und schloss mich im Uebrigen den Angaben von Treupel und Roos genau an. Was die Schwefelsäure betrifft, so fand ich die frisch aus der Fabrik bezogene Schwefelsäure fast stets den Anforderungen Luther's vollkommen genügend — sie zeigte auch nicht die leiseste Grünfärbung mit  $\alpha$ -Naphthollösung —, dagegen genügte sie allerdings nicht mehr, wenn sie einige Zeit ohne besondere Cautelen im Laboratorium aufbewahrt gewesen war. Wie Roos habe ich auch beobachtet, dass mitunter beim Schütteln der Schwefelsäure mit  $\alpha$ -Naphthol und Wasser ein leichter röthlicher Schimmer entstand. Man kann sich übrigens auch ohne Destillation eine absolut salpetersäurefreie Schwefelsäure verschaffen, wenn man, wie ich in meiner Arbeit über das sogenannte Choleraroth<sup>1)</sup> angeführt habe, die Schwefelsäure — etwa 100 ccm. — mit einigen Körnchen Traubenzucker versetzt und dann längere Zeit — es sind etwa 10—15 Stunden erforderlich — im Kjeldahl'schen Kolben erhitzt. Die Anfangs tiefschwarze Schwefelsäure wird dann braun und endlich gelb, eine völlige Entfärbung der Schwefelsäure scheint allerdings nicht erreicht werden zu können, sie bleibt stets etwas gelblich, doch beeinträchtigt diese Färbung die Reaction nicht. — Als Grenze fand ich 0,02% Traubenzucker; darunter gelang mir die Wahrnehmung einer deutlichen Färbung weder bei der «Ringprobe», noch bei der «Schüttelprobe».

<sup>1)</sup> Virchow's Arch., Bd. 110, S. 369.

## II. Die Bestimmung der Huminsubstanz.

Um die Huminsubstanz aus Harn zu erhalten, wurde, im Wesentlichen v. Udránszky folgend, regelmässig folgendermassen verfahren:

1 Liter Harn wird mit 100 ccm. Salzsäure — 1,12 sp. G. — gemischt 48 Stunden lang zur Abscheidung des grössten Theiles der Harnsäure bei etwas kühler Zimmertemperatur stehen gelassen, filtrirt und nachgewaschen. Filtrat + Waschwasser werden bis auf etwa 400 ccm. eingedampft, dann in einen Kolben übertragen und in diesem am Rückflusskühler 16—18 Stunden gekocht; der Inhalt des Kolbens dann in ein Becherglas gespült, mit Wasser nachgewaschen, so dass das Volumen etwa 800 ccm. betrug, mehrere Tage stehen gelassen, dann durch ein kleines gewogenes Filter filtrirt, Anfangs mit kaltem, dann mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction gewaschen, dann einige Male mit Alkohol absolut., schliesslich mehrmals mit Aether gewaschen, getrocknet, gewogen. Nach der Wägung wurde die Huminsubstanz durch anhaltendes Aufgiessen von verdünntem warmem Ammoniak in Lösung gebracht, schliesslich wieder mit Wasser gewaschen und gewogen. In der Regel stimmte das Gewicht des Filters, wenn es auch etwas bräunlich gefärbt war, mit dem Anfangsgewicht überein, mitunter aber war es etwas höher, weil auf dem Filter ein geringer in Ammoniak unlöslicher Rückstand blieb; in jedem Falle wurde das Endgewicht des Filters als massgebend angesehen. — Die Verdünnung und das Stehenlassen wendete ich an, weil ich beobachtet hatte, dass bei directer Filtration des erkalteten Kolbeninhaltes das Filtrat, mit dem Waschwasser vermischt, nach mehrtägigem Stehen noch einen nicht ganz unerheblichen Absatz von Huminsubstanz lieferte. Dies trat bei dem angegebenen Verfahren nicht mehr ein oder nur in verschwindend geringem Grade.

Abweichend von v. Udránszky habe ich also die Niederschläge von Huminsubstanz direct gewogen, während v. Udránszky die Anfangs erhaltenen abfiltrirten und ausgewaschenen Niederschläge in Alkali löst, durch Salzsäure

ausfällt und die Quantität des nunmehr erhaltenen Niederschlages ermittelt. So ist auch Taniguti in den früher publicirten Versuchen zu Werke gegangen. Es ist schon in der Abhandlung desselben hervorgehoben worden, dass diese Niederschläge sehr voluminös sind, also sehr grosse Filter beanspruchen, was die Genauigkeit der Bestimmung in jedem Falle sehr beeinträchtigt, und dass sie sich sehr schwer auswaschen. Dagegen haben die ersten Niederschläge eine sehr dichte Beschaffenheit, waschen sich leicht aus und erfordern nur sehr kleine Filter.

a) Bestimmung aus normalem Harn.

Nach dem angegebenen Verfahren wurde 1 Liter desselben Harns, welcher zu der Bestimmung der Quantität des Benzoylniederschlages gedient hatte, untersucht und zwar von den Harnproben No. 11, 12 und 13.

1 Liter Harn XI lieferte 0,3970 Huminsubstanz.

1 » » XII » 0,3945 »

1 » » XIII » 0,4183 »

Daraus berechnet sich das Verhältniss der Huminsubstanz zu der Quantität des Benzoylniederschlages:

bei No. XI = 1 : 4,16,

» » XII = 1 : 3,83,

» » XIII = 1 : 4,66.

Im Mittel dieser drei Bestimmungen beträgt das Verhältniss von Huminsubstanz : Benzoylniederschlag 1 : 4,3.

Ich schliesse hieran noch einen Versuch, welcher zu dem Zweck angestellt wurde, um zu sehen, ob die Wahl der Mineralsäure — Salzsäure oder Schwefelsäure — einen Einfluss auf die Quantität der Huminsubstanz ausübt.

Von einer Harnquantität lieferte 1 Liter mit Salzsäure behandelt 0,4523 g. Huminsubstanz. 1 Liter desselben Harns mit 20 ccm. concentrirter Schwefelsäure versetzt, 2 Tage stehen gelassen, dann abfiltrirt, auf ca. 400 ccm. eingedampft, 16—18 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferte 0,435 g. Die Differenz ist, wie man sieht, gering.

Nimmt man das Mittel aus sämtlichen Bestimmungen der Quantität des Benzoylniederschlages und der vier Humin-

bestimmungen, so ergibt sich für 1 Liter Harn: Huminsubstanz 0,4134 g., Benzoylniederschlag 2,042 g. Verhältniss von Huminsubstanz : Benzoylniederschlag = 1 : 4,94.

Die oben berechnete Verhältnisszahl dürfte indessen den Vorzug verdienen, da bei dieser die Kohlehydratbestimmungen und Huminbestimmungen an demselben Harn ausgeführt sind.

b) Harn, welcher 3 Monate lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

Der filtrirte Harn ist fast ganz klar, leicht getrübt, durch wiederholtes Filtriren nicht völlig zu klären, von brauner Farbe, 1028 sp. G., enthält keine durch das Silberverfahren nachweisbare Harnsäure. — 1 Tropfen des Harns gibt deutliche Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefelsäure, dagegen nicht mehr, als der Harn vorher mit dem gleichen Volum Wasser versetzt war.

1. Bestimmung der flüchtigen Fettsäure. 300 ccm. mit 10 ccm. concentrirter Schwefelsäure destillirt. Destillat auf 300 ccm. gebracht. Salzsäuregehalt desselben minimal. 100 ccm. mit Rosolsäure als Indicator mit Barytwasser titirt, von welchem 13,35 ccm. 10 ccm. der bei den N-Bestimmungen angewendeten Oxalsäurelösungen entsprechen. Zur Neutralisation erfordert  $25,9 \text{ ccm.} \times 3 = 77,7 \text{ ccm.} = 58,2 \text{ ccm.}$  Einviertellauge. Dieses entspricht einem Gehalt an Essigsäure von 2,91 p. M.

2. Bestimmung der Menge des Benzoylniederschlages. Die directe Benzoylirung des Harns (600 Harn, 20 ccm. Natronlauge + 40 Wasser = 660; es entstand kein Niederschlag; 800 Wasser zugesetzt, 240 ccm. Natronlauge von 11%, 30 ccm. Benzoylchlorid) führte, wie nach den Angaben von Roos über den ammoniakreichen Hundeharn nicht anders zu erwarten stand, trotz der Verdünnung zu keinem positiven Resultat. Es entstand ein reichlicher, krystallinischer, grösstentheils aus Benzamid bestehender Niederschlag.

Es wurden daher 600 ccm. auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen eingedampft bis zur neutralen Reaction, von einer kleinen Quantität eines ausgeschiedenen flockigen

Niederschlag abfiltrirt, nachgewaschen bis zum Volumen von 600 ccm. Zusatz von Natronlauge bewirkt keine Ausscheidung von Phosphaten. Nunmehr noch 500 ccm. Wasser, 240 Natronlauge, 30 Benzoylchlorid hinzugefügt. Erhalten 0,3642 g. Benzoylniederschlag = 0,607 g. für 1 Liter.

Weiterhin wurden 500 ccm. ebenso behandelt, jedoch nur 250 Wasser hinzugesetzt. Erhalten 0,2975 gr. Benzoylniederschlag, also für 1 Liter 0,595. Mittel aus beiden Bestimmungen 0,601 g. für 1 Liter.

Die Eigenschaften des Benzoylniederschlages stimmten, abgesehen davon, dass der Niederschlag etwas bräunlich gefärbt war, im Wesentlichen mit denen des aus normalem Harn erhaltenen Niederschlages überein. Jedenfalls gab er starke Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefelsäure (nach der Angabe Treupel's der Niederschlag direct in Schwefelsäure gelöst). Die Löslichkeit in Alkohol schien geringer zu sein.

3. Zur Bestimmung der Huminsubstanz wurde je 1 Liter Harn direct mit 100 ccm. Salzsäure eingedampft, dann wie gewöhnlich verfahren. Das Stehenlassen des Harns mit Salzsäure war entbehrlich, da der Harn keine Harnsäure enthielt. Zwei Bestimmungen ergaben 0,3544 und 0,3136, im Mittel also 0,334 Huminsubstanz.

Verhältniss von Huminsubstanz zu Benzoylniederschlag = 1 : 1,8.

Die Quantität der Huminsubstanz hat absolut also nur wenig abgenommen, im Verhältniss zu den Kohlehydraten hat sie bedeutend zugenommen, da diese auf weniger als ein Drittheil vermindert sind.

c) Harn, welcher  $1\frac{1}{2}$  Jahre bei Zimmertemperatur gestanden hat.

Die Bearbeitung dieses Harns fiel zeitlich vor die des 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Jahr alten und es ist ein für die Gewinnung der Huminsubstanz nicht zweckmässiges Verfahren eingeschlagen worden; es wurde nämlich von vorneherein das ganze zu Gebote stehende Harnquantum von 4,5 Litern auf dem Wasserbad stark ein-

gedampft, auf 1500 cbcm. aufgefüllt — die Reaction war dabei schwach alkalisch —, dann filtrirt. Es gelang nur, 1240 cbcm. Filtrat zu erhalten und auch dieses nur nach wiederholtem Filterwechsel. Das Filtrat wurde entsprechend der ursprünglichen Concentration des Harns auf 3720 cbcm. aufgefüllt. Der Harn enthielt keine durch das Silberverfahren nachweisbare Harnsäure, die Reaction mit  $\alpha$ -Naphtol + Schwefelsäure fiel negativ aus.

1. Benzoylverbindung. a) 1500 cbcm. Harn wurden mit 1200 cbcm. Natronlauge und 150 cbcm. Benzoylchlorid anhaltend geschüttelt. Es entstand eine äusserst spärliche Ausscheidung, welche nach dem Filtriren durch ein gewöhnliches Filter und Auswaschen so fest am Papier haftete, dass sie sich nicht ablösen liess. Da eine Probe an einer kleinen Quantität ergab, dass der Niederschlag auch in heissem Alkohol sich nur sehr unvollständig löste, wurde das Filter nach dem Trocknen zerschnitten, mit Eisessig erhitzt, filtrirt, durch Eingiessen in Wasser gefällt etc. Erhalten 0,2156 g. = 0,1437 p. M.

b) 300 cbcm. Harn mit 120 cbcm. Natronlauge und 15 cbcm. Benzoylchlorid; der Niederschlag, auf einem gehärteten Filter gesammelt, liess sich nach einigem Trocknen gut vom Filter abnehmen. Gewicht nach dem Trocknen 0,0570 g. Der Niederschlag war aschehaltig und hinterliess 0,0045 Asche. Diese abgezogen ergaben sich 0,0525 g. = 0,175 p. M.

c) 400 cbcm. mit 10 cbcm. Natronlauge und 30 cbcm. Wasser = 440 cbcm. Es schied sich ein geringer Niederschlag aus, von welchem abfiltrirt wurde. Vom Filtrat 330 cbcm. = 300 Harn. Dazu 120 cbcm. Natronlauge + 15 cbcm. Benzoylchlorid. Erhalten 0,0462 g. Niederschlag = 0,154 p. M.

Im Mittel der drei Bestimmungen wurden also aus 1000 cbcm. Harn 0,1542 Benzoylniederschlag erhalten.

Was das Verhalten des Benzoylniederschlages betrifft, so habe ich Folgendes zu bemerken:

Der Niederschlag war nicht weiss, sondern von lichtbräunlicher Färbung, löste sich leicht und vollständig in Eisessig, in Alkohol dagegen auch bei anhaltendem Kochen nur

sehr unvollständig; die heiss filtrirte Lösung trübte sich beim Erkalten. Sowohl der ursprüngliche Niederschlag, als auch der in Alkohol unlösliche Antheil desselben gaben sehr schöne Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol + Schwefelsäure. Die nach dem Erkalten filtrirte alkoholische Lösung trübte sich beim Erkalten milchig, dann flockig, Abscheidung trat jedoch auch nach Zusatz von Salzsäure nicht ein.

Es ist also sicher, dass auch bei  $1\frac{1}{2}$  Jahre langem Stehen des Harns ein Theil der Kohlehydrate der Zersetzung entgeht, die Kohlehydrate selbst aber scheinen eine Veränderung zu erfahren, da sie, resp. ihre Benzoylverbindungen, sich anders verhalten, wie die des ursprünglichen Harns. Möglicherweise bilden sich auch Kohlehydrate durch die Bakterien. Dies würde das abweichende Verhalten der Benzoylverbindung erklären.

2. Huminsubstanz. Die von vorneherein eingeschlagene Behandlung des Harns — das Eindampfen — war leider für die Gewinnung von Huminsubstanz aus dem Harn unzweckmässig. Die Quantität der Huminsubstanz musste in Folge dessen zu niedrig ausfallen. Wie bereits für den  $\frac{1}{4}$  Jahr alten Harn, dessen Untersuchung zeitlich nach der Untersuchung des  $1\frac{1}{2}$  Jahre alten fällt, bemerkt ist, scheiden sich beim Eindampfen gefaulten Harns flockige Niederschläge aus. Dieselben sind in Alkalien löslich, in Säuren unlöslich; anfangs sind sie nicht so dunkel gefärbt, wie die Huminsubstanz; abfiltrirt und mit verdünnter Salzsäure gekocht, nehmen sie aber allmähig mehr und mehr die Charaktere der Huminsubstanz an. Wenn man also den gefaulten Harn stark eindampft und filtrirt, so fällt die Bestimmung zu niedrig aus. Dieser Punkt ist leider bei dem  $1\frac{1}{2}$  Jahre alten Harn übersehen worden. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

1. 1000 cbcm. Harn wie gewöhnlich behandelt lieferten 0,189 Huminsubstanz.

2. 300 cbcm. mit 5 cbcm. concentrirter Schwefelsäure eingedampft und unter zeitweiligem Ersatz des Verdampften mehrere Stunden gekocht, lieferten 0,0603 Huminsubstanz.

Im Mittel wurden also 0,195 g. Huminsubstanz p. M. erhalten.

Verhältniss der Huminsubstanz zu dem Benzoylniederschlag = 1 : 0,79.

Es hat also, wie man sieht, eine weitere Verschiebung des Verhältnisses zwischen den Kohlehydraten und der Huminsubstanz stattgefunden, so dass jetzt die Quantität der Huminsubstanz grösser geworden ist, wie die des Benzoylniederschlages, trotzdem bei der angewendeten Methode die Quantität der Huminsubstanz zu gering gefunden werden musste.

Stellen wir die Verhältnisszahlen noch einmal zusammen, so verhält sich im normalen Harn die Quantität der Huminsubstanz zum Benzoylniederschlag wie 1 : 4,3 (resp. 4,94), in dem  $\frac{1}{4}$  Jahr alten wie 1 : 1,8, in dem  $1\frac{1}{2}$  Jahre alten wie 1 : 0,79.

Hieraus folgt ohne Zweifel, dass die Kohlehydrate des gefaulten Harns nicht die einzige Quelle der aus demselben gebildeten Huminsubstanz sein können, ein grosser Theil derselben vielmehr aus anderen Körpern hervorgehen muss. Man kann gegen diesen Schluss noch einen Einwand erheben. Die verschiedenen Autoren haben hervorgehoben, dass bei der Behandlung des Harns mit Natronlauge + Benzoylchlorid die Kohlehydrate nicht völlig ausgefällt werden, ein kleiner Rest vielmehr darin bleibe. Es ist zwar nicht sicher, aber möglich, dass dieser nicht gefällte Antheil stets dieselbe absolute Grösse hat. Ist dem so, so muss die Bestimmung der Kohlehydrate auf diesem Wege ein um so grösseres Deficit ergeben, je kleiner der Gehalt der Flüssigkeit an Kohlehydraten ist. Es lässt sich nicht in Abrede stellen, dass dieser Einwand begründet ist, sicher aber reicht diese Betrachtungsweise nicht aus, um die grossen Differenzen in dem Verhältniss zwischen Huminsubstanz und Benzoylniederschlag zu erklären.

Welche Körper in dem gefaulten Harn die Muttersubstanz der Huminkörper darstellen, bleibt zunächst eine offene Frage, es liegt jedoch sehr nahe, in dieser Beziehung an die Harnsäure zu denken, welche während der Fäulniss völlig verschwindet.

Dass die Kohlehydrate des Harns eine wesentliche Quelle der beim Kochen mit Salzsäure entstehenden Huminsubstanzen



darstellen, ist aus dem Grunde nicht zu bezweifeln, weil erfahrungsgemäss die Kohlehydrate beim Kochen mit verdünnter Salzsäure unter Bildung von Humin zersetzt werden. Es lässt sich auch leicht zeigen, dass der mit Salzsäure gekochte Harn, von dem Humin abfiltrirt, keine Kohlehydrate mehr enthält. Dieser Nachweis ist allerdings durch die Reaction mit  $\text{NaHO} + \text{Benzoylchlorid}$  nicht zu führen wegen der beim Zusatz dieser Reagentien zu dem genannten Filtrat eintretenden massenhaften Bildung von Benzamid (der Harnstoff geht beim Kochen mit Salzsäure zum grossen Theil in Chlorammonium über), welches die etwaige kleine Quantität von Benzoylester der Kohlehydrate ganz verdeckt und der Wahrnehmung entzieht. Auch die Verdünnung dieser Filtrate nützt in diesem Fall nicht. Dagegen ist die Probe mit  $\alpha$ -Naphtol + Schwefelsäure beweisend. Sie fällt negativ aus, während Harn mit 10% Salzsäure (von 1,12 sp. G.) versetzt, die  $\alpha$ -Naphtolreaction gibt. Ich will nicht behaupten, dass die Salzsäure die Reaction nicht beeinträchtigt, immerhin fällt sie positiv aus.

Wenn also die eigentliche Beweisführung von Udránszky bezüglich der Betheiligung der Kohlehydrate an der Huminbildung auch nicht glücken konnte, da er dabei die reducirenden Kohlehydrate allein im Auge hatte, so ist doch an der Richtigkeit seiner Anschauung, die sich ausserdem auch auf die notorische Einwirkung der Salzsäure auf die Kohlehydrate stützt, nicht zu zweifeln. Fraglich bleibt dagegen, ob die Kohlehydrate die einzige Quelle sind. Es liegt nahe, auch für die Beantwortung dieser Frage die Fällbarkeit der Kohlehydrate durch Benzoylchlorid + Natronlauge zu benutzen, also einen Harn zuerst damit auszufällen, dann aus dem Filtrat durch Kochen mit Salzsäure Humin darzustellen. Bei der Ausführung dieses Versuches machen allerdings die grossen Quantitäten von Benzoësäure Schwierigkeiten, so dass derselbe in aller Schärfe kaum durchzuführen ist. Dennoch habe ich einige derartige Bestimmungen ausgeführt. Das Verfahren war folgendes: Das Filtrat von dem Benzoylniederschlag (ohne Washwasser) von 1 Liter Harn, welches sich übrigens beim Aufbewahren ohne Zersetzung hielt, wurde zur Entfernung

der Benzoësäure mit so viel Salzsäure versetzt, dass eine abfiltrirte Probe sich mit Methylviolett grün färbte, die ausgeschiedene Benzoësäure abfiltrirt, wiederholt mit kaltem Wasser nachgewaschen, Filtrat + Waschwasser unter Zusatz von 90 cbcm. Salzsäure (von 1,12 sp. G.) eingedampft, der Schaleninhalt sammt der etwa ausgeschiedenen Benzoësäure in einen Rundkolben übertragen, 16—18 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann wie gewöhnlich mit Wasser verdünnt und einige Tage stehen gelassen. Die Flüssigkeit enthält meistens noch so viel ausgeschiedene Benzoësäure, dass es nicht wohl angeht, dieselbe sammt der ausgeschiedenen Huminsubstanz auf einem gewogenen Filter zu sammeln. Die Benzoësäure wurde daher durch Ausschütteln mit Aether entfernt und die wässrige, die Huminsubstanz suspendirt enthaltende Flüssigkeit durch ein gewogenes Filter filtrirt, die erhaltene Huminsubstanz schliesslich wiederholt mit Alkohol und Aether gewaschen, um alle etwa noch vorhandene Benzoësäure mit Sicherheit zu entfernen.

So wurden zunächst die Filtrate von 11, 12 und 13 (siehe die Tabelle über die Quantität des Benzoylniederschlages) bearbeitet.

Es wurde Huminsubstanz erhalten (aus 1 Liter Harn):

aus XI . . . . .	0,1853 g.
» XII . . . . .	0,2674 »
» XIII . . . . .	0,2580 »

Ebenso lieferte auch das Filtrat vom Benzoylniederschlag des  $\frac{1}{4}$  Jahr alten Harns beim Kochen mit Salzsäure Huminsubstanz und zwar lieferten 500 cbcm. Harn 0,0722 g. = 0,1444 p. M.

Auch gegen diesen Versuch könnte man den Einwand erheben, dass die Kohlehydrate nicht vollständig durch Benzoylchlorid + Natronlauge gefällt werden. Allein für einen solchen «Rest» ist die Quantität der erhaltenen Huminsubstanz doch offenbar zu gross.

Die weitere Frage, welche Bestandtheile des Harns denn nun ausser den Kohlehydraten noch Huminsubstanzen liefern können, ist freilich bisher nicht mit Bestimmtheit zu be-

antworten. Von den bekannten in grösseren Quantitäten vorhandenen Bestandtheilen scheint kaum eine in Frage zu kommen.

Der Harnstoff findet sich zum Theil in dem salzsauren Filtrat noch erhalten, zum Theil ist er in Chlorammonium übergegangen. Dass er zur Bildung der N-haltigen Huminsubstanz N liefert, hat v. Udránszky nachgewiesen. Dass er ausserdem noch Huminsubstanz liefert, ist sehr unwahrscheinlich. Kreatinin ist in dem salzsauren Filtrat nachweisbar und zwar anscheinend nicht weniger, wie in dem ursprünglichen Harn. Harnsäure findet sich gleichfalls noch, soweit sie nicht durch die Salzsäure vorher entfernt war.

In Betracht kämen noch die Indoxylverbindungen des Harns und die etwaige präformirte Huminsubstanz.

An die Möglichkeit der Betheiligung der Indoxylverbindungen hat v. Udránszky schon gedacht; er schätzt sie jedoch auf Grund eines Doppelversuches, in welchem ein Harn einerseits direct mit Salzsäure behandelt wurde, andererseits nachdem die Indoxylverbindungen vorher daraus entfernt waren, als wenig in Betracht kommend. Streng genommen ist es auch gar nicht erwiesen, dass sie überhaupt in Betracht kommen, dass sie unter allen Umständen zu der Bildung der Huminsubstanzen beitragen. Dieses lässt sich indessen leicht zeigen.

Wenn man den mit 10% Salzsäure versetzten Harn (nach Abscheidung der Harnsäure) eindampft und das Eindampfen unterbricht, sobald sich eine gewisse Quantität Niederschlag gebildet hat, so erweist sich dieser Niederschlag nach dem Abfiltriren und Auswaschen zu einem mehr oder weniger erheblichen Theil in heissem Alkohol mit rother Farbe löslich, diese Eigenschaft, die den Huminsubstanzen nicht zukommt, verliert der isolirte Niederschlag mehr und mehr, je länger er mit Salzsäure erhitzt wird. Er nimmt nach und nach den Charakter der Huminsubstanz an. Dass diese erste Ausscheidung zum grossen Theil aus Indigoroth und Indigoblau besteht, lässt sich leicht zeigen. Die alkoholische Lösung dieser Ausscheidung wurde verdampft, der Rückstand mit

Aether übergossen, die roth gefärbte ätherische Lösung wiederholt mit ganz verdünnter Natronlauge (die sich gelblich bis bräunlich färbte), dann mit Wasser geschüttelt, dann verdunstet. Aus dem dabei bleibenden Rückstand nahm Alkohol jetzt Indigoroth auf, liess jedoch das Indigoblau ungelöst. Durch Behandeln mit Chloroform, welches eine prächtig blaue Lösung liefert, sowie durch die spectroscopische Untersuchung liess sich das Indigoblau, ebenso wie das Indigoroth, leicht als solches constatiren. Aus dem mit Aether behandelten nicht gelösten Verdampfungsrückstand der ersten alkoholischen Lösung nahm Chloroform noch erhebliche Mengen von rothem Farbstoff — augenscheinlich Indigoroth — auf.

Es kann also nicht zweifelhaft sein, dass die Indoxylverbindungen sich an der Bildung der Huminsubstanzen betheiligen, jedoch ist der Antheil derselben entsprechend der geringen Menge, in welcher sie im Harn vorkamen, wahrscheinlich nur gering.

Was das Vorkommen präformirter Huminsubstanz im Harn betrifft, oder solcher Substanzen, welche den Huminsubstanzen sehr nahe stehen, so ist dies nicht sicher constatirt, aber doch sehr wahrscheinlich. v. Udránszky ist der Ansicht, dass in manchen Fällen die Farbe des Harns davon abhängig sein könne, namentlich in solchen, in denen sich kein Urobilin findet. Auch die Substanzen, welche Eisenchlorid unter bestimmten Bedingungen aus Harn ausfällt, haben augenscheinlich zu den Huminsubstanzen sehr nahe Beziehung. Ich habe auf diesen Zusammenhang schon einmal in dieser Zeitschrift, Bd. XIV, S. 489, hingewiesen.

Eine bestimmte Entscheidung darüber, welche Harnbestandtheile ausser den Kohlehydraten noch zur Bildung von Huminsubstanzen beitragen können, ist zur Zeit nicht zu geben.

Schliesslich könnte man mir wohl noch die Frage vorlegen, wie ich mich zu den früheren Angaben von Taniguti<sup>1)</sup> verhalte, welcher aus gefäultem Harn durchschnittlich mehr

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 485.

Huminsubstanz erhalten hat, wie aus frischem, während doch durch die Fäulniss ein Theil der Muttersubstanzen der Huminsubstanz entfernt wird.

Hierauf ist zunächst zu sagen, dass die Kohlehydrate sich offenbar, wie übereinstimmend aus den Beobachtungen von Treupel und den meinigen hervorgeht, recht langsam zersetzen, so dass es ganz auf den Zeitpunkt ankommt, in welchem man die Untersuchung anstellt. Untersucht man den Harn, der etwa eine Woche gefault hat, so bekommt man aus demselben beim Destilliren mit Säuren noch nicht ein Viertel so viel flüchtige fette Säure, wie derselbe Harn nach 3 Monate langem Stehen liefert. In den damaligen Versuchen von Taniguti ist meiner Erinnerung nach auf das Alter des Harns nicht besonders Rücksicht genommen worden, es ist also wohl möglich, dass derselbe, trotzdem er faulig war, doch noch eine erhebliche Quantität Kohlehydrate enthalten hat. Damit ist nun aber noch immer nicht erklärt, dass der faule Harn mehr Huminsubstanz lieferte, wie der frische. Hieran ist meines Erachtens die angewendete Methode Schuld. In den Versuchen von Taniguti wurde der ammoniakalische Harn eingedampft, dann mit Schwefelsäure angesäuert; es entstand schon in der Kälte eine ziemlich reichliche Ausscheidung, welche für sich abfiltrirt und den Huminsubstanzen zugerechnet wurde. Es ist nun sehr wohl denkbar, dass die Quantität dieses ersten Niederschlages abnimmt, wenn man ihn in der für die Gewinnung der Huminsubstanz üblichen Weise mit Salzsäure kocht. Ferner kommt vielleicht in Betracht, dass aus dem ammoniakalischen Harn die Harnsäure nicht vorher entfernt war. Die Resultate, zu denen Taniguti in seiner früheren Arbeit gelangt ist, stehen also mit meinen jetzigen nicht im Widerspruch, wenn auch eine weitere Aufklärung über die Natur und Beschaffenheit der beim einfachen Ansäuern eingedampften ammoniakalischen Harns sich ausscheidenden Substanzen wünschenswerth ist.

---