

Beiträge zur Frage der Ameisensäurebildung und -Ausscheidung.

I. Die Bestimmung der Ameisensäure in reinen Lösungen sowie im Harn, nebst einem neuen Verfahren zur Titration des Kalomels.

Von

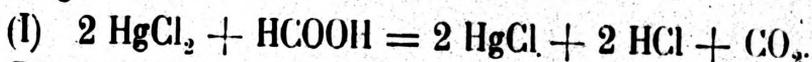
Otto Riesser.

(Aus den pharmakologischen Instituten zu Königsberg und Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. Februar 1916.)

I. Die Bestimmung der Ameisensäure in reinen Lösungen mit Hilfe eines neuen Kalomel-Titrationsverfahrens.

Die zuerst von Porter und Ruysen,¹⁾ dann insbesondere von Scala²⁾ beschriebene, heute allgemein übliche quantitative Bestimmung der Ameisensäure beruht bekanntlich auf der Reduktion von HgCl_2 , das in wässriger, neutraler oder schwach saurer Lösung beim Erhitzen auf dem Wasserbade durch Ameisensäure in unlösliches HgCl übergeführt wird, nach der Gleichung:



Durch Zusatz von Natriumacetat wird die den Reaktionsverlauf störende Wirkung der freien Salzsäure ausgeschaltet. Über die sonstigen optimalen Bedingungen der Reaktion haben zahlreiche Arbeiten, insbesondere die von Fincke,³⁾ sowie von Franzen und seinen Mitarbeitern⁴⁾ ausreichende Klarheit geschaffen. Auf diese Arbeiten sei, auch bezüglich der älteren Literatur, verwiesen.

¹⁾ Compt. rend., Bd. 82, S. 1504 (1876).

²⁾ Gazz. chim. italiana, Bd. 20, S. 393 (1890).

³⁾ Zusammenfassende Arbeit, Bioch. Zeitschr., Bd. 51, S. 253 (1913).

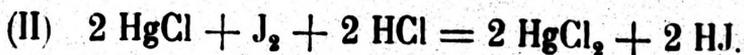
⁴⁾ Franzen und Greve, Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 80, S. 368 (1909). Franzen und Egger, Ebenda, Bd. 83, S. 313 (1911).

Im allgemeinen wird durch Wägung des filtrierten und getrockneten Kalomels auf Grund einfacher Berechnung die Menge der Ameisensäure bestimmt. Dieses Verfahren, das sehr genaue Resultate ergibt, bedingt indessen bei Serienbestimmungen, insbesondere im Stoffwechselfersuch, durch die große Zahl der erforderlichen Wägungen und das Trocknen zur Gewichtskonstanz einen recht erheblichen Zeitaufwand, der besonders da erschwerend ins Gewicht fällt, wo (z. B. bei Bestimmungen im Harn) eine vorherige zeitraubende Isolierung der Ameisensäure aus Gemengen mit anderen Substanzen durch Ätherextraktion und Destillation voraufgehen muß. Es haben daher schon Auerbach und Plüddemann,¹⁾ in Ausgestaltung des von Porter und Ruysen angegebenen Verfahrens, eine Methode vorgeschlagen, die in der Titration des überschüssig angewandten HgCl_2 nach der Reduktion besteht. Aus dem Verlust an HgCl_2 berechnet sich dann leicht die Menge des gebildeten HgCl_2 bzw. der Ameisensäure. Bei diesem Verfahren wird die in bestimmter Menge angewandte HgCl_2 -Lösung von bekanntem Gehalt, nach Abfiltrieren vom Kalomel, solange zu 2 ccm einer JK-Lösung bekannter Konzentration zugetropft, bis gerade ein bleibender Niederschlag von rotem Hg_2J_2 entsteht. Die so gefundenen Zahlen bedürfen allerdings wegen gewisser Komplikationen der Doppelsalzbildung einer empirisch festgestellten und auch theoretisch begründeten Korrektur, die zu genauen Resultaten führt. Obwohl dieses Verfahren zweifellos eine Zeitersparnis bedeutet und auch in der Nachprüfung durch Fincke sich als zuverlässig erwies, hat es sich gegenüber der einfacheren gravimetrischen Methode nicht einbürgern können, die auch heute noch in den Lehrbüchern als einzige Methode angeführt zu werden pflegt.

Ich habe nun neuerdings, in der Absicht, die Bestimmung für Stoffwechselfersuche abzukürzen, ein einfaches titrimetrisches Verfahren ausgearbeitet, das eine direkte Titration des gebildeten Kalomels selbst gestattet. Es beruht auf den Angaben der unter Rupp's Leitung ausgeführten Dissertation von H. Mäder (Königsberg i. Pr. 1913), der die Bedingungen einer

¹⁾ Arb. aus d. kais. Gesundheitsamt, Bd. 30, S. 178 (1909).

schnellen Oxydation und Lösung von Kalomel durch Br_2 in saurer Lösung studiert hat. Genau wie Br_2 vermag aber auch Jod bei Gegenwart von überschüssigem JK in salzsaurer Lösung Kalomel glatt zu HgCl_2 zu oxydieren, nach der Gleichung: \curvearrowright



Die Reaktion verläuft bei gewöhnlicher Temperatur.

Da die Gegenwart von überschüssigem HgCl_2 , sowie von Na-Acetat und NaCl, wie sie zur Bereitung der HgCl_2 -Mischung benötigt wird, die Reaktion in keiner Weise beeinflusst (vorausgesetzt, daß ein Überschuß von JK zugesetzt wird), so braucht man das Kalomel nicht einmal zu filtrieren, sondern kann die Oxydation des HgCl direkt in der Reaktionsflüssigkeit vornehmen. Durch Verwendung einer $1/10$ -n-Jodlösung und Rücktitration mittels $1/10$ -n-Natriumthiosulfat in der üblichen Weise läßt sich die Menge des verbrauchten Jods und damit, nach Gleichung I und II, die Menge des HgCl bzw. der Ameisensäure schnell und bequem feststellen.

Das Verfahren, zunächst an Lösungen reinen Natriumformiat's geprüft, gestaltet sich folgendermaßen.

Versuch I. Angewandt eine Lösung von 0,4002 g reinen, im Vakuum über H_2SO_4 getrockneten ameisen-sauren Natriums¹⁾ in 200 ccm Wasser.

10 ccm dieser Lösung, mit einem Gehalt von 0,0135 g Ameisensäure, werden in einem Erlenmeyer-Kolben von 200 ccm Inhalt mit ca. 20 ccm Wasser verdünnt und mit 10 ccm einer HgCl_2 -Mischung versetzt, die, den Angaben von Franzen und Greve (l. c.) folgend, 200 g HgCl_2 , 300 g Na-Acetat und 80 g NaCl im Liter enthält. Ein erheblicher HgCl_2 -Überschuß (mindestens das 10—15fache der angewandten Ameisensäure) ist erforderlich. Es ist wesentlich, die genannte konzentrierte und NaCl-haltige Lösung zu benutzen, worauf unten noch zurückgekommen wird. Das Erlenmeyer-Kölbchen

¹⁾ Die Reinheit des Präparats geht aus folgender gravimetrischer Bestimmung hervor. Angewandt eine Lösung von 0,4007 g Formiat in 200 ccm Wasser. Davon je 10 ccm enthaltend 0,0137 g Ameisensäure zur Bestimmung. Gefunden 0,1420 und 0,1410 g HgCl entsprechend 0,0138 bzw. 0,0137 g Ameisensäure.

wird bei aufgesetztem Trichter (oder Steigrohr) 6 Stunden auf dem lebhaft siedenden Wasserbade erhitzt. Beim Eintauchen in das Wasserbad kann die Dauer des Erhitzens auf 2 bis 3 Stunden abgekürzt werden (Fincke). Die Abscheidung des Kalomels in schön krystallinischer Form beginnt nach wenigen Minuten.

Nach beendeter Reaktion und Abkühlen des Kölbchens setzt man, ohne zu filtrieren, zunächst 10 ccm 25%iger Salzsäure, sodann einen reichlichen Überschuß von reinem JK in konzentrierter wässriger Lösung hinzu (auf je 10 ccm der obigen HgCl_2 -Mischung 4 g JK), wobei der im ersten Moment auftretende rote HgJ_2 -Niederschlag sich sofort wieder löst, aber auch das Kalomel teilweise in Lösung geht; ein Rest schwimmt ungelöst in und auf der Lösung. Ohne dies weiter zu beachten, gibt man nun einen Überschuß von $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung hinzu, in unserem Versuch 15,0 ccm, verschließt den Kolben mit gut sitzendem Stopfen und schwenkt einige Male leicht um. Das vorher noch ungelöst gebliebene Kalomel löst sich nunmehr sofort auf, die Lösung wird völlig klar.

Schließlich titriert man mittels $\frac{1}{10}$ -n-Natriumthiosulfatlösung und Jodkaliumstärkelösung als Indikator zurück. Im vorliegenden Versuch ergab sich so ein Verbrauch von 5,8 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung.

Nach Gleichungen I und II kommen auf 1 Mol. J_2 2 Mol. HgCl bzw. 1 Mol. Ameisensäure (Mol.-Gew. 46). Somit ergibt die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung mit 0,0023 multipliziert die Menge der angewandten Ameisensäure in Gramm.

Es sind also gefunden $5,8 \times 0,0023 = 0,0133$ g Ameisensäure statt der angewandten 0,0135 g.

Zwei gleichzeitig angesetzte Versuche mit derselben Lösung ergaben dieselbe Zahl.

Alle übrigen Versuche, von denen hier nur einige angeführt seien, wurden nach der gleichen Vorschrift ausgeführt und gaben ausnahmslos exakte Resultate.

Versuch 2. Angewandt eine Lösung von 0,4998 g Na-Formiat in 200 ccm Wasser.

Hiervon 10 ccm, enthaltend 0,0169 g Ameisensäure zur Bestimmung.

Verbraucht: 7,2 ccm $1/10$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0166 g Ameisensäure.

Versuch 3. Angewandt eine Lösung von 0,5004 g Na-Formiat in 250 ccm Wasser.

10 ccm davon, enthaltend 0,0135 g Ameisensäure, zur Bestimmung.

Verbraucht: 5,97 ccm $1/10$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0137 g Ameisensäure.

Versuch 4. Angewandt eine Lösung von 1,0000 g Na-Formiat in 500 g Wasser.

10 ccm hiervon, enthaltend 0,0137 g Ameisensäure zur Bestimmung.

Verbraucht: 5,95 ccm $1/10$ -n-Jodlösung entsprechend 0,0137 g Ameisensäure.

Versuch 5. 5 ccm derselben Formiatlösung enthaltend 0,0068 g Ameisensäure.

Verbraucht: 3,0 ccm $1/10$ -n-Jodlösung entsprechend 0,0069 g Ameisensäure.

Versuch 6. 3,7 ccm der Lösung von Versuch 3, enthaltend 0,0050 g Ameisensäure.

Verbraucht: 2,27 ccm $1/10$ -n-Jodlösung entsprechend 0,0052 g.

Versuch 7. 1 ccm derselben Lösung, enthaltend 0,0014 g Ameisensäure (5 ccm HgCl_2 -Mischung).

Verbraucht: 0,70 ccm $1/10$ -n-Jodlösung entsprechend 0,0016 g Ameisensäure.

Daß auch größere Verdünnung keinen Fehler bedingt, zeigt folgender Versuch.

Versuch 8. 10 ccm derselben Lösung, enthaltend 0,0135 g Ameisensäure + 100 ccm Wasser und 10 ccm HgCl_2 -Mischung.

Verbraucht: 5,85 ccm $1/10$ -n-Jodlösung entsprechend 0,0135 g Ameisensäure.

Es wurde oben schon erwähnt, daß die Zusammensetzung der zur Bestimmung benutzten HgCl_2 -Mischung nicht gleich-

gültig ist. Nicht nur Na-Acetat, auch NaCl muß in erforderlicher Menge vorhanden sein.¹⁾ Zahlreiche Versuche mit der älteren, auch heute noch in den Lehrbüchern angegebenen Lösung, die neben 50 g HgCl₂, 27,5 g Na-Acetat enthält, haben erwiesen, daß in diesem Fall, auch bei Anwendung eines erheblichen Überschusses an HgCl₂, stets ein Teil des HgCl weiter zu metallischem Hg reduziert wird. Behandelt man nämlich diese Niederschläge, denen äußerlich die Hg-Beimengung nicht ohne weiteres anzusehen ist, nach Zusatz von HCl und JK mit Jod, so löst sich nur das HgCl, während sich ein Häufchen grauen, metallischen Quecksilbers am Boden des Gefäßes ansammelt. Dadurch entstehen bei der Titration naturgemäß grobe Fehler.

Bei der gravimetrischen Methode tritt diese Beimengung nicht so leicht zutage, wie eine einfache Überlegung ergibt. Selbst bei einer recht erheblichen Beimengung von Hg zum HgCl ist die Wägungsdifferenz angesichts des hohen Verhältnisses von Hg = 198,5 zu Cl 35,5 eine relativ geringe und der Fehler vermindert sich noch mehr bei der Endberechnung, bei der auf 2 HgCl = 468 1 Ameisensäure = 46 kommt. Dennoch wird man künftig auch bei der gravimetrischen Methode die NaCl-haltige Mischung nach Franzen und Greve anwenden müssen, mit der stets nur reines HgCl gebildet wird.

II. Die Bestimmung der Ameisensäure im Harn.

Bei allen älteren Versuchen, die Ameisensäure, sei es im Harn, sei es in Lebensmitteln zu bestimmen, hat man sich bis in die jüngste Zeit damit begnügt, die Isolierung der Ameisensäure und ihre Trennung von sonstigen nicht flüchtigen Bestandteilen durch Wasserdampfdestillation der mit Phosphorsäure oder Weinsäure versetzten Gemenge zu erzielen. Das neutralisierte und eingeengte Destillat wurde dann weiterhin in der üblichen Weise zur Bestimmung mittels der HgCl₂-Reduktionsmethode von Scala verwandt.

¹⁾ Schon Fincke empfiehlt den NaCl-Zusatz «um gewisse Verunreinigungen des HgCl zu vermeiden».

Es kann nun aber kein Zweifel darüber bestehen, daß dieses Verfahren der direkten Destillation des Harns aus dem Grunde keine einwandfreien Ergebnisse liefern kann, weil fast stets mit einer sekundären Bildung von Ameisensäure beim Erhitzen des Harnes mit Säure gerechnet werden muß, insbesondere aus Kohlenhydraten. Dakin, Janney und Wake-
man,¹⁾ die gerade im Hinblick hierauf ein Verfahren zur Isolierung der Ameisensäure aus dem Harn ausarbeiteten, gehen nicht zu weit mit der Behauptung, daß alle bisher ausgeführten Bestimmungen der Ameisensäure im Harn, da sie jene Fehlerquelle nicht berücksichtigten, nicht als zuverlässig zu betrachten seien. Auch die Destillation des angesäuerten Harnes bei niederer Temperatur und vermindertem Druck erscheint den Verfassern in dieser Hinsicht nicht sicher. Nachdem ich selbst die Erfahrung gemacht hatte, daß bei der Destillation des angesäuerten Kaninchenharnes die Abspaltung flüchtiger Säuren scheinbar ununterbrochen weitergeht, habe ich mich weiterhin ausschließlich des von Dakin ausgearbeiteten Verfahrens bedient, das, wenngleich es umständlicher ist, den Vorzug der Zuverlässigkeit bietet. Nach diesem Verfahren geht der Destillation eine Extraktion des angesäuerten Harnes mit Äther voraus, wobei ins Äthergefäß ein Überschuß von SodaLösung gebracht wird. Dadurch wird die jeweils extrahierte Säure als Na-Salz abgefangen. Die sodaalkalische Lösung, die nun sicher frei von Kohlenhydraten und anderen störenden Substanzen ist, und tatsächlich nur eine geringe Menge in Äther löslicher Säuren enthält, wird nunmehr mit Phosphorsäure angesäuert und im Dampfstrom destilliert. Dieses Verfahren, an Lösungen reinen Natriumformiats geprüft, ergab in Dakins sorgfältigen Versuchen die quantitative Wiedergewinnung der angewandten Ameisensäure. Es wurde dann auf die Bestimmung im Harn angewandt, wobei allerdings von Dakin nicht besonders festgestellt wurde, ob auch in diesem Fall zugesetzte Ameisensäure quantitativ wiedergewonnen werden kann.

In der Tat haben mir selbst die ersten Versuche, nach dem Dakinschen Verfahren zum Harn zugesetzte Ameisen-

¹⁾ Journ. of biol. Chem. Bd. 14, S. 134 (1913).

säure wiederzugewinnen, keine voll befriedigenden Ergebnisse geliefert. Ich extrahierte vorschriftsgemäß 12 Stunden mit einem schnellen Ätherstrom und zwar im Extraktionsapparat von Steudel und folgte im übrigen genau den von Dakin gegebenen Anweisungen. Nur bestimmte ich die Menge des Kalomels nicht durch Wägen, sondern mittels des in der vorhergehenden Mitteilung beschriebenen Titrationsverfahrens.

Benutzt wurde der in einigen Kubikzentimetern Toluol aufgefangene 48 stündige Mischharn zweier Kaninchen, der durch ein feuchtes Filter gegossen ein absolut klares Filtrat gibt.

Versuch 1. 26. 6. 14. Harnmenge 430 ccm.

Davon je 215 ccm, Portion A und B, zur Bestimmung. Zu B wurden 10 ccm einer Na-Formiatlösung, mit 0,0160 g Ameisensäure, zugesetzt. Extraktionsdauer 12 Stunden. Menge des Destillats 2000 ccm.

A verbraucht 0,8 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0018 g Ameisensäure.

B verbraucht 6,9 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0159 g Ameisensäure.

Von der in B insgesamt vorhandenen Menge: $0,0160 + 0,0018 \text{ g} = 0,0178 \text{ g}$ sind also 0,0159 g wiedergefunden, was einem Fehler von 1,9 mg oder 10,7 % entspricht.

Versuch 2. 1. 7. 14. 180 ccm Harn. In 2 Portionen zu je 90 ccm verarbeitet, A ohne Zusatz, B mit Zusatz von 0,0317 g Ameisensäure als Formiat. Extraktionsdauer 12 Stunden, Destillat 2000 ccm.

A verbraucht 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,00046 g Ameisensäure.

B verbraucht 12,8 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,02944 g Ameisensäure.

Von den in B vorhandenen $0,03170 + 0,00046 = 0,03216 \text{ g}$ Ameisensäure sind also wiedergefunden 0,02944 g, was einem Fehler von 2,7 mg oder 8,4 % entspricht.

Einige weitere Versuche ergaben ähnliche Werte. So wurden gefunden:

in Versuch 3 statt insgesamt 0,0154 g Ameisensäure 0,0136 g. Fehler: 1,8 mg bzw. 11,7 %,

in Versuch 4 statt insgesamt 0,0166 g Ameisensäure
0,0152 g. Fehler: 1,4 mg bzw. 8,4 ‰,

in Versuch 5 statt insgesamt 0,0156 g Ameisensäure
0,0131 g. Fehler 2,5 mg bzw. 16,0 ‰.

Der Fehler betrug also im Durchschnitt von 5 Versuchen
2,06 mg, bzw. 11,04 ‰.

Aus diesen Ergebnissen mußte der Schluß gezogen werden, daß eine 12-stündige Extraktion zur Entfernung der gesamten Ameisensäure aus dem Harn nicht genügt, was natürlich nicht ausschließt, daß eine verlängerte Extraktion schließlich doch zum Ziele führt. Aus praktischen Gründen muß aber ein wiederholtes, tagelanges Extrahieren, insbesondere bei Serien- bzw. Stoffwechselversuchen vermieden werden, zumal ja jedes Extrakt auch nochmals zu destillieren ist. Da mir bekannt war, daß ähnliche Schwierigkeiten bei der quantitativen Wiedergewinnung der Milchsäure aus dem Harn erst durch Anwendung eines mit Rührwerk versehenen Extraktionsapparates hatten überwunden werden können, so ging ich nun zu Versuchen über, in denen ich die Extraktion im rotierenden Extraktionsapparat von Embden und Lind vornahm.¹⁾ Herr Prof. Embden gestattete mir gütigst die Benutzung des in seinem Institut gebräuchlichen Apparates.

Die Versuche führten sofort zu erheblich besseren Ergebnissen. Sie seien im folgenden eingehend beschrieben: Das Verfahren schließt sich eng an die Vorschriften von Dakin an.

Versuch 6. Kaninchen von 3 kg Gewicht. Fütterung 1 kg Rüben täglich. Der Harn wurde, da er für die Extraktion im Lindschen Apparat doch mit Ammonsulfat gesättigt werden muß, in 100 g festem Ammonsulfat aufgefangen, wodurch gleichzeitig der Eintritt der Fäulnis hintengehalten wird.

Harn vom 8. 12. 15. (einschließlich 100 g Ammonsulfat)
660 ccm.

Davon werden 2 Portionen, A und B, zu je 200 ccm in Erlenmeyer-Kolben von 500 ccm gebracht und mit je weiteren 50 g Ammonsulfat versetzt.

¹⁾ Abderhaldens Handb. der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. 8, S. 339.

A bleibt ohne Zusatz; zu B kommen 10 ccm einer Na-Formiat-Lösung, mit 0,0135 g Ameisensäure.

Nach Überschichten mit etwas Äther wird im Erlenmeyer-Kolben selbst vorsichtig und portionsweise mit konzentrierter Phosphorsäure bis zur stark sauren Reaktion versetzt. Der Äther hemmt das im Beginn sehr starke Schäumen und fängt gleichzeitig etwa mitgerissene Ameisensäure ab. Der Inhalt des Kolbens wird nunmehr quantitativ mit Hilfe gesättigter Ammonsulfatlösung in die Extraktionsgefäße des Lindschen Apparats gebracht. In das Äther-Siedegefäß kommen 20 ccm 5 %iger Sodalösung.

Nach 10 stündigem Extrahieren bei lebhafter Drehung des Rührers und kräftigem Ätherstrom wird der Inhalt des Äther-Siedegefäßes mitsamt der Sodalösung, die sich bräunlich gefärbt hat und die gesamten in Äther löslichen Säuren enthält, in einen Scheidetrichter gebracht. Die Sodalösung wird abgelassen, der Äther noch einige Male mit wenig Sodalösung, schließlich mit Wasser gewaschen.

Die vereinigten wässerigen Lösungen (tunlichst nicht mehr als 50—70 ccm) bringt man in den zur Destillation benutzten langhalsigen Kjeldahl-Kolben von $\frac{1}{2}$ Liter Inhalt. Als Anordnung des Destillationsapparats habe ich mit Vorteil die von Franzen und Greve empfohlene und durch eine Abbildung in ihrer Arbeit (l. c.) erläuterte verwendet: Dampfentwickler, Kjeldahl-Kolben mit Destillationsaufsatz, gerader Schlangenkühler.

Nach Ansäuern mit konzentrierter Phosphorsäure wird nunmehr mit kräftigem Dampfstrom destilliert, wobei man, durch geeignetes Einstellen der unter dem Kjeldahl-Kolben befindlichen Flamme, ein Einengen der zu destillierenden Flüssigkeit bis auf ca. 30 ccm herbeiführen soll.

Die Destillate, stets 1500 ccm, werden in einigen Kubikzentimetern Sodalösung aufgefangen. Die deutlich alkalisch reagierende Lösung wird, zuerst auf dem Asbestnetz über freier Flamme, sodann auf dem Wasserbade, bis auf ca. 30 ccm eingedampft, in einen Erlenmeyer-Kolben von 200 ccm filtriert und das Filter sorgfältigst ausgewaschen. Man neutralisiert nun im Kolben durch tropfenweisen Zusatz von konzentrierter

Salzsäure, wobei man sich vor Verlusten beim Aufschäumen noch durch Aufsetzen eines Trichters schützen kann. Schließlich wird die Lösung gerade schwach sauer gemacht, mit der genügenden Menge HgCl_2 -Mischung versetzt (vgl. S. 357) und in der üblichen Weise auf dem Wasserbade erhitzt. Endlich wird, nach Abkühlen, im gleichen Kolben titriert.

Portion A. verbraucht 5,03 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0116 g Ameisensäure. Dies ergibt, auf die Gesamtharnmenge von 660 ccm umgerechnet, eine Tagesausscheidung von 0,0382 g.

B verbraucht 10,60 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0244 g Ameisensäure. Von der Gesamt-Ameisensäure in B, die $0,0116 + 0,0135 = 0,0251$ g betrug, sind also 0,0244 g wiedergefunden worden, was einem Fehler von $-0,7$ mg oder $2,8\%$ entspricht.

Versuch 7. Harn vom 15. 12. 15. 545 ccm. Verarbeitet je 200 ccm wie oben.

A ohne Zusatz; B mit Zusatz von 5 ccm einer Natriumformiatlösung mit 0,00675 g Ameisensäure.

A verbraucht 1,88 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,00432 g Ameisensäure. Im Gesamt-Tagesharn (545 ccm) sind demnach 0,0147 g enthalten.

B verbraucht 4,60 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0106 g Ameisensäure.

Von der gesamten Ameisensäure in B, $0,00432 + 0,00675 = 0,0111$ g, sind demnach 0,0106 g wiedergefunden, was einem Fehler von $-0,5$ mg oder $4,5\%$ entspricht.

Versuch 8. Harn vom 16. 12. 15. 560 ccm. Davon 2 Portionen zu je 200 ccm verarbeitet.

A ohne Zusatz; B mit Zusatz von 0,0137 g Ameisensäure als Formiat.

A verbraucht 1,07 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0024 g Ameisensäure. Im Gesamt-Tagesharn (560 ccm) sind also 0,0069 g ausgeschieden.

B verbraucht 7,04 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung, entsprechend 0,0162 g Ameisensäure.

Von den insgesamt in B enthaltenen $0,0024 + 0,0137 = 0,0161$ g sind demnach wiedergefunden 0,0162 g. Fehler $0,0\%$.

Aus den letzten Versuchen, die mit zunehmender Erfahrung und Einarbeitung stetig sich bessernde Ergebnisse lieferten, geht somit hervor, daß das von Dakin vorgeschlagene Verfahren auch in seiner Anwendung auf den Kaninchenharn exakte Zahlen liefert, jedoch nur dann, wenn die Ätherextraktion im rotierenden Apparat oder in einer ähnlich intensiven Weise vorgenommen wird. Einfaches 12stündiges Extrahieren genügt nicht. — Versuche über die Ameisensäureausscheidung, unter besonderer Berücksichtigung der Frage der endogenen Ameisensäurebildung, sind im Gange.