

HOPPE-SEYLER'S ZETTSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

E. ABDERHALDEN-Halle, SVANTE ARRHENIUS-Stockholm, G. v. BUNGE-Basel, O. COHNHEIM-Hamburg, A. ELLINGER-Frankfurt a. M., H. EULER-Stockholm, EMIL FISCHER-Berlin, H. FISCHER-München, R. GOTTLIEB-Heidelberg, W. v. GULEWITSCH-Moskau, O. HAMMARSTEN-Upsala, S. G. HEDIN-Upsala, V. HENRIQUES-Kopenhagen, G. HOPPE-SEYLER-Kiel, R. KOBERT-Rostock, L. KRÉHL-Heidelberg, Wm. KÜSTER-Stuttgart, CARL TH. MÖRNER-Upsala, K. A. H. MÖRNER-Stockholm, F. v. MÜLLER-München, C. A. PEKELHARING-Utrecht, F. PREGL-Graz, E. SALKOWSKI-Berlin, M. SIEGFRIED-Leipzig, S. P. L. SÖRENSEN-Kopenhagen, H. STEUDEL-Berlin, H. THIERFELDER-Tabingen, R. WILLSTÄTTER-München, A. WINDAUS-Göttingen, E. WINTERSTEIN-Zürich, R. v. ZEYNEK-Prag

herausgegeben von

A. KOSSEL,

Professor der Physiologie in Heidelberg

Sechshundneunzigster Band:

Sechstes Heft.

(Schluß des Bandes.)

(Ausgegeben am 21. März 1916.)

Mit einer Abbildung im Text.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1916.

SECHSUNDNEUNZIGSTER BAND, SECHSTES HEFT.

Inhalt.

	Seite
Salkowski, E. Über die Zerstörung der organischen Substanz des Harns durch Wasserstoffsperoxyd und die Bestimmung des Neutralschwefels	323
Schumm, O. Ein Apparat zur Harnstoffbestimmung im Liquor cerebrospinalis. Mit einer Abbildung im Text	335
Lifschütz, J. Zur Kenntnis des Oxycholesterins und seiner Ester	342
Riesser, Otto. Beiträge zur Frage der Ameisensturebildung und -Ausscheidung. I. Die Bestimmung der Ameisensäure in reinen Lösungen sowie im Harn, nebst einem neuen Verfahren zur Titration des Kalomels	355

Für die nächsten Hefte sind Arbeiten eingegangen von:

A. Zlataroff, O. Schumm, H. Fischer, E. Sieburg, P. Pfeiffer und J. Würzler, H. Wieland und H. Sorge.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie erscheint in Bänden von 6 oder mehr Heften, im Gesamtumfang von 23 bis 25 Bogen. Preis des Bandes 12 Mark.

Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in der Regel am Schluß des Heftes und außerhalb der Reihenfolge des Eingangsdatums mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 25 Mark. Von jeder Arbeit werden dem Verfasser 75 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

In bezug auf die Rechtschreibung der Fachausdrücke sind bis auf weiteres die Publikationen der Deutschen chemischen Gesellschaft maßgebend. In zweifelhaften Fällen wird der etymologische und internationale Standpunkt vor dem honetischen bevorzugt.

Über die Zerstörung der organischen Substanz des Harns durch Wasserstoffsuperoxyd und die Bestimmung des Neutralschwefels.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 14. Januar 1916.)

Vor einigen Jahren¹⁾ habe ich mitgeteilt, daß ich bei der Untersuchung des Harns auf Quecksilber die organische Substanz durch H_2O_2 zerstört habe, ohne indessen auf diesen Punkt näher einzugehen. Als Beispiel führte ich damals (l. c. S. 392) an:

«500 ccm Kaninchenharn mit Salzsäure bis zu stark saurer Reaktion versetzt, werden zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad bis auf wenige Kubikzentimeter eingedampft, während des Eindampfens wiederholt H_2O_2 hinzugesetzt.»

Besser als durch das damals angegebene Verfahren gelingt die Zerstörung der organischen Substanz, wenn man statt des gewöhnlich gebrauchten 3%igen H_2O_2 und des allmählichen Zusatzes 30%iges verwendet und von vornherein eine genügende Menge hinzusetzt. Für 500 ccm menschlichen Harns fand ich 20—25 ccm H_2O_2 ausreichend. Man kann indessen auch 200 ccm des 3%igen anwenden, was bei dem hohen Preise des 30%igen vorzuziehen ist: es wird dadurch nur eine geringe Verzögerung der Operation verursacht.

Dampft man 500 ccm mit 2 ccm Salzsäure versetzten menschlichen Harn nach dem Zusatz von 200 ccm 3%igen H_2O_2 zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad ein, so hinterbleibt schließlich eine gelblichweiße schaumige Masse ohne äußerlich erkennbaren Flüssigkeitsrest, die sich in Wasser zu einer schwach gelblichen, bezw., wenn man das Volumen

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 72, S. 387 (1911).

von 500 ccm wieder herstellt, fast farblosen, leicht getrübbten Flüssigkeit auflöst. Diese Angaben beziehen sich auf Harn von etwa 1016 D, selbstverständlich erfordert konzentrierterer Harn einen größeren Zusatz an H_2O_2 , bezw. vorherige entsprechende Verdünnung.

Den Salzsäurezusatz habe ich bei der Untersuchung auf Quecksilber gemacht, um eine Verflüchtigung von Quecksilber zu verhüten, es hat sich indessen gezeigt, daß er auch die Oxydation befördert oder mindestens die Entfärbung. Selbstverständlich ist dabei vorausgesetzt, daß das H_2O_2 nicht durch langes Aufbewahren eine Verminderung seiner Konzentration erlitten hat.

Als Vorzug dieses Verfahrens vor der Zerstörung mit Salzsäure + $KClO_3$ ist anzusehen, daß man die lästigen «Chlor-dämpfe» los wird, obwohl dieser Vorzug nicht hoch anzuschlagen ist, wenn man über einen gutziehenden Abzug verfügt und Salzsäure und Kaliumchlorat nicht portionsweise hinzusetzt, wie die übliche Vorschrift lautet, sondern von vornherein die erforderlichen Mengen, wie ich¹⁾ vorgeschlagen habe. Für den 24stündigen Kaninchenharn fand ich — um hieran noch einmal zu erinnern, 7—8 g $KClO_3$ und 15 ccm Salzsäure von 1,125 D ausreichend, für 500 ccm menschlichen Harn — immer ein spezifisches Gewicht von etwa 1016 vorausgesetzt — 20 g $KClO_3$ und 40 ccm Salzsäure.

Ein Vorzug des H_2O_2 -Verfahrens liegt darin, daß die Oxydation vollständiger ist, als mit $KClO_3$ + Salzsäure, wenigstens insoweit man aus der Entfärbung Schlüsse ziehen kann: niemals gelingt es bei völligem Eindampfen des mit $KClO_3$ und Salzsäure versetzten Harns eine gelblich-weiße Masse zu erhalten, was bei Anwendung von H_2O_2 die Regel ist, immer ist die zurückbleibende Masse mehr oder weniger bräunlich gefärbt — mag man nach der einen oder anderen Vorschrift verfahren —, vermeiden läßt sich die Braunfärbung nur, wenn man nicht so weit eindampft. Natürlich bleibt dann auch mehr organische Substanz unangegriffen.

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 61, S. 27 (1914).

Ganz vollständig zerstört, wie etwa beim Kjeldahl-Verfahren, wird die organische Substanz durch Eindampfen mit H_2O_2 , allerdings auch nicht. Nach Reale¹⁾ wird durch Eindampfen mit H_2O_2 unter bestimmt eingehaltenen Bedingungen nur ein gewisser Teil des Kohlenstoffs des Harns zerstört, ein anderer bleibt unangegriffen. Reale bezeichnet diesen letzteren Teil als stabilen Kohlenstoff, den ersteren als labilen, und hat Untersuchungen über das Mengenverhältnis dieser beiden Kohlenstoff-Formen bei verschiedener Ernährung usw. angestellt. Dabei beschränkt sich Reale allerdings auf Wasserbadtemperatur und gibt selbst an, daß beim Erhitzen auf freier Flamme auch Harnstoff angegriffen wird.

Nach Versuchen, die ich über den Umfang der Zerstörung bei meinem Verfahren angestellt habe, bleibt ein Teil des Harnstoffs wohl stets unangegriffen, auch Kreatinin ist noch reichlich in dem Abdampfungsrückstand vorhanden, dagegen konnte ich Harnsäure nicht darin nachweisen oder höchstens zweifelhafte Spuren, ebensowenig Hippursäure. Zur Untersuchung auf diese wurde der Rückstand in der Abdampfschale mit Alkohol ausgezogen — es blieben nur anorganische Substanzen ungelöst —, der Alkoholauszug verdunstet, Rückstand in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure stark angesäuert und erschöpfend mit Äther behandelt. Der Ätherauszug hinterließ beim Verdunsten eine ganz geringe Quantität einer zähen, gelblichen Masse. Diese wurde, da sie nicht krystallisierte, mit Salpetersäure von 1,48 D auf dem Wasserbad erhitzt, dann mit Ätzkalk verrieben. Beim Erhitzen dieser Mischung in einem trocknen Reagenzglas trat schwacher Geruch nach Nitrobenzol auf.

Damit stimmen auch Versuche mit den betreffenden Harnbestandteilen selbst überein. Sie wurden folgendermaßen angestellt. Kleine Proben der betreffenden Substanzen wurden in Wasser gelöst bzw. suspendiert, mit Salzsäure schwach angesäuert, etwa das halbe Volumen H_2O_2 (30%ig) hinzugesetzt und zum Sieden erhitzt, die Dämpfe bzw. Gase in Barytwasser geleitet. Es zeigte sich, daß die Harnsäure reichlich

¹⁾ Reale, Bioch. Zeitschr., Bd. 47, S. 439 (1913).

CO₂ abgibt,¹⁾ weniger das Kreatinin, noch weniger der Harnstoff. Betreffs dieser Körper besteht also, soweit man aus qualitativen Versuchen schließen kann, Übereinstimmung mit dem Verhalten des Harns, nur die Hippursäure erwies sich resistenter, als nach ihrem Verhalten im Harn anzunehmen war. Dabei kommt aber in Betracht, daß die Quantität der Hippursäure in dem angewendeten Harn jedenfalls sehr gering war.

Ich sagte oben, daß die Oxydation mit H₂O₂ weiter gehe, als die mit KClO₃+Salzsäure. Diese Angabe gründet sich außer dem bisher Mitgeteilten auch auf das Verhalten der bei der Oxydation mit KClO₃+Salzsäure ausgeschiedenen harzigen Massen zu H₂O₂.

Von einer Reihe derartiger Oxydationen hatte ich die harzigen Massen gesammelt, auf dem Filter gut ausgewaschen, dann in Natronlauge aufgelöst. Eine Quantität dieser Lösung wurde der freiwilligen Verdunstung überlassen, wobei das Natronhydrat ganz oder größtenteils in Na₂CO₃ überging. Von der trockenen zerriebenen Masse wurde 1 g in einigen Kubikzentimetern Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, die CO₂ durch Erhitzen entfernt. Um der vollständigen Entfernung der CO₂ sicher zu sein, wurde das betreffende Kochgefäß (Erlenmeyer-Kölbchen oder besonders großes Reagenzglas) mit einer Barytwasser enthaltenden Vorlage verbunden: bei erneutem Erhitzen trat keine Ausscheidung von BaCO₃ ein. Nunmehr wurde etwa 1 ccm H₂O₂ (30%ig) hinzugesetzt und aufs neue erhitzt: es trat eine reichliche Ausscheidung von BaCO₃ ein. Der Versuch wurde mehrmals mit demselben Erfolge wiederholt.

Um eine Vorstellung darüber zu gewinnen, wieviel organische Substanz in dem beschriebenen Versuch zur Anwendung gekommen war, wurde der Wasser- und Aschengehalt der betreffenden Substanz bestimmt. Die Substanz wurde bei 160° getrocknet. Eine so hohe Temperatur schien mir erforderlich, um das krystallwasserhaltige Natriumcarbonat einigermaßen vollständig zu entwässern. Eine Zersetzung der orga-

¹⁾ Ohta, der kürzlich (Bioch. Zeitschr., Bd. 47, S. 433) den Abbau der Harnsäure durch H₂O₂ bei Gegenwart von Eisenchlorid untersucht hat, berührt die Frage einer etwaigen Abspaltung von CO₂ nicht.

nischen Substanz war dabei wohl nicht zu befürchten; in der Tat erschien die Substanz nach dem Erhitzen auch äußerlich ganz unverändert.

1,1904 g wogen nach dem Trocknen 0,9386 g, der Aschengehalt in der üblichen Weise bestimmt, betrug 0,8126 g, die angewendete Substanz enthielt also 0,126 Verbrennliches = 13,42%. In dem zur Oxydation mit H_2O_2 verwendeten 1 g Substanz war also nur 0,1342 organische Substanz zur Anwendung gekommen. Im Verhältnis zu dieser sehr kleinen Menge war die CO_2 -Entwicklung durch H_2O_2 recht erheblich.

Es schien mir von Interesse, den Stickstoffgehalt der Substanz kennen zu lernen.

1. 0,7800 g entsprechend 0,1045 organische Substanz enthielt nach Kjeldahl (mit $CuSO_4 + HgO$ oxydiert) 0,00686 N = 6,56% der organischen Substanz.

2. 0,8530 g entsprechend 0,1143 organischer Substanz enthielt 0,00798 N = 6,98% der organischen Substanz.

Es fragte sich nun noch, wie sich der Neutralschwefel verhält. Kann vielleicht die Oxydation mit H_2O_2 , da sie ja augenscheinlich sehr weit geht, an die Stelle der üblichen Bestimmung des Gesamtschwefels bzw. Neutralschwefels treten?

Über diese Frage, deren Bejahung augenscheinlich eine wesentliche Erleichterung des analytischen Verfahrens bedeuten würde, wurden folgende Versuche angestellt.

Normaler Harn von 1016 D.

1. Die Gesamtschwefelbestimmung aus 50 ccm, unter Anwendung von 25 g reiner Salpetermischung und dreimaligem Abdampfen der Schmelze bzw. der filtrierten Lösung derselben mit je 100 ccm absolut schwefelsäurefreier, nochmals destillierter Salzsäure ausgeführt, ergab für 100 ccm 0,4204 g $BaSO_4$.

2. Die Gesamtschwefelsäurebestimmung ergab für 100 ccm 0,3254 $BaSO_4$, also 0,0954 $BaSO_4$ aus Neutralschwefel = 22,6% des Gesamtschwefels. ¹⁾

¹⁾ Diese Zahl ist nicht unerheblich höher, als die in meinen früheren Bestimmungen erhaltene. Die Erklärung liegt in dem stärkeren Vorwalten der Pflanzenkost, unter der namentlich Weißkohl vertreten war. Auf diesen Punkt komme ich bei einer anderen Gelegenheit noch zurück.

3. 500 ccm desselben Harns wurden — diesmal ohne Salzsäurezusatz — mit 200 ccm 3%igem H_2O_2 eingedampft, mit Wasser aufgenommen, der hartnäckig persistierende Schaum durch etwas Alkohol beseitigt, auf 500 ccm aufgefüllt, von einer geringen Trübung durch ein trockenes Filter abfiltriert.

100 ccm dieses Filtrats gaben mit 10 ccm Salzsäure zum Sieden erhitzt usw. 0,3506 $BaSO_4$.

Wiederholung an einem anderen normalen Harn:

1. Gesamtschwefel . . . = 0,4092 $BaSO_4$ aus 100 ccm,

2. Gesamtschwefelsäure = 0,328 » » » »

also neutraler Schwefel = 0,0812 = 19,8%.

3. 500 ccm mit 200 ccm H_2O_2 , diesmal unter Ansäuern mit 2 ccm Salzsäure, im übrigen ebenso verfahren

100 ccm gaben 0,3420 $BaSO_4$.

In beiden Fällen hat also die Schwefelsäure des Harns einen Zuwachs erfahren, aber lange nicht bis zu dem Betrage des Gesamtschwefels. Daraus geht hervor, daß die Oxydation mit H_2O_2 mit oder ohne Zusatz von Salzsäure zur Bestimmung des Gesamtschwefels unbrauchbar ist. Ich erwartete nun den Neutralschwefel in den betreffenden Filtraten zu finden. In dieser Erwartung sah ich mich aber getäuscht.

Das Filtrat wurde auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Na_2CO_3 alkalisiert, mit Salpetermischung geschmolzen, die Lösung der Schmelze vom $BaCO_3$,¹⁾ abfiltriert und gut ausgewaschen, Filtrat + Waschwasser dreimal mit je 100 ccm reinsten Salzsäure zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, von etwas ausgeschiedener Kieselsäure abfiltriert und nachgewaschen. Die Lösung, deren Volumen etwa 150 bis 200 ccm betrug, blieb nach Zusatz von Baryumchlorid ganz klar, auch nach 24 Stunden hatte sich nichts abgeschieden.

Zwei andere Harne zeigten dasselbe Verhalten.

Daraus geht hervor, daß der Neutralschwefel zwar vollständig durch H_2O_2 oxydiert wird, aber nur ein Teil zu Schwefelsäure, ein anderer zu einem nicht durch $BaCl_2$ fällbaren Oxydationsprodukt, das kaum etwas anderes sein kann als SO_2 . Ob diese Oxydation gleich beim Eindampfen des Harns

¹⁾ Der Rückstand enthielt kein Baryumsulfat.

mit H_2O_2 stattfindet oder erst beim Eindampfen des Filtrates aus der Schwefelsäurebestimmung, muß dahingestellt bleiben. Die Frage bietet wenig Interesse, die Entscheidung würde auch nicht so einfach sein, da das Filtrat aus der Schwefelsäurebestimmung immer noch H_2O_2 enthält, das also vor dem Eindampfen in einwandfreier Weise entfernt werden müßte.

Ich möchte hieran noch eine Bemerkung über die Bestimmung des Neutralschwefels überhaupt knüpfen. In der Regel wird man zur Bestimmung desselben so zu Werk gehen, wie ich es oben angegeben habe, um einen Teil der Salzsäure los zu werden, da im anderen Falle, d. h. bei sofortigem Neutralisieren die dabei entstandene relativ große Quantität an Chlornatrium sich beim Schmelzen mit Salpetermischung unliebsam bemerkbar macht. Es fragt sich, ob bei diesem Verfahren nicht auch, ähnlich wie bei dem mit H_2O_2 behandelten Harn ein Verlust an Schwefel stattfinden kann. Sicher ist dies natürlich bei solchem Harn der Fall, der Thiosulfat enthält, aber auch sonst liefert Harn bei weitgehendem Erhitzen mit Salzsäure bekanntlich schweflige Säure, es fragte sich, ob der Verlust nicht so groß sein kann, daß er sich analytisch bemerkbar macht.

Das Filtrat von der Schwefelsäurebestimmung des Harns I (d. h. der nicht mit H_2O_2 behandelten 100 ccm) wurde stark eingedampft. Es schied sich ein Niederschlag aus, der abfiltriert, ausgewaschen usw. 0,0028 g betrug. Filtrat + Waschwasser davon wurden in der üblichen Weise verarbeitet. Erhalten 0,0563 g, zusammen mit den obigen 0,0028 also 0,0591 g. Dagegen hat die Rechnung BaSO_4 aus Gesamtschwefel minus BaSO_4 aus Schwefelsäure (0,4284 minus 0,3254) · 0,0950 ergeben, also erheblich mehr.

Bei einem zweiten normalen Harn ergab sich

BaSO_4 aus Gesamtschwefel 0,3412

» Schwefelsäure 0,2909

also BaSO_4 aus Neutralschwefel 0,0503 g,

dagegen gab die direkte Bestimmung des Neutralschwefels im Filtrat von der Schwefelsäure nur 0,0414 g. In diesem Falle ist die Differenz allerdings nicht so groß, aber doch merklich.

Ich würde danach raten, die Bestimmung des Neutralschwefels aus dem Filtrat von der Schwefelsäurebestimmung ganz fallen zu lassen und denselben stets aus der Differenz zwischen Gesamtschwefel und Gesamtschwefelsäure zu berechnen. Die Fälle, in denen man nur an der Bestimmung des Neutralschwefels Interesse hat, werden wohl sehr selten sein. Dann aber würde es richtig sein, das Filtrat aus der Schwefelsäurebestimmung, die ja nicht bis zu Ende quantitativ durchgeführt zu werden braucht, bei alkalischer Reaktion, also nach dem Alkalisieren mit reinstem Na_2CO_3 einzudampfen, um vor einem Verlust von Schwefel in Form von schwefliger Säure sicher zu sein. Die Bildung einer relativ erheblichen Quantität von Chlornatrium müßte man dann mit in den Kauf nehmen.¹⁾

Ich kehre nun zu der Anwendung des H_2O_2 als Oxydationsmittel überhaupt zurück.

Zu beachten ist für manche Fälle, daß der Verdampfungsrückstand nicht selten, vielleicht immer, noch H_2O_2 enthält, namentlich bei Anwendung des 30%igen Wasserstoffsuperoxyds, das unter Umständen störend sein kann.

Auf diese Tatsache wurde ich aufmerksam bei der Anwendung des Verfahrens zum Nachweis von Quecksilber. Als ich zu diesem Zweck die Kupferblechstreifen in die sogenannte Endlösung einlegte, zeigte sich die eigentümliche Erscheinung, daß sie mehr oder weniger angegriffen wurden, ja manchmal sich unter starker Gasentwicklung lösten, wodurch der Nachweis von Quecksilber vereitelt wurde. Ich dachte anfangs, daß die Auflösung auf durch das Wasserstoffsuperoxyd aus irgendwelchen stickstoffhaltigen Substanzen gebildeter Salpetersäure beruhen könnte. Der Umstand, daß sich bei der Auflösung keine nitrosen Dämpfe entwickeln, würde sich ja leicht durch

¹⁾ Salomon und Saxl (Bioch. Zentralbl., Bd. 11, S. 645, Referat aus der Wiener klinischen Wochenschrift, Bd. 24, S. 949 (1911) haben angegeben, daß bei einer unter bestimmten Verhältnissen angestellten Behandlung des Harns mit H_2O_2 nur der Harn von Carcinomatösen in der Regel Schwefelsäure liefert, der Harn von Gesunden nicht. Die Angaben sind nicht ohne Widerspruch geblieben. Mangels eigener Versuche steht mir ein Urteil darüber nicht zu.

den Gehalt der Flüssigkeit an Harnstoff erklärt haben. Tatsächlich löst sich Kupfer in harnstoffhaltiger Salpetersäure unter Entwicklung von Stickstoff. Aus praktischen Gründen empfiehlt sich, nebenbei bemerkt, zur Demonstration der Einwirkung von salpetriger Säure auf Harnstoff bei den Übungen der Laboranten Kupfer statt Quecksilber anwenden zu lassen. In der anfänglichen Vermutung, daß sich Salpetersäure gebildet haben könnte, bestärkte mich der Umstand, daß in solchen Fällen die sogenannte «Endlösung» mit diphenylaminhaltiger Schwefelsäure intensive Blaufärbung gab. Daß H_2O_2 dies auch tut, war zur Zeit der Anstellung meiner Versuche nicht bekannt. Die betreffende Angabe ist erst etwas später von Lutschinsky¹⁾ gemacht worden. Da die Bildung von Salpetersäure durch H_2O_2 immerhin wenig wahrscheinlich war, kam ich schon damals, unabhängig von den Angaben Lutschinskys, auf die Vermutung, daß das Wasserstoffsperoxyd durch das Eindampfen nicht vollständig entfernt sei und sich in die alkoholisch-ätherische Lösung und von dieser in die «Endlösung» hindurch geschleppt haben könnte und daß hierauf die Diphenylaminreaktion beruhen möchte. Die Anwesenheit von H_2O_2 ließ sich dann leicht durch die katalytische Einwirkung auf Blut feststellen und ebenso dadurch, daß Wasserstoffsperoxyd in der Tat Diphenylaminreaktion gibt.

Es seien mir noch einige Worte bezüglich dieser Reaktion gestattet. In einer Abhandlung von Kehrman und Mieczewicz²⁾ heißt es: «Die genannten Autoren (nämlich Merz und Weith, sowie E. Kopp) haben bereits beobachtet, daß auch andere Oxydationsmittel, wie CrO_3 , PbO_2 , MnO_2 usw. die Blaufärbung hervorrufen, wenn sie zu einer Lösung von Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure hinzugesetzt werden», allein an der von Kehrman und Mieczewicz als Belag zitierten Stelle³⁾ ist nur von Salpetersäure und salpetriger Säure die Rede, nicht von anderen Oxydationsmitteln. Es ist ja mög-

¹⁾ J. Lutschinsky, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 52, S. 319 (1913), referiert aus der Chemikerzeitung, Bd. 36, S. 1239.

²⁾ Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 45, S. 2461 (1914).

³⁾ Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 5, S. 283 und 284 (1872).

lich, daß sich Merz und Weith, sowie E. Kopp irgendwo anders in dem von den genannten Autoren angegebenen Sinne geäußert haben, an der zitierten Stelle ist aber jedenfalls davon nichts zu finden, die Beobachtung muß also Lutschinsky zugeschrieben werden.

Daß die «Endlösung» keine Salpetersäure enthält, konnte ich dadurch erweisen, daß ich die saure Flüssigkeit mit Natriumcarbonat alkalisierte, völlig zur Trockene dampfte und das Abdampfen nach Zusatz von Wasser noch einmal wiederholte. Die Lösung des jetzt erhaltenen Rückstandes gab nunmehr mit diphenylaminhaltiger Schwefelsäure keine Reaktion mehr.

Nachdem die Anwesenheit von H_2O_2 in der «Endlösung» nachgewiesen war, lag es bei den stark oxydierenden Eigenschaften desselben nahe, die Auflösung des Kupfers hierauf zu beziehen. Ein Versuch mit H_2O_2 -haltiger Salzsäure und verdünnter Schwefelsäure bestätigte alsbald, daß sie imstande sind, Kupfer zu lösen.

Für den Nachweis des Quecksilbers darf also die Endlösung keine irgend wesentliche Quantität von H_2O_2 enthalten. Bei dem ursprünglichen Verfahren des allmählichen Zusatzes von 3%igem Wasserstoffsuperoxyd ist dies auch nicht zu befürchten. Die geringe Menge von H_2O_2 , die sich dabei mitunter noch in der Endlösung findet, beeinträchtigt den Nachweis nicht. Dagegen ist bei der unter Anwendung von 30%igem H_2O_2 , sowie bei einmaligem Zusatz der angegebenen Quantität von 3%igem H_2O_2 stets auf die mögliche Anwesenheit von H_2O_2 Rücksicht zu nehmen. Wenn ein Tropfen der Endlösung mit diphenylaminhaltiger Schwefelsäure deutliche Blaufärbung gibt, muß das H_2O_2 entfernt werden. Hierzu diene längeres Erwärmen mit Mangansuperoxyd auf dem Wasserbad, die Gegenwart von Mangan im Filtrat beeinträchtigt den Quecksilbernachweis nicht. — Ob auch für andere analytische Zwecke die Entfernung des überschüssigen H_2O_2 erforderlich und die Anwendung von Mangansuperoxyd hierzu geeignet ist, kann hier unerörtert bleiben.

Für den Nachweis von Quecksilber im menschlichen Harn bin ich allerdings wieder zu der Oxydation mit $KClO_3 +$ Salz-

säure zurückgekehrt, die man nach den Erfahrungen von A. Klotz,¹⁾ entsprechend den Angaben von K. A. Hofmann,²⁾ durch Zusatz minimaler Mengen von Osmiumdioxid sehr wesentlich befördern kann. Der Grund, weshalb ich für den menschlichen Harn zu der Oxydation mit $\text{KClO}_3 + \text{HCl}$ zurückgekehrt bin, ist hauptsächlich der, daß ich von diesem Harn bei Kontrollversuchen mit Zusatz minimaler Quecksilbermengen bei Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd entgegen dem Resultat bei Anwendung von $\text{KClO}_3 + \text{HCl}$ öfters negative Resultate erhielt, während das Verfahren bei Kaninchenharn nie versagte. Eine Erklärung für diese auffallende Erscheinung vermag ich vorläufig nicht zu geben.

Zusammenfassung.

1. Die organische Substanz des menschlichen Harns von mittlerer Konzentration wird weitgehend zerstört, wenn man 500 ccm mit 2 ccm Salzsäure und 200 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad möglichst vollständig verdampft.

2. Die Oxydation geht anscheinend weiter, als die mit Kaliumchlorat + Salzsäure. Dafür spricht einerseits die geringe Färbung des Rückstandes, andererseits die Tatsache, daß die bei dem letzteren Verfahren sich ausscheidenden harzigen Substanzen bei der Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd reichlich Kohlensäure entwickeln.

3. Der möglichst weit eingedampfte Rückstand enthält noch Wasserstoffsuperoxyd, wie u. a. die Blaufärbung mit diphenylaminhaltiger Schwefelsäure beweist. Der Wasserstoffsuperoxydgehalt kann u. a. den Nachweis von Quecksilber vereiteln und auch sonst störend wirken.

4. Der Neutralschwefel wird vollständig oxydiert, jedoch nur ein Teil desselben zu Schwefelsäure, ein anderer, wie es scheint, zu SO_2 .

¹⁾ A. Klotz, Diese Zeitschr., Bd. 92, S. 286 (1914).

²⁾ K. A. Hofmann, Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 45, S. 3329 (1912) und Bd. 46, S. 1657 (1913).

5. Die Bestimmung des Neutralschwefels des Harns im Filtrat der Gesamtschwefelsäurebestimmung ist ganz allgemein, wenn möglich zu vermeiden, der Neutralschwefel vielmehr aus der Differenz zwischen Gesamtschwefel und Gesamtschwefelsäure zu berechnen. Will man den Neutralschwefel allein bestimmen, so muß man das Filtrat von der Schwefelsäurebestimmung vor dem Eindampfen alkalisieren, um die Bildung und das Entweichen von SO_2 zu verhindern.

Anm. bei der Korrektur. Während der Drucklegung ist mir ein anscheinend normaler Harn vorgekommen, der sich etwas abweichend verhielt, insofern der Verdampfungsrückstand mit H_2O_2 nicht gelblich weiß, sondern fast citronengelb gefärbt war.