

# Zur Ermittlung des Acetons im Harn.

Von

Dr. Otto Mayer.

(Aus der Chemischen Abteilung der Militärärztlichen Akademie in München.)  
(Der Redaktion zugegangen am 5. Februar 1919.)

In nachstehendem möchte ich über Erfahrungen und neue Beobachtungen berichten, die sich auf das wohlbeackerte Arbeitsgebiet des Nachweises und insbesondere der Bestimmung des Acetons im Harn beziehen. An den einschlägigen Verfahren herrscht fürwahr kein Mangel; besitzen wir doch wohl ein Dutzend brauchbare Methoden zum Nachweis des Acetons. Von all diesen Proben dürfte keine sich einer ähnlichen Beliebtheit erfreuen wie die alte Legalsche, und doch findet man in unserem Schrifttum meist nur ungenaue Angaben über deren Ausführung. Ausschlaggebend für die Erzielung einer möglichst intensiven Rotfärbung ist, wie aus folgender Versuchsreihe hervorgeht, nicht so sehr die Menge des in Substanz zugefügten Prussides, als jene der Lauge; von dieser sind nicht, wie vielfach empfohlen, nur wenige Tropfen zuzusetzen, vielmehr verwende man wenigstens 1 ccm Natronlauge, 15% auf 10 ccm Harn, und säure das alkalische Gemisch alsbald an. Bei geringen Acetonmengen darf man mit dem Zusatz der Essigsäure nicht säumen, bei größeren Acetonmengen kann man unbeschadet der Rotfärbung  $\frac{1}{2}$  Minute verstreichen lassen.

ccm NaOH 15%	0,5		1,0	
g FeCy <sub>5</sub> NO Na <sub>2</sub>	0,05	0,1	0,05	0,1
Rotfärbung	hell	etwas dunkler	dunkel	noch dunkler

Die Legalsche Probe wird somit wie folgt ausgeführt: Etwa 10 ccm Harn werden mit einer kleinen Messerspitze (0,05—0,1 g) gepulverten Nitroprussidnatriums geschüttelt, nach dessen Lösung mit 1 ccm Natronlauge 15% versetzt und nunmehr mit 2 ccm Essigsäure 30% angesäuert. In dieser Ausführung besitzt die Probe genügende Empfindlichkeit, um Aceton noch in der Verdünnung 1:1000 an dem deutlich purpurroten Farbenton zu erkennen. Eine vorherige Destillation wäre somit nur bei dunkelgefärbten Harnen oder bei weit geringeren Acetonmengen erforderlich.

Die Legalsche Probe eignet sich auch zur kolorimetrischen Bestimmung des Acetons, zumal in geringen Mengen, und macht die Mehrzahl der für klinische Zwecke vorgeschlagenen, meist umständlichen Verfahren entbehrlich. Man vergleicht die Rotfärbung mit jener von Lösungen, die bekannte Mengen Aceton enthalten. Die Herstellung dieser Lösungen erleichtert die nachfolgende Tabelle. Zunächst bereite man folgende Lösungen: a) 10 g Aceton werden im 100 ccm-Meßkolben mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. b) 10 ccm der Lösung a desgleichen auf 100 ccm; 1 ccm = 10 mg Aceton. c) 10 ccm der Lösung b desgleichen auf 100 ccm; 1 ccm = 1 mg Aceton.

ccm Lösung	Aceton		ccm Lösung	Aceton	
	mg	%		mg	%
c 2	2	0,02	b 2	20	0,20
„ 4	4	0,04	„ 4	40	0,40
„ 6	6	0,06	„ 6	60	0,60
„ 8	8	0,08	„ 8	80	0,80
„ 10	10	0,10	„ 10	100	1,00

Bei Herstellung der Vergleichslösungen lasse man sich von dem Ausfall der qualitativen Vorprüfung leiten und bereite somit nur wenige Acetonlösungen, z. B. solche von 0,1—0,6%, nötigenfalls auch die in der Tabelle weggelassenen Zwischenwerte. Ausführung der Bestimmung: In gleichweite Reagensgläser, die bei 10 ccm eine Marke tragen, wird der erforderlichenfalls verdünnte Harn oder dessen Destillat bzw.

die zu 10 ccm zu ergänzende Acetonlösung gegeben und jede Probe mit 1 ccm einer frischbereiteten Lösung von Nitroprussidnatrium 1:20 versetzt; nunmehr vermischt man die Proben der Reihe nach mit Lauge, dann sofort mit Essigsäure. Mit dem Vergleich der Färbungen warte man nicht länger als 5—10'. Die Farben verblassen naturgemäß um so schneller, je geringer der Gehalt an Aceton ist.

Von den Harnbestandteilen bewirkt eigentlich nur Acetessigsäure, die Muttersubstanz des Acetons, einen positiven Ausfall der Legalschen Probe, weshalb man im Falle deren Anwesenheit einen Summenausdruck für die Acetonkörper gewinnt. Eine Absonderung des Acetons durch Vakuumdestillation oder Durchleiten eines Luftstromes dürfte nur in besonderen Fällen erforderlich sein. Von Parakresol geben nach Versuchen des Verf. selbst größere Mengen, als wie sie im Harn vorkommen können, keinen Anlaß zu Täuschungen. Bei der kolorimetrischen Prüfung eines Urins nach obigem Verfahren wurden in 10 ccm Harn 3,5 mg = 0,035% Acetonkörper gefunden; nach eintägigem Stehen betrug deren Menge 0,060%, nach einem weiteren Tage 0,080%, hatte somit von Tag zu Tag zugenommen. Der Gehalt an Acetessigsäure hatte sich zwar verringert, dieselbe war aber noch nach zwei Tagen deutlich nachweisbar. Als empfindliches Reagens hierzu empfiehlt Verf. (Pharm. Ztg. 1905, 50, 1001) eine Mischung von 5 ccm Liquor Ferri sesquichlor. und 95 ccm Kochsalzlösung 25% und die Vornahme der Probe als Zonenreaktion.

Die von F. Lange empfohlene Abänderung der Legalschen Probe (Münch. med. Wochenschr. 1906, 53, 1764) kann gleichfalls zur kolorimetrischen Bestimmung des Acetons herangezogen werden. Nach des Verf. Versuchen eignet sich hierbei als Reagens eine Lösung von 1 g Nitroprussidnatrium in je 10 ccm Wasser und Eisessig; dieser „Prussidessig“ hält sich mehrere Wochen. Ausführung: 10 ccm Harndestillat bzw. Acetonlösungen werden in weiten Reagierzylindern erst mit 1 ccm Prussidessig, sodann mit 2 ccm starker Ammoniakflüssigkeit vermischt. Je nach dem Acetongehalt tritt alsbald oder bei weniger als 0,1% Aceton nach wenigen Minuten

eine charakteristische, an Permanganat erinnernde Rotfärbung auf, die in abgestuften Farbtönen sich längere Zeit erhält, so daß schon nach 5' und selbst noch nach einstündigem Stehen ein Vergleich der Rotfärbungen möglich ist. Erst nach mehreren Stunden entstehen bräunliche, unter 0,1% Aceton gelbe Farbtöne, die auch nach 1—2 Tagen noch so differenziert sind, daß ein kolorimetrischer Vergleich möglich wäre.

Statt Prussidessig läßt sich auch bei im übrigen gleicher Ausführung 2 ccm „Prussidsalmiak“ verwenden, das ist eine gleich dem vorigen Reagens kalt zu bereitende Lösung von 1 g Nitroprussidnatrium, 10 g Salmiak in Wasser zu 40 ccm. Das Reagens hält sich nur wenige Tage und verursacht bei gleicher Empfindlichkeit ähnliche Färbungen wie der Prussidessig.

Als wohl schärfste und schönste Reaktion empfiehlt E. Späth in seinem Handbuch der Untersuchung des Harnes, 4. Aufl. 1912, zum Nachweis des Acetons die Kondensationsprobe mit Salicylaldehyd. Statt 1 g Ätzkali nahm Verf. 2 ccm einer Lösung von 100 g Ätzkali zu 200 ccm Wasser und verfuhr im übrigen nach der ursprünglichen Vorschrift. Weder in der Kälte noch bei kürzerem oder längerem Erwärmen bis zu 1 Stunde bei 70° C. wurden charakteristische Färbungen erhalten; dieselben waren hellgelb bei 0,1 mg, dunkelgelb bei 1 mg, orange bei 10 mg und dunkler bei 100 mg Aceton in der jeweils angewandten Menge von 10 ccm Flüssigkeit. Von einer Verwendung dieser auch von P. Borisch empfohlenen Probe zu kolorimetrischen Zwecken mußte daher abgesehen werden.

Zum einwandfreien Nachweis des Acetons verwendet man zweckmäßig eine weitere Probe, welche nicht auf einer Farbenreaktion beruht, vielmehr auf der Bildung eines weißlichen Niederschlages, wie solcher nach Denigès erhalten wird, wenn man je 5 ccm Harndestillat und Reagens (5 g HgO, 20 ccm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100 ccm H<sub>2</sub>O) im Wasserbad erwärmt. Noch bei 0,01% = 0,5 mg Aceton entsteht nach 5' dauerndem Erwärmen eine Trübung nebst schwacher bläulichrötlicher Fluoreszenz, nach 10' hat sich ein geringer Niederschlag zu Boden gesetzt. Bei 0,05% ist der Niederschlag nach 4—5', bei

größeren Acetonmengen (über 0,1%) bereits nach 1–2' entstanden; die Mischung zeigt gleichfalls eine schwache Fluoreszenz. Unter Berücksichtigung der Reaktionsgeschwindigkeit und der Niederschlagsmenge kann auch bei dieser Probe die Menge des Acetons geschätzt werden.

Zur Ermittlung des Volumens des Quecksilberniederschlags wurde die Reaktion in Spitzgläschen ausgeführt, deren Graduierung bis 10 ccm reichte und noch 0,1 ccm abzulesen gestattete. Die Ablesung erfolgte sowohl nach 5' als nach 10' dauerndem Kochen, sowie nach einstündigem Erkaltenlassen; durch Klopfen an die Gefäßwandung wurde hierbei der Niederschlag in eine horizontale Lage gebracht. Wie sich der Tabelle

% Aceton	0,01	0,02	0,04	0,05	0,06	0,08	0,10
ccm Niederschlag nach							
{ 5 Minuten	Spur	Spur	0,08	0,13	0,15	0,25	0,32
{ 1 Stunde	0,025	0,05	0,1	0,12	0,18	0,28	0,35
{ 10 Minuten	0,03	0,08	0,15	0,22	0,22	0,30	0,34
{ 1 Stunde	0,03	0,08	0,13	0,16	0,20	0,26	0,30

% Aceton	0,2	0,4	0,5	0,6	0,8	1,0
ccm Niederschlag nach						
{ 5 Minuten	0,65	0,80	0,80	0,70	0,40	0,20
{ 1 Stunde	0,67	0,83	0,75	0,85	0,72	0,63
{ 10 Minuten	0,80	0,75	0,60	0,65	0,60	0,35
{ 1 Stunde	0,76	0,70	0,65	0,60	0,65	0,70

entnehmen läßt, erhält man nach 10' langem Kochen und nach dem Ablesen nach 1 Stunde nur bei einem Acetongehalt von 0,01–0,1% befriedigende Resultate. Bei größeren Acetonmengen tritt die Reaktion zwar rascher ein, jedoch nimmt das Volumen des Niederschlages, wie wiederholte Versuche ergaben, oberhalb 0,2% nicht mehr zu; in solchen Fällen wäre das Destillat zuvor zu verdünnen. Nach diesen Versuchsergebnissen bietet diese volumetrische Probe gegenüber

den kolorimetrischen Verfahren keine nennenswerten Vorteile. Unter Verwendung der fünffachen Menge Acetonlösung und Reagens dürfte sich nach Denigès auf dem Umwege über die Trocknung und Wägung vermutlich eine größere Genauigkeit erzielen lassen, jedoch wäre hierbei zu beachten, daß der Niederschlag beim Auswaschen und Trocknen Aceton verliert. Das gleiche läßt sich aber nicht von dem maßanalytischen Verfahren nach Monimart sagen, wonach das sog. Mercuriacetonsulfat nach dem Auswaschen und dem Zersetzen mit Lauge in schwefelsaurer Lösung erhitzt und das freigemachte Aceton abdestilliert wird; nach der Umsetzung mit Jodlösung wird mit Thiosulfat zurücktitriert. Anstatt das Aceton direkt aus dem Harn abzudestillieren, wird somit ein zweifellos nicht einheitlich zusammengesetzter Niederschlag verarbeitet; überdies muß die Acetonmenge aus dem Verbrauch an Thiosulfat unter Verwendung verschiedener Faktoren berechnet werden. Selbst wenn dieses auch bei Gegenwart von Äthylalkohol anwendbare Verfahren zuverlässig wäre, so verbietet sich dessen Anwendung schon infolge der umständlichen Versuchsanordnung, ganz abgesehen davon, daß längst einfachere und bessere Methoden zur Verfügung stehen. Die gebräuchlicheren darunter sind jene auf der Jodoformbildung beruhenden. Von den gravimetrischen Verfahren möchte ich das von Merck angegebene hervorheben, wonach das acetonhaltige Destillat während 8 Stunden mit stark alkalischer Hydroxylaminlösung stehen gelassen wird; nach dem Neutralisieren der Oximlösung mit Salzsäure verdampft man zur Trockne, nimmt den Rückstand mit Äther auf, verdunstet die ätherische Lösung und wägt das verbleibende Oxim. Zur genauen Bestimmung kleiner Acetonmengen eignet sich nach Späth dieses Verfahren nicht. Wohl aber kann die Oximbildung zur Grundlage einer einfachen, allgemein anwendbaren volumetrischen Methode dienen, wenn man in nachstehender Weise verfährt.

#### Bestimmung von Aceton durch Hydroxylamin.

Prinzip. Das durch Destillation von dem Harn getrennte Aceton wird mit einem mineralsauren Hydroxylaminsalz in Acetoxim übergeführt, z. B.  $(\text{CH}_3)_2\text{CO} + \text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl} = (\text{CH}_3)_2\text{C}:\text{NOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{HCl}$ ; die frei-

gewordene Mineralsäure wird mit Normallauge titriert unter Verwendung von Methylorange (1 : 1000 Wasser) als Indikator.

Vorversuche. Jedem Teil Aceton entsprechen theoretisch 1,2 Teile  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  bzw. 1,4 Teile  $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ ; bei den folgenden Versuchen wurde meist das Verhältnis 1 : 2 eingehalten, das im allgemeinen als genügend erachtet werden konnte. Die Aminlösung wurde zuvor neutralisiert; auf 1 g Amin waren hierzu etwa 1,3 ccm  $n/_{10}$  NaOH erforderlich. Bei einer Versuchsreihe, bestehend aus neun Versuchen mit 0,05 g, 0,1 g und 0,5 g Aceton in 100 ccm, 250 ccm und 500 ccm Wasser, einstündiger Destillationsdauer bei Vorlage von Hydroxylaminhydrochlorid, trafen bei direkter Titration bis zum Endpunkt, bei welchem nach  $\frac{1}{4}$  stündigem Stehenlassen keine Rötung mehr eintrat, im Mittel 17,0 ccm, 16,9 ccm bzw. 17,1 ccm  $n/_{10}$  NaOH auf je 0,1 g Aceton. Weitere neun Versuche mit 0,05 g, 0,1 g und 0,2 g Aceton unter Vorlage von Hydroxylaminsulfat beanspruchten bei sonst gleichen Bedingungen 17,0 ccm, 17,1 ccm bzw. 16,95 ccm  $n/_{10}$  NaOH. Aus dem Gesamtmittel von 17,0 ccm NaOH berechnen sich 0,0987 g Aceton; die gefundene Acetonmenge stimmt somit mit der berechneten, d. h. zugesetzten, gut überein, zumal wenn man die unvermeidlichen Versuchsfehler berücksichtigt. Weitere Versuche betrafen die Reaktionsgeschwindigkeit und insbesondere die Feststellung des Endpunktes der Umsetzung. Zu diesem Zwecke wurden auf der Handwaage gewogene Mengen Hydroxylaminsalz (Chlorid bzw. Sulfat) in verschließbarem Kolben in 100 ccm Wasser gelöst und nach Neutralisation mit bestimmten Mengen Aceton bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach gewissen Zeiten erfolgte die Titration mit  $n/_{10}$  Lauge, von welcher schließlich ein Überschuß von wenigen ccm zugegeben und mit Säure zurücktitriert wurde, was gleichzeitig den Vorteil des Titrierens von gelb auf rot bietet. Aus der Reihe der einschlägigen Versuche seien die bemerkenswerteren hervorgehoben.

Tabelle I.

g Aceton	0,05		0,1		0,2	
	ccm	%	ccm	%	ccm	%
$n/_{10}$ NaOH nach						
5'	5,7	67	12,9	75	29,0	85
10'	1,8	21	2,7	16	2,9	8
20'	0,6	7	1,1	6	1,5	4
30'	0,2	2,5	0,3	2	0,5	1,5
Rücktitration nach						
5'	0,2	2,5	0,2	1	0,5	1,5
	8,5		17,2		34,4	

Nach Tabelle I ist die Reaktion um so früher beendet, je mehr man Sorge trägt, die freigewordene Säure zu neu-

tralisieren, auch nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit, hier ausgedrückt durch die abgerundete Prozentzahl, mit dem Acetongehalt zu.

Tabelle II.

g Aceton	0,05		0,1		0,2		0,3							
g Sulfat	0,1		0,2	0,4	0,4	0,5	0,6							
$n_{/10}$ NaOH nach 15'	ccm 6,3	% 73	ccm 6,5	% 76	ccm 13,0	% 75	ccm 16,5	% 96	ccm 30,0	% 88	ccm 47,0	% 91	ccm 48,0	% 93
Rücktitration nach 5'	1,45	17	—	—	—	—	0,75	4	—	—	3,35	7	—	—
15'	0,5	6	1,0	11	2,0	12	0	0	3,5	10	0,65	1	3,0	6
30'	—	—	1,1	13	2,3	13	—	—	0,5	2	—	—	0,3	1
18 Stunden	0,35	4	—	—	—	—	0	0	—	—	0,6	1	—	—
	8,6		8,6		17,3		17,25		34,0		51,6		51,3	

Tabelle II läßt fernerhin den die Reaktion beschleunigenden Einfluß der größeren Oximenge sowie des Laugenzusatzes erkennen, der hier nur 2—5 ccm  $n_{/10}$  betrug.

Tabelle III.

g Aceton	0,05		0,1		0,2		0,3	
$n_{/10}$ NaOH nach 30'	ccm 6,1	% 72	ccm 14,5	% 84	ccm 33,0	% 96	ccm 49,0	% 96
Rücktitration nach 30'	2,4	28	2,7	16	1,2	4	1,8	4
	8,5		17,2		34,2		50,8	

Bei Tabelle III vollzog sich die Reaktion trotz des nur geringen Oximüberschusses zum Teil unter dem Einfluß von 10 ccm  $n_{/10}$  Lauge innerhalb einer Stunde. Nach diesen Versuchen wären die Reaktionsbedingungen, über welche in unserem Schrifttum nähere Angaben fehlen, im wesentlichen festgestellt.

Nunmehr wurde das Verhalten des Harns bei der Destillation geprüft, die zwecks Vermeidung einer alkalischen Reaktion des Destillates aus saurer Lösung zu erfolgen hat. Oxalsäure und insbesondere Borsäure erwiesen sich hierbei als

ungeeignete Säuerungsmittel, wogegen mit Schwefelsäure ein Destillat erhalten wurde, das direkt mit dem Oxim umgesetzt werden konnte. 200 ccm Harn gaben nach Zusatz von 10 bzw. 20 ccm Schwefelsäure 15 %, was einem 5—10fachen Überschusse entsprach, ein Destillat von je 100 ccm, dessen eine Hälfte mit Phenolphthalein 1,1 bzw. 1,0 ccm  $n_{10}$  NaOH ( $\text{CO}_2$ !) verbrauchte, dessen andere Hälfte mit Methylorange schon durch 1 Tropfen  $n_4$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  gerötet wurde. Daß bei dieser Destillationsart mit dem Aceton auch etwa vorhandene Acetessigsäure übergeht und mit bestimmt wird, darf als bekannt vorausgesetzt werden; bei dem genetischen Zusammenhang und der prognostischen Bedeutung dieser Acetonkörper dürfte deren gemeinsame Bestimmung vielfach nicht unerwünscht sein.

**Ausführung.** Zur Bestimmung des Acetons versetzt man 100 bis 500 ccm Harn in einem mit Aufsatz versehenen Kolben mit 10—20 ccm Schwefelsäure 15 %, d. h. bis zur starken Rötung von Methylorange, und destilliert unter Zusatz einiger Bimssteinstückchen unter Kühlung während  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde 50—100 ccm ab. Als Vorlage benutzt man einen luftdicht angeschlossenen, seitlich mit zwei Kugeln versehenen Erlenmeyer-Kolben, eine Apparatur, wie sie auch bei der Ammoniakdestillation Verwendung findet; in der Vorlage löst man zuvor 0,5—1 g Hydroxylaminsalz in 20 bis 30 ccm Wasser und neutralisiert die Lösung unter Zusatz von 1 Tropfen Methylorange. Das Destillationsrohr taucht am besten in die Oximlösung ein, doch ist dies bei langsamer Destillation nicht unbedingt erforderlich. Nach insgesamt einstündiger Reaktionsdauer wird das Destillat unter Zusatz von weiteren 2—3 Tropfen Methylorange mit  $n_{10}$  Lauge erst bis zur neutralen Reaktion versetzt und hernach mit einem Überschuß von 10 bis 20 ccm Lauge  $\frac{1}{2}$  Stunde stehen gelassen; durch Rücktitration erfährt man den Gesamtverbrauch an Lauge, woraus sich die Acetonmenge berechnet.

**Berechnung.**  $58,06 \text{ g Aceton} = 36,47 \text{ g HCl} = 40,06 \text{ g NaOH} = 1000 \text{ ccm } n_1 \text{ Lauge}$ ; 1 ccm  $n_{10}$  Lauge entspricht daher 0,005806 g Aceton.

**Beispiel.** Das Destillat von 200 ccm Harn wurde in einer mit 0,6 ccm  $n_{10}$  NaOH neutralisierten Lösung von 0,5 g  $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$  aufgefangen; es verbrauchte nach einstündiger Destillationsdauer bzw. Umsetzung mit der Oximlösung sofort 33,6 ccm, bei der Rücktitration nach  $\frac{1}{4}$  Stunde endgültig 34,0 ccm  $n_{10}$  NaOH. Ein Parallelversuch unter Vorlage von 1 g Amin beanspruchte 33,9 ccm, endgültig 34,2 ccm Lauge.

Der Acetongehalt berechnet sich auf  $\frac{34,1}{2} \cdot 0,005806 = 0,099 \text{ g}$  in 100 ccm Harn; zugesetzt waren 0,2 g Aceton.