

# Ueber die Bestimmung der Oxalsäure und das Vorkommen von Oxalursäure im Harn.

Von

**E. Salkowski.**

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

(Der Redaction zugegangen am 31. Mai 1900.)

Wer sich einmal mit Versuchen zur Bestimmung der Oxalsäure im Harn beschäftigt hat, wird mir darin beistimmen, dass die bis jetzt bekannten Methoden recht unbefriedigend sind. Die am meisten angewendete, die Neubauer'sche, ist nicht allein äusserst unerquicklich in der Ausführung, sondern auch, wie ich im Folgenden zeigen werde, durchaus unzureichend. Ausserdem wird sie in verschiedenen Handbüchern verschieden beschrieben.

Neubauer selbst hat sie in der 6. Auflage seiner Harnanalyse im Jahre 1872 folgendermassen beschrieben (Seite 115, 116 und 216):

« Mit absoluter Sicherheit gelingt der Nachweis aufgelösten oxalsauren Kalks in folgender Weise: den zu prüfenden Urin (400—600 ccm.) versetzt man mit Chlorcalciumlösung, übersättigt mit Ammon und löst den entstandenen Niederschlag in Essigsäure, wobei man einen Ueberschuss möglichst vermeidet. Nach 24 Stunden bringt man den entstandenen Niederschlag, in welchem Harnsäure selten fehlen wird, auf ein kleines Filter, wäscht mit Wasser und übergiesst ihn darauf mit einigen Tropfen Salzsäure. Etwa vorhandenes Kalkoxalat löst sich auf, die Harnsäure bleibt auf dem Filter zurück. Das Filtrat verdünnt man in einer Proberöhre mit 15 ccm. Wasser und überschichtet es mittelst einer Pipette höchst vorsichtig mit sehr verdünntem Ammon in genügender Menge. In der Ruhe mischen sich die Flüssigkeiten

allmählich, nach 24 Stunden wird sich alles vorhandene Kalkoxalat am Boden angesammelt haben und unter dem Mikroskop die schönsten Quadratoctaëder in Masse zeigen.

Seite 216 heisst es dann:

Zur quantitativen Bestimmung kann man dieselbe Methode befolgen. Nach 24stündigem Stehen bringt man den ausgeschiedenen oxalsauren Kalk auf ein kleines Filter von bekanntem Aschengehalt, wäscht aus, trocknet und führt durch starkes Glühen den oxalsauren Kalk in Aetzkalk über. Die gefundene Menge Aetzkalk gibt multiplicirt mit 1,607 die entsprechende Menge Oxalsäure.

Diese Angaben haben offenbar bei Hoppe-Seyler Bedenken erregt. Er schreibt unter Bezugnahme auf die citirte Stelle bei Neubauer in seinem Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, 4. Auflage (1875), Seite 328:

Zum Nachweis oder zugleich Bestimmung der Oxalsäure im Harn versetzt man nach der Methode von Neubauer 400 bis 600 ccm. mit etwas Chlorcalcium, dann mit überschüssigem Ammon, filtrirt,<sup>1)</sup> behandelt den Niederschlag mit Essigsäure unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses, filtrirt nach 24stündigem Stehen ab, wäscht mit Wasser, übergiesst ihn mit Salzsäure u. s. w. Das weitere Verfahren ist dann mit Fortlassung einiger Einzelheiten wie bei Neubauer beschrieben.

Der Unterschied in den Angaben ist also der, dass Hoppe-Seyler den durch Chlorcalcium und Ammoniak erzeugten Niederschlag abfiltriren und dann für sich weiter bearbeiten lässt, in der Annahme, dass dieser Niederschlag die Oxalsäure enthalte, während nach dem Wortlaut bei Neubauer der durch die genannten Reagentien erzeugte Niederschlag ohne Trennung vom Harn wieder gelöst werden soll. Hoppe-Seyler hat offenbar gegen den ursprünglichen Wortlaut Bedenken gehabt und angenommen, dass Neubauer nur versäumt habe, das Filtriren zu erwähnen.

---

<sup>1)</sup> Im Original nicht gesperrt.

In der That ist auch der Sinn des Neubauer'schen Verfahrens schwer abzusehen. Bearbeitet man den Harn nach seiner Vorschrift, so unterscheidet er sich von dem ursprünglichen Harn durch folgende Momente: 1) die genuine Acidität ist durch Essigsäure ersetzt: 2) der Harn enthält mehr Calcium als vorher: 3) er enthält mehr Ammonsalz als vorher. Es ist nicht abzusehen, wie diese Momente die Abscheidung von oxalsaurem Kalk begünstigen sollen, womit ich übrigens nicht bestreiten will, dass in manchem Harn, welcher spontan beim Stehen keinen oxalsauren Kalk abscheidet, durch das Neubauer'sche Verfahren eine solche Ausscheidung herbeigeführt werden kann.

In der 5. Auflage von Hoppe-Seyler und ebenso in der neuesten (6.), in Gemeinschaft mit Thierfelder herausgegeben (1893), ist die angegebene Fassung beibehalten worden. Dennoch liegt dem ursprünglichen Neubauer'schen Wortlaut kein Versehen oder Druckfehler zu Grunde, denn er kehrt in der 7. Auflage (1876) und allen folgenden von Huppert besorgten Auflagen wieder, so auch in der 9. mit der von Fürbringer angegebenen Ausführungsform und der wesentlichen Verbesserung von Czapek, nach welcher namentlich der schliesslich durch Ammon erhaltene Niederschlag nochmals mit Essigsäure behandelt wird, was durchaus nöthig erscheint, um Verunreinigungen des oxalsauren Kalks mit phosphorsaurem zu vermeiden.

Wir haben also zwei wesentlich verschiedene Ausführungsformen des Neubauer'schen Verfahrens, und die blosse Angabe, dass die Bestimmungen nach Neubauer gemacht seien, genügt, streng genommen, nicht, indessen wird man, seit Fürbringer die genannte Methode in umfangreicher Weise angewendet hat, wohl annehmen dürfen, dass überall, wo nichts Besonderes bemerkt ist, die ursprüngliche Neubauer'sche Methode angewandt worden ist.

Ist nun die im Hoppe-Seyler'schen Handbuch angegebene Abänderung berechtigt? Diese Frage ist zu verneinen. So plausibel auch die Abänderung erscheint, ist sie doch nicht richtig. Ich habe schon vor einer Reihe von Jahren

angegeben,<sup>1)</sup> dass, wenn man einen Harn zur Bestimmung des Kreatinins mit Kalkmilch und Chlorcalcium fällt und filtrirt, im Filtrat sich stets Oxalsäure findet, diese Angabe auch in die erste Auflage meines «Practicum der physiologischen Chemie» (1893) aufgenommen (Seite 210).<sup>2)</sup> Es war darnach von vornherein anzunehmen, dass dieses auch der Fall sein wird, wenn man den Harn mit Chlorcalcium und Ammoniak fällt. Dem ist in der That so. Das Filtrat enthält in diesem Fall Oxalsäure, wovon ich mich nach dem weiter unten beschriebenen Verfahren überzeugt habe. Man verliert also nach der Hoppe-Seyler'schen Modification auf alle Fälle Oxalsäure, dieselbe ist daher zu verwerfen. Sie würde vielleicht richtige Resultate geben, wenn man den Niederschlag vor dem Filtriren tagelang stehen lässt.

Kann man nun von dem Neubauer'schen Verfahren einigermaßen sichere Zahlenwerthe erwarten?

Neubauer selbst sagt darüber an der bereits citirten Stelle 6. Auflage der Harnanalyse S. 115.

«Mit absoluter Sicherheit gelingt der Nachweis» u. s. w. Andererseits heisst es auf der folgenden Seite :

«Ich habe nach dieser Methode häufig im Urin ziemliche Mengen von Kalkoxalat in Lösung nachweisen können, wenn im Sediment keine Spur davon zu entdecken war, ebenso häufig aber habe ich auch normale Urine mit negativem Resultate auf Kalkoxalat geprüft, sodass es mir immer noch zweifelhaft bleibt, ob man die Oxalsäure zu den normalen oder abnormen Bestandtheilen des menschlichen Urins rechnen muss.»

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. X. S. 121 (1886).

2) Huppert hat diese Angabe auch aufgenommen (Analyse des Harns. 10. Auflage. S. 206), seine Beschreibung könnte indessen leicht missverstanden werden. Er sagt: «nach Salkowski soll man (200 ccm.) Harn mit Kalkmilch neutralisiren oder ganz schwach alkalisch machen, mit Chlorcalcium ausfällen, die Flüssigkeit über dem Niederschlag eindampfen... Das könnte leicht so verstanden werden, als ob die Flüssigkeit sammt dem Niederschlag eingedampft werden soll; meine Angabe geht jedoch dahin, dass der Niederschlag abfiltrirt und nur das Filtrat benutzt werden soll.

Bei dieser Sachlage ist durchaus nicht abzusehen, wie sich Neubauer davon überzeugt hat, dass sein Verfahren mit absoluter Sicherheit arbeitet. Ein Beweis dafür ist nirgends zu finden. Auch die Befunde Fürbringer's, der unter 49 Fällen 40 Mal Oxalsäure fand, 9 Mal nicht<sup>1)</sup>, sprechen nicht für die Sicherheit der Methode. Entschieden dagegen sprechen die grossen Schwankungen der Quantität an den einzelnen Tagen von längeren Versuchsreihen, die sich zahlreich in der Litteratur finden. Es ist in hohem Grade wahrscheinlich, dass in den Fällen, in welchen keine Oxalsäure gefunden wurde, dieses nur Schuld der Methode ist, ich habe sie wenigstens in früheren Versuchen in keinem Harn vermisst, den ich nach dem oben angeführten Verfahren mit Chlorcalcium und Kalkmilch untersucht habe. Ich habe ferner regelmässig in solchen Harnen, in denen die Neubauer'sche Methode, auch nach mehrtägigem Stehen statt des vorgeschriebenen 24 stündigen, ein negatives Resultat ergeben hatte, doch Oxalsäure nach dem unten anzugebenden Verfahren gefunden bzw. in Harnen, in die Neubauer'sche Methode nur eine minimale Ausscheidung von oxalsaurem Kalk ergeben hatte, in dem Filtrat noch relativ viel Oxalsäure gefunden. Es unterliegt also keinem Zweifel, dass die Neubauer'sche Methode unsicher ist. Ausserdem gehört sie bezüglich der Ausführung zu den allerunangenehmsten; es dauert oft tagelang, ehe die Filtration von 500 ccm. epithelienhaltigen Harns durch ein kleines Filter beendet ist, ja manchmal stockt die Filtration vollständig, sodass man genöthigt ist, noch ein zweites Filter zu nehmen.

Nach der quantitativen Seite hält übrigens auch Huppert die Methode durchaus nicht für genügend. Er sagt (Harnanalyse 10. Aufl. S. 788):

«Eine befriedigende Methode zur Bestimmung der Oxalsäure ist nicht bekannt. Man hat sich bisher der von Neubauer angegebenen bedient, nach welcher die Oxalsäure mit Phosphorsäure zusammen als Kalksalze gefällt und diese beiden durch Essigsäure getrennt werden. Das Calciumoxalat

---

1) Maly's Jahresber. für Thierchem. f. 1876 S. 145.

ist aber sowohl in der Essigsäure, als auch in dem entstehenden zweifach sauren Phosphat nicht unlöslich, und wenn diese Löslichkeit absolut auch nicht gross ist, so fällt sie bei den geringen Mengen Oxalsäure, welche im Harn vorkommen, sehr ins Gewicht.

Das ist auch durchaus meine Meinung, die sich auf die sorgfältigen unter meiner Leitung ausgeführten Untersuchungen von O. Nickel<sup>1)</sup> stützt, der die Neubauer'sche und Schultzen'sche Methode kritisch untersucht und auch über die Löslichkeit des oxalsauren und phosphorsauren Kalks in Essigsäure Versuche angestellt hat, aus welchen die Unmöglichkeit einer glatten Trennung von phosphorsaurem und oxalsaurem Kalk mit Essigsäure hervorgeht. Dieser Uebelstand zeigt sich auch bei der an Stelle der Neubauer'schen mitunter angewendeten Schultzen'schen Methode, welche indessen immerhin den Vorzug grösserer Sicherheit vor der Neubauer'schen voraus hat. Im Uebrigen kann ich bezüglich der Schultzen'schen Methode wohl auf die erwähnte Arbeit von O. Nickel verweisen.

Eine Erwähnung verdient noch der Vorschlag von Löbisch,<sup>2)</sup> den beim Schultzen'schen Verfahren erhaltenen Niederschlag nicht zu glühen und zu wägen, da er häufig durch Calciumsulfat verunreinigt ist, sondern mit Kaliumpermanganat zu titriren, es ist indessen dagegen zu bemerken, dass der oxalsaure Kalk durchaus nicht immer frei von organischer Substanz zu erhalten ist, die natürlich auch auf das Kaliumpermanganat einwirkt.

Die bisherigen Methoden zur Bestimmung der Oxalsäure sind also unsicher, mit einer unsichern Methode kann man aber keine sicheren Resultate erhalten, sondern nur solche, die unter bestimmten Verhältnissen einen gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit beanspruchen können.

Es galt also ein Verfahren zu finden, bei welchem die störende Phosphorsäure von vornherein eliminirt ist. Ein

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XI, S. 186.

2) Löbisch, Harnanalyse 3. Aufl. S. 126.

solches Verfahren fand ich nun in der Ausschüttelung des eingedampften und mit Salzsäure angesäuerten Harns mit alkoholhaltigem Aether, welcher die Oxalsäure vollständig, von der Phosphorsäure aber nur Spuren aufnimmt.<sup>1)</sup> Es ist sehr auffallend, dass Niemand bisher an dieses Hülfsmittel gedacht zu haben scheint, umso mehr, als ich es schon vor langer Zeit zum Nachweis von Oxalsäure im Blute von mit Phenol vergifteten Kaninchen angewendet habe.<sup>2)</sup> Vielleicht liegt der Grund darin, dass die Oxalsäure im Allgemeinen als in Aether unlöslich gilt. Sie ist auch in der That schwer löslich, aber in ausreichendem Grade löslich bei den kleinen in Harn vorkommenden Mengen, ganz besonders dann, wenn man dem Aether eine gewisse Quantität Alkohol zusetzt, was ohnehin meistens erforderlich ist, um eine gute Trennung des ätherischen Auszuges von der wässrigen Flüssigkeit herbeizuführen. Uebrigens ist nach den Versuchen von R. Gottlieb<sup>3)</sup> die Löslichkeit der Oxalsäure in Aether weit grösser, als man früher annahm: 100 ccm. Aether lösten nach ihm in 2 Versuchen 1,642 bzw. 1,583 g Oxalsäure.

Die quantitative Bestimmung der Oxalsäure gestaltet sich sehr einfach.

Handelt es sich um menschlichen Harn mittlerer Concentration, so dampft man 500 ccm nicht filtrirten Harns auf etwa  $\frac{1}{3}$  ein, lässt erkalten, säuert mit 20 ccm Salzsäure von 1,12 D an und schüttelt 3 Mal mit je 200 ccm eines Gemisches von 9 bis 10 Vol. Aether und 1 Vol. Alkohol. Die Aetherauszüge werden sorgfältig abgetrennt, dann noch durch ein nicht angefeuchtetes Filter filtrirt und abdestillirt. Die zurückbleibende alkoholische, noch etwas Aether enthaltende Flüssig-

1) Eine kurze Angabe über dieses Verfahren habe ich schon im Centralbl. f. d. m. W. 1899 Nr. 16 gemacht.

2) Pflüger's Archiv Bd. 5 S. 357.

3) Arch. f. exp. Path. Bd. 42 S. 242. Ich möchte noch bemerken, dass meine oben citirte Publication in dem Cbl. f. d. m. W. etwas vor die citirte von Gottlieb fällt, ich also nicht etwa erst durch die Angaben von Gottlieb auf den Gedanken gekommen bin, von der Löslichkeit der Oxalsäure in Aether zur quantitativen Bestimmung Gebrauch zu machen.

keit wird in eine hochwandige Schale gegossen und unter Zusatz von etwa 10—15 ccm. Wasser auf dem Wasserbad eingedampft, die entstehende milchige Flüssigkeit weiter eingedampft, nöthigenfalls unter Wasserzusatz, bis sie sich klärt und sich harzige Massen ausscheiden. Dieses Verfahren ist besser, als wenn man den Alkohol und Aether für sich völlig vertreibt und den Rückstand mit Wasser extrahirt: man ist dabei sicherer, dass die Oxalsäure völlig in Lösung geht, und ist ausserdem vor der Möglichkeit der Bildung von Oxalester geschützt. Man lässt nun erkalten, wobei völlige Klärung der Flüssigkeit eintritt — das Volumen der Flüssigkeit sei etwa 20 ccm., event. ist etwas Wasser zuzusetzen —, filtrirt durch ein kleines Filterchen, wäscht 1—2 Mal mit möglichst wenig Wasser nach. Das Filtrat wird mit Ammoniak leicht alkalisirt, 1—2 ccm. einer 10%igen Chlorcalciumlösung, dann Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction hinzugefügt. Die Reaction soll sauer sein, aber nicht zu stark sauer. Einen Anhaltspunkt gewährt die Beschaffenheit der Flüssigkeit nach dem Essigsäurezusatz. Da sie doch stets etwas Phosphorsäure enthält, so entsteht beim Zusatz von Chlorcalcium eine flockige Ausscheidung von Calciumphosphat: man muss soviel Essigsäure hinzusetzen, dass sich dieses löst. In manchen Fällen — namentlich bei der Untersuchung von Organauszügen — kann es zweckmässig sein, zuerst Essigsäure hinzuzusetzen und dann Chlorcalcium. Es bilden sich nämlich mitunter nach dem Essigsäurezusatz Trübungen, namentlich von Fettsäuren, von welchen man, wenn noch kein Chlorcalcium zugesetzt wurde, abfiltriren kann. Dabei begiebt man sich allerdings des Vortheils, dass man in dem Aussehen der Flüssigkeit einen Anhalt für die Bemessung der Quantität der Essigsäure hat. Nach mindestens 24 Stunden wird der oxalsäure Kalk in der gewöhnlichen Weise auf einem aschefreien Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, geglüht, der zurückbleibende Aetzkalk gewogen. Ich bemerke noch, dass der Niederschlag bei grösserem Oxalsäuregehalt — namentlich bei Hundeharn — sofort entsteht und dann, mikroskopisch untersucht, zwar ganz homogen, aber unkrystallinisch erscheint.

bei geringem Gehalt sich langsam ausscheidet und sich dann durchweg krystallinisch erweist, und zwar bildet er entweder Octaëder oder die von Feser und Friedberger<sup>1)</sup> beschriebenen Formen (quadratische Prismen mit pyramidalen Endflächen).

Sehr concentrirten Hundeharn braucht man gar nicht einzudampfen, man kann vielmehr 200 ccm. nach dem Ansäuern mit 20 ccm. Salzsäure direkt ausschütteln, vom Hundeharn mittlerer Concentration nimmt man etwa 300 ccm. und dampft auf die Hälfte ein.

Es liegt mir nun ob, den Beweis zu liefern, dass dieses Verfahren in der That richtige Werthe ergibt.

1. Die Reinheit des gefällten oxalsauren Kalks wird bewiesen durch die mikroskopische Untersuchung, welche bei langsamer Ausscheidung neben den Krystallen nichts Anderes aufweist, und durch die chemische Untersuchung des geglühten Aetzkalks. Nach dem Verfahren ist allenfalls eine Verunreinigung mit Phosphorsäure denkbar. Der Aetzkalk erweist sich aber entweder ganz oder bis auf eine minimale Molybdänsäure-Reaction frei von Phosphorsäure. Ein fehlerhaftes Plus bei dem Verfahren ist also ausgeschlossen.

2. Es handelt sich nun noch um den Nachweis, dass die Oxalsäure durch das Extractionsmittel vollständig ausgezogen wird. Zu dem Zweck habe ich wiederholt den drei Mal mit Aether ausgeschüttelten Harn noch zum vierten Male ausgeschüttelt: in diesem Auszug war niemals Oxalsäure nachweisbar. Ich bemerke indessen, dass dieses nur für den Harn gilt. Untersucht man auf demselben Wege oxalsäurereiche Vegetabilien (salzsaure Auszüge), so kann man sich nicht unbedingt darauf verlassen, dass die drei Aetherauszüge schon alle Oxalsäure enthalten, ich will auch nicht behaupten, dass für diesen Fall das Verfahren der Aetherextraction besonders zweckmässig sei. Uebrigens steht nichts im Wege, bei solchen Harnen, bei welchen man Grund hat, einen grösseren Gehalt an Oxalsäure zu vermuthen, noch eine vierte oder fünfte Aether-

1) Maly's Jahresber. Bd. 4 S. 231.

extraction anzuwenden, für erforderlich halte ich es nach meinen bisherigen Erfahrungen nicht.

Man konnte nun ferner daran denken, dass die harzigen Massen, welche bei der Extraction des Aetherverdampfungsrückstandes mit Wasser zurückbleiben, vielleicht noch Oxalsäure einschliessen. Um dieses zu prüfen, habe ich einerseits die rückständige Masse noch einmal mit Wasser ausgekocht, nach dem Erkalten filtrirt, das Filtrat eingedampft: in diesem Filtrat war nie Oxalsäure nachweisbar —, anderseits habe ich die harzige Masse direkt in Ammoniak gelöst, Chlorcalcium hinzugesetzt und mit Essigsäure angesäuert: dabei wird stets eine stark trübe Flüssigkeit erhalten, aus der sich beim Stehen eine harzige, ziemlich harte Masse ausscheidet. Dieselbe ist stets ganz unkrystallinisch, zum grössten Theil löslich in Alkohol und Aether und hinterlässt beim Glühen 0,3 bis 0,4 mg zum Theil aus Aetzkalk bestehenden Rückstand. Natürlich braucht dieser Aetzkalk nicht aus oxalsaurem Kalk abzustammen, er kann auch aus einer Kalkverbindung des Harzes herrühren, jedenfalls aber ist die Quantität minimal. Also auch bei der Extraction mit Wasser ist man sicher, die Oxalsäure vollständig zu erhalten. Eine weitere Quelle des Verlustes von Oxalsäure ist aber nicht ersichtlich.

Unter diesen Umständen habe ich eine grössere Reihe von zeitraubenden Doppeluntersuchungen für entbehrlich gehalten und mich auf einige beschränkt.

1. 500 ccm. eines menschlichen Harns von 1018 spec. Gewicht gaben a) 4,0 mg und b) 4,2 mg Aetzkalk, bei Annahme einer Tagesquantität von 1500 ccm., also im Mittel 12,3 mg. Ca = 20,5 mg Oxalsäure (wasserfreie Oxalsäure = 90, Aetzkalk = 56 gerechnet).

2. 750 ccm. desselben Harns ergaben 6,1 mg.

3. 500 ccm. eines anderen Harns a) 4,5 mg. b) 4,3 mg CaO = 22 mg Oxalsäure p. d.

4. 300 ccm. eines Hundeharns gab in 3 Bestimmungen a) 5,4 mg. b) 4,8 mg. c) 5,4 mg Aetzkalk.

4. 300 ccm. eines anderen Hundeharns gaben a) 6,2 mg. b) 7,8 mg Aetzkalk.

Die Uebereinstimmung ist beim Hundeharn keine ganz so gute wie beim Menschenharn. Es sind übrigens im Labora-

torium bei Arbeiten über die Oxalsäure im Menschenharn noch weitere Doppelbestimmungen ausgeführt worden, welche bei entsprechender Gelegenheit angeführt werden sollen.

Es fragt sich noch, ob das Verfahren irgend welche Schwierigkeiten bietet; solche können mitunter dadurch entstehen, dass sich der Aether schlecht absetzt. Man lässt dann den Harn ab, soweit er klar ist, giesst auch die Aetherschicht ab, soweit sie sich geklärt hat, und behandelt die Zwischenschicht mit einer neuen Portion Aether. Ferner gelingt mitunter die Abscheidung der harzigen Substanz nicht ganz gut (dieses ist mir übrigens nur am Anfang vorgekommen, in letzter Zeit nicht): es wird dann die ganze Flüssigkeit, aus welcher sich der oxalsaure Kalk abscheidet, harzig trüb und mit dem oxalsauren Kalk scheidet sich auch etwas Harz aus. Dieses Verhalten ist ohne Bedeutung, da das Harz beim Waschen des Filters mit Alkohol und Aether grösstentheils in Lösung geht und beim Verbrennen keinen oder nur einen minimalen Rückstand gibt. Man kann übrigens auch, wenn diese Erscheinung eintreten sollte, die trübe Flüssigkeit wiederholt mit Aether durchrühren und den Aether oben abgiessen. Dies ist ohne Verlust an oxalsaurem Kalk ausführbar.

Der Nachweis der Oxalsäure in den Geweben ist gleichfalls auf dem Wege der Aetherextraction sehr leicht zu führen. Man wird gut thun, stets grössere Mengen der betreffenden Organe oder Gewebe — nicht unter 250—500 g — in Arbeit zu nehmen, da die Oxalsäure stets nur in eben wägbarer Menge oder in Spuren vorhanden ist.

Das feingehackte Gewebe wird mit dem mehrfachen Volumen Wasser digerirt, dann direkt zum Sieden erhitzt, colirt, abgepresst, nachgewaschen, eingedampft, event. noch einmal filtrirt und der stark eingeeengte Auszug nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Aether ausgeschüttelt. Kleine Störungen können durch die Gegenwart von Seifen in den Auszügen verursacht werden. Es entstehen bei der Ausfällung mit Chlorcalcium und Essigsäure häufig Trübungen, die von der Gegenwart von Fettsäuren abhängen. Die mikroskopische Untersuchung schützt

vor Verwechslungen: für die quantitative Bestimmung kommen diese Ausscheidungen nicht in Betracht.

Man könnte denken, dass in den Rückständen noch oxalsaurer Kalk stecken kann, das scheint indessen nicht der Fall zu sein. Wiederholt habe ich diese Rückstände mit verdünnter Salzsäure extrahirt und den Auszug auf Oxalsäure untersucht, stets vergeblich.

Ausgedehntere Untersuchungen über den Oxalsäuregehalt der Organe stehen noch aus, ich will hier nur erwähnen, dass ich in der Leber stets Oxalsäure gefunden habe — auf 1 Kilo Leber berechnet in Kalbsleber 10,66 und 8,73 mg, in Rinderleber 12 mg — weniger in den Muskeln, nichts im Pankreas.

Ich knüpfe hieran noch einige Bemerkungen über die Oxalursäure. Die Oxalursäure ist bekanntlich von Schunk, wenn auch nur in minimalen Mengen, in normalem Harn gefunden worden, ebenso in Nachuntersuchungen von Neubauer. Huppert macht in seinem Handbuch der Harnanalyse 10. Aufl. S. 400 die Bemerkung, dass die Oxalursäure bei der Art des Nachweises sich recht wohl erst bei der Harnfäulniss gebildet haben könne. Er verweist dabei auf S. 321 seines Buches, auf der allerdings an der citirten Stelle nur angegeben ist, dass die Harnsäure unter der Einwirkung von Mikroorganismen zersetzt wird. Die Abscheidung der Oxalursäure als Ammonsalz beruht auf der langsamen Filtration grosser Mengen Harn durch Kohle, welche das oxalursäure Ammon aufnimmt. Dabei ist natürlich Harnfäulniss nicht ausgeschlossen, darin muss man Huppert durchaus beistimmen, und dass bei der Zersetzung der Harnsäure Oxalursäure entsteht, liegt gewiss im Bereich der Möglichkeit. Der Nachweis, dass Oxalursäure im Harn präformirt vorkommt, ist also mit einer gewissen Unsicherheit behaftet. Die Entscheidung der Frage, ob der Harn in der That Oxalursäure präformirt enthält, wäre ohne Zweifel von einem nicht unerheblichen theoretischen Interesse. Enthält der Harn Oxalursäure, so deutet dieses darauf hin, dass die Oxalsäure aus der Oxalursäure hervorgeht. Da die Oxalursäure aber kaum eine andere Quelle haben kann, als die Oxydation

der Harnsäure, so wäre damit die schon oft behauptete Abstammung der Oxalsäure von der Harnsäure höchst wahrscheinlich gemacht. Leider sind die Aussichten, diesen Nachweis unter Beibehaltung des Kohleverfahrens zu führen, sehr gering. Denn wenn man auch die Harnfäulniss vielleicht durch Anwendung geeigneter Antiseptica ausschliessen könnte, bleibt immer noch der Einwand, dass die Oxalursäure durch Oxydation der Harnsäure während des Versuchs entstanden sein könnte.

Mit Kontrollversuchen über das oben beschriebene Verfahren zur Bestimmung der Oxalsäure des Harns beschäftigt, machte ich nun eine Beobachtung, welche dafür zu sprechen schien, dass die Oxalursäure im Harn präformirt ist und nicht erst nachträglich, sei es durch Mikroorganismen, sei es durch einfache Oxydation, aus der Harnsäure entsteht.

Aus 750 ccm. eines Harns erhielt ich in einem Versuch 6,1 mg Aetzkalk, entsprechend 10,1 mg Oxalsäure.

Andere 750 ccm. wurden, nachdem der Harn auf freiem Feuer etwa auf die Hälfte eingedampft war, mit 20 ccm. Salzsäure versetzt, um das sich bemerkbar machende unangenehme Stossen zu verhüten und zuerst noch etwas auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad eingedampft. Zufällig wurde es versäumt, die Eindampfung rechtzeitig zu unterbrechen, die Verdampfung ging vielmehr bis zur starken Syrupconsistenz. Beim Aufnehmen des Rückstands mit Wasser blieb eine reichliche Quantität eines bräunlichen Schlammes von Huminsubstanzen ungelöst, von welchen abfiltrirt wurde. Die Untersuchung dieses Filtrates ergab weit mehr Oxalsäure, nämlich 10,2 mg Aetzkalk, entsprechend 17 mg Oxalsäure.

Derselbe Versuch wurde mit je 500 ccm. desselben Harns angestellt. Zwei «normal» ausgeführte Bestimmungen ergaben 4,0 mg, 4,2 mg Aetzkalk, als jedoch 500 ccm. schwach eingedampft, dann mit 20 ccm. Salzsäure versetzt und auf dem Wasserbad möglichst weit eingedampft wurden, betrug die Quantität des erhaltenen Aetzkalks 9,7 mg.

Es stand also fest, dass aus dem betreffenden Harn etwa die doppelte Quantität Oxalsäure resultirte, wenn er vorher mit Säure erhitzt war. Diese abgespaltene Oxalsäure kann kaum einen anderen Ursprung, als aus im Harn vorhandener Oxalursäure haben, deren Quantität danach, relativ genommen, sehr erheblich sein müsste.

Es fragte sich nun, ob man diese Beobachtungen verallgemeinern dürfe. Bei näherer Ueberlegung erschien dieses nicht ohne Weiteres zulässig. Der betreffende Harn war in einer Quantität von 4–4½ Liter längere Zeit unter Chloroformzusatz aufbewahrt worden, es scheint nicht ausgeschlossen, dass dabei Harnsäure oxydirt und Oxalursäure gebildet wird, umso mehr, als ich schon wiederholt beobachtet habe, dass längere Zeit mit Chloroform aufbewahrte Harne bei der quantitativen Bestimmung auffallend wenig Harnsäure ergaben, wenn die Abnahme auch nicht durch Doppelbestimmungen in frischem und conservirtem Zustand festgestellt ist. Der Versuch war also an frischem Harn zu wiederholen.

Es diente dazu zunächst ein Hundeharn. Von demselben kamen 300 ccm. zur Anwendung; dieselben wurden etwa auf die Hälfte eingedampft, mit 20 ccm. Salzsäure versetzt, 3 Mal mit alkoholhaltigem Aether ausgeschüttelt, der Aetherauszug auf Oxalsäure verarbeitet. Der ausgeätherte Harn, der mit B bezeichnet werden mag, blieb dann zunächst in einer Abdampfschaale bis zum nächsten Tage stehen, der Rest des Aethers wurde auf dem Wasserbad entfernt, dann die Flüssigkeit reichlich 2 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Einwirkung der Salzsäure war dabei anscheinend keine so energische, wie beim Eindampfen auf dem Wasserbad, wenigstens war die Bildung von Huminsubstanzen weit geringer. Der mit Salzsäure gekochte Harn wurde nun gleichfalls auf Oxalsäure untersucht. Der Versuch wurde an demselben Harn 3 Mal in derselben Weise ausgeführt. In jedem Fall fand sich auch zum zweiten Mal am nächsten Tage eine durchweg (mikroskopisch) krystallinische Ausscheidung von oxalsaurem Kalk. Der ganze Versuch wurde quantitativ durchgeführt. Die erhaltene Menge Aetzkalk betrug in Milligramm:

	A aus präformirter Oxalsäure	B aus abgespaltener Oxalsäure	C. zusammen
Versuch I	5,4	2,0	7,4
» II	4,8	2,4	7,2
» III	5,4	1,5	6,9

Derselbe Versuch wurde noch an einem anderen Hundeharn angestellt, jedoch in diesem Falle nicht am Rückflusskühler gekocht, sondern, wie bei der ersten Beobachtung, auf dem Wasserbad eingedampft. Der erhaltene Aetzkalk betrug in Milligramm:

	A aus präformirter Oxalsäure	B aus abgespaltener Oxalsäure	C. zusammen
Versuch I	6,2	2,8	9,0
» II	7,8	2,2	10,0

Auch hier wurde durch die mikroskopische Untersuchung festgestellt, dass der erhaltene Niederschlag stets durchweg krystallinisch war.

Die Abspaltung von Oxalsäure war also auch an dem frischen Hundeharn zu constatiren, jedoch war sie weit geringer, wie in dem conservirten menschlichen Harn. Ferner ist bemerkenswerth, dass die Summen von präformirter und abgespaltener Oxalsäure besser übereinstimmen, als die Zahlen für die präformirte Oxalsäure; man erhält darnach den Eindruck, als ob ein Minus an präformirter Oxalsäure durch ein Plus von abgespaltener ausgeglichen wird. Diese Erscheinung könnte sich dadurch erklären, dass während der Verarbeitung der salzsäurehaltigen Mischung schon eine gewisse Zersetzung

von im eingedampften Harn vorhandener Oxalursäure Platz greifen kann, wenn wir den Oxalsäure liefernden Körper vorläufig so bezeichnen wollen. Diese Zersetzung wird natürlich nicht ganz gleichmässig sein, da die Verarbeitung nicht immer genau dieselbe Zeit dauerte. Notizen hierüber habe ich leider nicht gemacht. Selbstverständlich liegt in dieser Möglichkeit eine gewisse Gefahr für die Richtigkeit der Oxalsäurebestimmung und es folgt daraus jedenfalls, dass man die Aetherausschüttelungen schnell hinter einander machen muss und nicht stundenlang stehen lassen darf.

Der Versuch musste nunmehr noch an menschlichem Harn angestellt werden, da die Versuche mit conservirtem Harn augenscheinlich nicht ganz beweisend sind. Gleichzeitig sollte bei diesem Versuch festgestellt werden, welches Verfahren mehr Oxalsäure liefert, die Verdampfung mit Salzsäure auf dem Wasserbade oder das Kochen am Rückflusskühler. Es wurden also 2 Portionen desselben Harns genommen zu 500 ccm., beide wurden eingedampft und wie gewöhnlich auf Oxalsäure untersucht = Ia und IIa.

Der ausgeätherte Harn I wurde am Rückflusskühler gekocht, wieder ausgeäthert: Ib, der bleibende Harn auf dem Wasserbad eingedampft und wieder ausgeäthert: Ic.

Der Harn II wurde in umgekehrter Reihenfolge bearbeitet. Zuerst wie gewöhnlich bearbeitet: IIa, dann auf dem Wasserbad eingedampft und ausgeäthert: IIb, dann am Rückflusskühler gekocht und ausgeäthert: IIc. Auch dieses Mal wurde beobachtet, dass die Ausscheidung von Huminsubstanz beim Eindampfen auf dem Wasserbad weit stärker war, wie beim Kochen am Rückflusskühler.

Es wurde Aetzkalk erhalten in Milligramm:

I		
a) 4.5	b) 2.1	c) 0.4 (?)
II		
a) 4.3	b) 2.2	c) Spur ?

Danach würde es ganz gleich sein, ob man den Harn auf dem Wasserbad mit Salzsäure eindampft oder am Rückflusskühler kocht, das erstere Verfahren, als das bequemere, natürlich vorzuziehen sein.

Es lag nahe, zu versuchen: ob bei der durch Thymusfütterung bewirkten Steigerung der Harnsäure- und Oxalsäureausscheidung nicht auch die abspaltbare Oxalsäure zunehme. Zu dem Zweck ersetzte die Versuchsperson — ein gesunder kräftiger Mann — an einem Tage das Eiweiss der gewohnten Nahrung zum grössten Theil durch ca. 500 g Thymus.

Der Harn wurde am Tage der Thymusaufnahme, sowie einen Tag vorher und nachher gesammelt. Derselbe war am ersten und zweiten Tage klar, am dritten hatte sich Harnsäure ausgeschieden, welche fest an den Wänden der zur Aufsammlung des Harns benutzten Flasche haftete. Diese Harnsäure wurde nach dem Abgiessen des Harns in Piperazünlösung gelöst, durch Salzsäure ausgefällt, filtrirt, ausgewaschen, getrocknet, gewogen, das Gewicht zu der in gelöster Form ausgeschiedenen Harnsäure hinzuaddirt. Die Oxalsäure (a) wurde in 500 ccm. bestimmt, die abspaltbare Oxalsäure (b) durch Eindampfen des ausgeätherten Harns mit Salzsäure u. s. w., die Harnsäure nach dem Silberverfahren.

Die Ausscheidung von Gesamt-N, Harnsäure, Oxalsäure und abspaltbarer Oxalsäure gestaltete sich folgendermassen:

	Harnmenge	N	Harnsäure	Oxalsäure		
				a	b	a+b
Tag vor der Thymuszufuhr	1960	15.70	0.770	26.45	9.14	35.59
Tag der Thymuszufuhr	1760	16.34	1.468	28.24	11.11	39.35
Tag nach der Thymuszufuhr	1540	15.09	1.086	20.90	9.75	30.65

Wenn man will, kann man am dritten Tage, der offenbar noch unter dem Einfluss der Thymusfütterung steht, eine gewisse Tendenz zur Vermehrung der abspaltbaren Oxalsäure gegenüber der als solche ausgeschiedenen sehen, bestimmte Schlussfolgerungen sind aber natürlich aus so minimalen Differenzen nicht zu ziehen. Augenscheinlich liegen die Verhältnisse in dem Versuch für die Erlangung beweiskräftigen Resultat insofern sehr ungünstig, als die Oxalsäureausscheidung schon am Tage vor der Thymuszufuhr recht hoch war. Es würde

nöthig sein, Versuche an Personen mit geringer individueller Oxalsäureausscheidung anzustellen, wozu mir die Gelegenheit mangelte.

Die ganze Frage nach dem Vorkommen der Oxalursäure im Harn bzw. der Bedeutung der durch Salzsäure abspaltbaren Oxalsäure erscheint nun aber nach weiteren zur Aufklärung der Sachlage angestellten Versuchen, die zu unerwarteten Ergebnissen führten, in einem andern Lichte.

4 Liter frischen menschlichen Harns mittlerer Concentration wurden auf dem Wasserbad stark eingedampft, sodass die Salze grösstentheils auskrystallisirten. Aus äusseren Gründen war die betreffende Abdampfschaale einige Wochen bedeckt stehen geblieben. Der halb syrupöse halb krystallinische Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und filtrirt. Das Filtrat (ca. 400 ccm.) und der ausgewaschene Rückstand wurden nach folgendem Schema bearbeitet.

a) Rückstand mit Essigsäure bei Zimmertemperatur behandelt und filtrirt

Essigsäure Lösung. Rückstand mit verdünnter Salzsäure behandelt

Lösung auf Oxalsäure untersucht. Rückstand: Harnsäure

b) Filtrat mit Salzsäure angesäuert und ausgeäthert

Aetherauszug A auf Oxalsäure untersucht      Salzsäurehaltige wässrige Flüssigkeit B stark eingedampft, dann ausgeäthert

Aetherauszug C auf Oxalsäure untersucht      Salzsäurehaltige Flüssigkeit D am Rückflusskühler gekocht, dann ausgeäthert, Aetherauszug auf Oxalsäure untersucht.

Hierzu sei noch Folgendes bemerkt:

• a) Unlöslicher Rückstand.

Im unlöslichen Rückstand konnte möglicher Weise oxalursaurer Kalk vorhanden sein. Zur Untersuchung hierauf wurde er mit ca. 250 ccm. Essigsäure von 25% bei Zimmertemperatur extrahirt, die Lösung filtrirt und zum Sieden erhitzt: es schied sich nur ein ganz minimaler, unwägbarer Bodensatz

ab, der nach der mikroskopischen Untersuchung wahrscheinlich schwefelsaurer Kalk, jedenfalls nicht oxalsaurer Kalk war. Der nunmehr gebliebene Rückstand wurde mit verdünnter Salzsäure in der Wärme behandelt und filtrirt, das Filtrat ausgeäthert. Der Aetherauszug lieferte 5 mg. CaO aus oxalsaurem Kalk.

b) Filtrat.

1. Der Aetherauszug A enthält äusserst wenig Oxalsäure: es wurden im Ganzen nur 1,8 mg. CaO aus oxalsaurem Kalk herrührend erhalten. Da die betreffende Lösung, aus welcher die Ausfällung des oxalsauren Kalks erfolgt war, augenscheinlich noch ziemlich stark durch Harnbestandtheile verunreinigt war (es war nöthig gewesen, zur Abtrennung des Aetheraus-zuges noch Alkohol anzuwenden) und die Möglichkeit vorlag, dass diese Harnbestandtheile oxalsauren Kalk in Lösung halten könnten, so wurde das Filtrat von oxalsaurem Kalk nochmals mit Salzsäure angesäuert und ausgeäthert. Der Aetherauszug enthielt jedoch keine Oxalsäure, die betreffende Flüssigkeit blieb auf Zusatz von Chlorcalcium ganz klar.

2. Der Aetherauszug C lieferte 13 mg CaO aus oxalsaurem Kalk = 21 mg Oxalsäure. Die wässrige salzsäurehaltige Flüssigkeit wurde mit noch mehr Salzsäure versetzt und ca. 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann mit Aether ausgeschüttelt: im Aetherauszug war keine Spur von Oxalsäure nachweisbar. Da die Quantität der aus 4 Liter Harn erhaltenen Oxalsäure sehr gering war, so war dieser Befund auffallend. Er fand seine Erklärung sehr bald dahin, dass die Flüssigkeit in Folge der Zersetzung von Harnstoff durch die Salzsäure schwach alkalische Reaction angenommen hatte. Es wurde daher nochmals Salzsäure zugesetzt und im Wasserbad eingedampft, verdünnt und wiederum mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug lieferte 9,6 mg CaO aus oxalsaurem Kalk = 16 mg Oxalsäure.

Im Ganzen wurden also aus der von der Oxalsäure befreiten Flüssigkeit durch Erhitzen mit Salzsäure noch  $21,7 + 16 = 37,7$  mg Oxalsäure erhalten.

Der im Vorstehenden mitgetheilte Befund ist nach verschiedenen Richtungen bemerkenswerth: 1. ist durch das Eindampfen des Harns eine Lösung erhalten worden, welche fast gar keine Oxalsäure als solche erhielt, sondern nur gebundene, durch Erhitzen mit Salzsäure abspaltbare: 2. ist die Gesamtsumme der erhaltenen Oxalsäure sehr gering. Es wurden erhalten:

a) Aus dem Rückstand . . . . .	5.0 mg CaO.
b) Aus dem Filtrat:	
a) direkt . . . . .	1.8 » »
b) nach dem Erhitzen mit Salzsäure . . . . .	22.6 » »
	<hr/>
	29.4 mg CaO = 49 mg Oxalsäure

Da es sich um ziemlich concentrirten Harn von derselben Provenienz wie der früher untersuchte handelte, so wären gegenüber den gefundenen 49 mg Oxalsäure etwa 70 mg zu erwarten gewesen.

Die Ursache des Deficits konnte in zwei Umständen liegen: 1. lag die Möglichkeit vor, dass die essigsaure Lösung des Rückstandes noch oxalsauren Kalk enthielt, bei der relativ grossen Menge der angewendeten Essigsäure war dieses nicht undenkbar: 2. ist die Ausschüttelung mit Aether nicht so lange fortgesetzt worden, bis der Aether sicher keine Oxalsäure mehr aufnahm; es war also möglich, wenn auch schwer denkbar, dass die Oxalsäure nicht vollständig abgespalten oder aus der Flüssigkeit nicht vollständig extrahirt war. Diese beiden Umstände gaben die Veranlassung, den Versuch noch einmal mit 4 Liter menschlichen Harns zu wiederholen, jedoch mit der Modification, dass der Rückstand nicht mit Essigsäure, sondern mit Salzsäure behandelt und die salzsaure Lösung auf Oxalsäure untersucht wurde, dass ferner die Aetherausschüttelungen der Flüssigkeit weiter fortgesetzt wurden.

Aus der salzsauren Lösung des Rückstandes wurden durch Ausschütteln mit Aether 7,0 mg CaO aus oxalsaurem Kalk erhalten, aus dem wässerigen Filtrat nach Ansäuern mit Salzsäure 6,8 mg CaO, im Ganzen wurden also aus präformirter Oxalsäure erhalten 13,8 mg CaO = 23,0 mg Oxalsäure. Die

ausgeätherte Lösung wurde mit ca. 50 ccm. Salzsäure versetzt und drei Stunden am Rückflusskühler gekocht: sie war alkalisch geworden.<sup>1)</sup> Durch Ansäuern und Ausschütteln mit Aether wurden 9,2 mg CaO aus Oxalsäure erhalten (1).

Die rückständige salzsaure Flüssigkeit wurde nunmehr unter erneutem Salzsäurezusatz auf dem Wasserbade stark eingedampft, wobei die Reaction bis zum Schluss stark sauer blieb. Die Lösung wurde wieder ausgeäthert.<sup>2)</sup> Der Aetherauszug lieferte 0,0166 CaO aus oxalsaurem Kalk (2). Die wässrige Flüssigkeit wurde wieder stark eingedampft, dann auf 400 ccm. gebracht und ausgeäthert: der Aetherauszug lieferte 0,0044 CaO aus Oxalsäure (3). Die wässrige Flüssigkeit von (3) wurde wieder eingedampft, verdünnt und ausgeäthert. Der Aetherauszug lieferte 0,0056 CaO aus Oxalsäure (4).

Der fortdauernde Gehalt an Oxalsäure erregte den Verdacht, dass die Oxalsäure in den späteren Operationen vielleicht gar nicht neugebildet, sondern von vornherein vorhanden, jedoch nur sehr schwierig vom Aether aufgenommen werde. Die wässrige Flüssigkeit von (4) wurde daher nicht eingedampft, sondern direkt aufs Neue ausgeäthert (wie immer drei Mal). In der That entstand in der betreffenden Lösung durch  $\text{CaCl}_2$  ein Niederschlag, der zum Theil aus wohl ausgebildeten Octaëdern bestand, zum Theil amorph war. Durch Abfiltriren

---

1) Es scheint, dass alkalische Reaction um so leichter eintritt, je stärker man mit Salzsäure ansäuert. Diese auf den ersten Blick paradoxe Erscheinung erklärt sich dadurch, dass der Harnstoff in um so grösserem Umfang zersetzt wird, je saurer die Flüssigkeit ist. Da in den 4 Liter Harn ca. 80 g Harnstoff anzunehmen sind, würde man gegen 370 g Salzsäure von 1.12 D brauchen, um sicher zu sein, dass die Reaction schliesslich sauer ist. Bei gleicher Acidität wirkt die Salzsäure am Rückflusskühler augenscheinlich stärker auf den Harnstoff ein, als beim Eindampfen auf dem Wasserbad.

2) In allen diesen Versuchen (auch in dem ersten) beträgt das Volumen der Lösung ca. 400 ccm., und es wurde stets mit 3 Portionen Aetheralkoholmischung, bestehend aus 400 ccm. Aether und 40 ccm. Alkohol, also im Ganzen jede einzelne Lösung mit 1,2 Liter Aether ausgeschüttelt.

des Niederschlages und Glühen wurde 0,0038 CaO erhalten (5). Die Flüssigkeit von (5) wurde wieder ausgeäthert und wiederum ein Niederschlag erhalten, der zum Theil aus Octaedern bestand (6): der beim Glühen erhaltene Rückstand wog 1,4 mg., er war röthlich gefärbt, eisenhaltig, jedoch zum Theil unter stark alkalischer Reaction in Wasser löslich. Die Flüssigkeit von (6) wurde wieder ausgeäthert; auch jetzt waren in dem geringen Bodensatz mikroskopisch noch vereinzelte Octaeder zu finden. Der Glührückstand (7) wog 0,6 mg., war röthlich gefärbt, eisenhaltig, im Wasser nicht löslich, alkalische Reaction nicht zu constatiren. Es ist höchst auffallend, dass nach 21 Ausschüttelungen mit ca. 8,4 Liter Aether immer noch letzte Spuren von Oxalsäure durch die mikroskopische Untersuchung auffindbar waren. Nunmehr wurde die Flüssigkeit als oxalsäurefrei betrachtet: sie wurde aufs Neue mit Salzsäure angesäuert, stark eingedampft, mit Wasser aufgenommen und ausgeäthert. Es entstand ein geringer Niederschlag, jedoch waren in demselben keine Octaeder aufzufinden, der Glührückstand = 0,8 mg. war röthlich, eisenhaltig, in Wasser unlöslich, nicht alkalisch.

Addirt man die in den Operationen 1 bis 6 erhaltenen Quantitäten CaO, so erhält man 41,0 mg CaO = 68,3 mg. Oxalsäure. Zusammen mit den direkt (aus dem «Rückstand» und der wässrigen Lösung) erhaltenen 23 mg. ergeben sich 91,3 mg. für 4 Liter, also für 1 Liter 22,6 mg. Dieser Gehalt stimmt mit den früher am Harn gemachten Beobachtungen überein, es liegt jedenfalls kein Grund zu irgend welchen Bedenken vor. Dagegen ist die Vertheilung der Oxalsäure in direkt erhaltene und erst nach dem Erhitzen mit Salzsäure erhaltene eine ganz andere, wie in den früheren Beobachtungen, bei welchen nur kleine Mengen Harn kurze Zeit eingedampft, d. h. nur bis auf  $\frac{1}{3}$  ihres Volumens reducirt wurden. In diesen früheren Beobachtungen war die direkt erhaltene Oxalsäure 2 bis 3 Mal soviel als die abgespaltene, hier ist umgekehrt die letztere an Gewicht ca. 3 Mal so viel, als die letztere, ja im ersten Versuch noch mehr, d. h. bei langdauerndem Eindampfen geht der grössere Theil der Oxalsäure in

eine nicht mehr durch Aether ausziehbare Form über, aus welcher sich aber durch Erhitzen mit Salzsäure Oxalsäure abspalten lässt. Diese Form kann kaum etwas anders sein, als Oxalursäure.

Es fragt sich nun nothwendig: 1. Wie steht es nach diesen Erfahrungen mit der Annahme im Harn präformirter Oxalursäure? 2. Was folgt aus derselben für die quantitative Bestimmung der Oxalsäure?

ad 1. Wenn es feststeht, dass die Oxalsäure des Harns beim Eindampfen unter Umständen in Oxalursäure übergehen kann (der Kürze halber sei die abspaltbare Form damit so bezeichnet), so ist der Nachweis abspaltbarer Oxalsäure im Harn nur dann für einen Gehalt des Harn an präformirter Oxalursäure beweisend, wenn eine Erwärmung des Harns völlig vermieden wird, da es nicht ausgeschlossen ist, dass auch schon bei gelindem Abdampfen Oxalsäure in Oxalursäure übergeht. Die Frage, ob der Harn präformirte Oxalursäure enthält, ist also als eine offene zu betrachten, sie kann nur an direkt untersuchten Harnen und offenbar nur an sehr concentrirten entschieden werden und soll nach dieser Richtung hin weiter bearbeitet werden.

ad 2. Das Eindampfen des Harns ist bei der quantitativen Bestimmung der Oxalsäure aus praktischen Gründen nicht zu entbehren, wenigstens nicht für menschlichen Harn. Man darf das Eindampfen nicht zu lange dauern lassen, darf also nicht zu grosse Quantitäten Harn nehmen, so wünschenswerth es auch wäre, eine etwas grössere Quantität oxalsauren Kalks zur Bestimmung zu erhalten. Aber auch wenn man nur 500 ccm. Harn nimmt, so liegt immer noch die Gefahr eines Deficits durch Uebergang von Oxalsäure in eine nicht durch Aether extrahirbare Form (Oxalursäure) vor. Es fragt sich, ob es unter diesen Umständen nicht besser ist, dem Harn beim Eindampfen saure Reaction zu geben und von vornherein auf die Gewinnung sämmtlicher Oxalsäure, einschliesslich der etwa schon vorhandenen Oxalursäure auszugehen. Dieses Vorgehen würde sich dadurch rechtfertigen, dass physiologisch die Bedeutung der Oxalursäure mit der der Oxalsäure zusammenfällt und, ab-

gesehen von einzelnen besonderen Fällen, ein Bedürfniss zur getrennten Bestimmung beider nicht besteht.

Man wird dann zweckmässig so verfahren, dass man 500 cem. Harn mit einigen Tropfen Salzsäure ansäuert, zuerst auf freiem Feuer etwa auf ein Drittel des Volumens, dann unter Zusatz von 20 cem. Salzsäure auf dem Wasserbad stark eindampft, den Rückstand mit Wasser aufnimmt, filtrirt, nachwäscht und das Filtrat mit alkoholhaltigem Aether ausschüttelt. Das Filtriren könnte wohl auch entbehrt werden. Das Volumen der auszuschüttelnden Flüssigkeit wird man zweckmässig auf 150—200 cem. bemessen, die Reaction derselben muss stark sauer sein, eventuell Salzsäure hinzugesetzt werden.

Weiterhin könnte das Bedenken auftauchen, ob die in den Versuchen mit grossen Mengen stark eingedampften Harns constatirte schwierige Extrahirbarkeit der Oxalsäure durch Aether nicht das beschriebene, auf Ausziehung durch Aether basirte, quantitative Verfahren überhaupt in Frage stelle. Ich theile dieses Bedenken nicht: die Oxalsäure verhält sich in dem schwach eingedampften bezw. durch Wasserzusatz wieder verdünnten Harn ganz anders wie in dem concentrirten, sie ist weit leichter extrahirbar. Eine Erklärung für das auffallende Verhalten des stark concentrirten Harns vermag ich nicht zu geben: man könnte sich vielleicht vorstellen, dass die grosse Menge Harnstoff eine Art Bindung auf die Oxalsäure ausübt, so dass sie Lösungsmitteln gegenüber weniger zugänglich ist, wie sonst.