

Kontrolle der Blumenthal'schen Methode der Hippursäurebestimmung.

Von
Franz Soetbeer.

Aus dem Laboratorium der Kinderklinik zu Heidelberg
(Der Redaction zugegangen am 9. Juni 1902.)

In der Zeitschrift für klinische Medicin hat Blumenthal¹⁾ eine Methode zur Bestimmung der Hippursäure veröffentlicht und auf seine Veranlassung hat Lewin²⁾ bei den verschiedensten Erkrankungen die Hippursäureausscheidung mit dieser Methode untersucht.

Ich erhielt bei Gelegenheit meiner Untersuchungen über die Secretion bei Nephritis mit der Bunge-Schmiedeberg'schen Methode andere Werthe und bezweifelte daselbst³⁾ die Verwerthbarkeit der Blumenthal'schen Methode aus principiellen Gründen. Die Nachprüfung der Blumenthal'schen Methode ergab folgendes Resultat.

Die Blumenthal'sche Methode.

Blumenthal⁴⁾ gibt an:

300 ccm. Harn, schwach mit Soda alkalisirt, wurden erst auf freiem Feuer, sodann auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird 2 Mal mit je 150 ccm. 96^o/o-igen Alkohols auf dem erwärmtem Wasserbade ausgezogen und filtrirt, die Filtrate vereinigt und auf dem Wasserbade zur Syrupdicke verdunstet. Der Syrup wird in ca. 50 ccm. Wasser gelöst, mit ca. 10 ccm. 20—25^o/o-iger Salzsäure oder Schwefelsäure versetzt und im Schütteltrichter mit je 200 ccm. Aether, der 20 ccm. 96^o oigen Alkohol enthält, kräftig unter Lüftung durchgeschüttelt. Der Aetherauszug wird einmal mit destillirtem

1) Blumenthal, Zur Methode der Hippursäurebestimmung. Zeitschrift f. klin. Med. Bd. 40, Heft 3 und 4.

2) Lewin, Beiträge zum Hippursäurestoffwechsel des Menschen. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 42, Heft 4 und 5.

3) Soetbeer, Die Secretionsarbeit d. kranken Niere. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXV, S. 95.

4) L. c. S. 5.

Wasser (ca. 75 cem.) gewaschen und dann der Aether abdestillirt. Das Ausschütteln mit Aether wird im Ganzen 4 Mal wiederholt. Die Destillationsrückstände werden in 20 cem. destillirtem Wasser gelöst, in einen Kjeldahlkolben durch einen Trichter gegossen, wenn die Lösung wenig Farbstoff enthält, und mit Wasser nachgespült. Enthält die Lösung viel Farbstoff, so bringt man sie in den Schütteltrichter zurück und schüttelt sie vorsichtig mit 15 cem. Chloroform aus, das den Farbstoff aufnimmt. Nach Ablassen des Chloroforms bringt man die wässrige Flüssigkeit in den Kjeldahlkolben, setzt sehr vorsichtig 15 cem. concentrirte Schwefelsäure hinzu (sehr starke Erhitzung), schüttelt dann gut durch, fügt etwas Kupfersulfat hinzu und verbrennt. Das weitere Verfahren der N-Bestimmung ist das gewöhnliche. Man legt 25 cem. $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure vor, die verbrannten Cubikcentimeter werden mit 17,9 multiplicirt und der erhaltene Werth ist die in 300 cem. enthaltene Hippursäure in Milligramm.

Nach Auführung verschiedener Doppelbestimmungen schreibt Blumenthal: Es handelt sich bei dieser Methode ja natürlich nur um Vergleichswerthe, da ca. 15% zu wenig Hippursäure wiedergefunden wird.

Diese Angabe zu prüfen, ist der Zweck folgender Untersuchung.

Die Kontrolle der Methode.

Blumenthal hat es unterlassen, auch nur den Versuch zu machen, den am Schluss seines Verfahrens aus dem Harn erhaltenen Stickstoff als wirklichen Hippursäurestickstoff zu identificiren.

Wir müssen aber von einer Methode verlangen, dass wenigstens einmal nachgewiesen worden ist, dass der am Ende erhaltene Bestandtheil einer Substanz, hier der Stickstoff, der in Tausenden von anderen Verbindungen vorkommt, auch wirklich der Bestandtheil des mit der Methode gesuchten Molekularverbandes ist.

Der direkte Weg der Kontrolle wäre die Reindarstellung der Hippursäure und ihre Wägung aus dem nach Blumenthal erhaltenem Extract. Nun gibt aber die Bunge-Schmiede-

berg'sche Methode nur Minimalwerthe und ebenso die anderen angegebenen Methoden; deshalb schien mir für die Kontrolle der Blumenthal'schen Methode der bessere Weg, aus dem Aetherextract die Stickstoffportion abzuspalten, die auf keinen Fall Hippursäure sein konnte.

Zur Bestimmung dieser Stickstofffraction wurden zunächst reine Hippursäurelösungen folgenden Manipulationen unterworfen:

Es wurde eine 0,1%ige Lösung eines Kahlbaum'schen Präparates von Hippursäure 3 Stunden mit 5%iger Magnesia destillirt, die vorgelegten $\frac{1}{10}$ Normalsäurelösungen behielten ihren Titer unverändert.

Das beweist, dass bei Destillation mit Magnesia die Hippursäure keinen Amidstickstoff abgibt.

Zweitens wurde eine Lösung von Hippursäure bei saurer Reaction mit Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt, es gab keine Fällung.

Daraus ergibt sich, dass aller Stickstoff, der bei der Destillation des nach Blumenthal erhaltenen schliesslichen Extractes mit Magnesia als Ammoniak übergehen würde, kein Hippursäurestickstoff sein könnte.

Zweitens, dass nur der Stickstoffrest des Extractes eventuell Hippursäure sein könnte, der mit salpetersaurem Quecksilberoxyd nicht gefällt ist.

Es wurden nun nach Blumenthal 900 ccm. Harn (frischer Mischharn von einer Station der Kinderklinik, ohne Eiweiss und Zucker) auf dem Wasserbade bei schwach alkalischer Reaction eingedampft. Der Rückstand wurde auf dem warmen Wasserbad 6 Mal mit Alkohol von 96% ausgezogen, die Alkoholauszüge filtrirt und vereinigt, schliesslich bis zum Syrup eingedampft.

Der Syrup wurde mit 150 ccm. Wasser aufgenommen, die Lösung mit Schwefelsäure angesäuert und in 3 Portionen à 50 ccm. eingetheilt. Jede Portion wurde in der Schüttelmaschine 4 Mal mit 200 ccm. Aether, dem 10% Alkohol von 96% zugesetzt war, 15 Minuten ausgeschüttelt. Je 800 ccm. des Aetherextractes wurden mit 75 ccm. destillirten Wassers

noch einmal ausgeschüttelt, die sämtlichen Aetherextracte vereinigt und der Aether abdestillirt. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und in 3 gleiche Portionen getheilt.

Die erste Portion wurde nach Kjeldahl behandelt. Die Analyse ergab 0,045 g N oder nach Blumenthal 0,58 g Hippursäure.

Die zweite Portion wurde mit Wasser auf 500 ccm. verdünnt, mit 25 g Magnesia versetzt und 20 Stunden bis zur Erschöpfung destillirt. Es gingen 0,029 g N als NH_3 über, das sind 64,4% des Blumenthal'schen Hippursäure-N.

Die dritte Portion wurde mit salpetersaurem Quecksilberoxyd in hinreichend verdünnter Lösung bei saurer Reaction ausgefällt, der reichliche Niederschlag wurde ausgewaschen und im Filtrat der Stickstoff bestimmt.

Es waren im Filtrat 0,0196 g N gleich 43% vom Hippursäure-N nach Blumenthal.

Diese letztere Methode wiederholte ich noch einmal zur Kontrolle der Resultate.

Die Stickstoffbestimmung in Portion I einer gleich behandelten anderen Harnportion ergab 0,016 g N oder 0,206 g Hippursäure nach Blumenthal.

Nach der Fällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd waren trotz Gegenwart der Salpetersäure im Filtrat einer gleichen Portion nur 0,005 g N oder 31,25% vom sogenannten Hippursäurestickstoff.

Man ersieht aus diesen Analysen:

I. Nach Verfahren II kann höchstens 35% des nach der Blumenthal'schen Methode erhaltenen Stickstoffs Hippursäurestickstoff sein.

II. Nach Verfahren III kann im ersten Fall 43%, im zweiten Fall nur 31,25% des nach Blumenthal abgetrennten Stickstoffs Hippursäure-N sein. Erwiesen ist weder im I. noch im II. Fall, dass dieser N Hippursäure-N sein muss.

In toto sehen wir, dass die Blumenthal'sche Methode der Hippursäurebestimmung und damit die mühsam erarbeiteten Lewin'schen Untersuchungsergebnisse unbrauchbar sind.