

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Ernährung und Stoffwechselkrankheiten

Umber, Friedrich

Berlin [u.a.], 1925

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Shelf Mark: Ui VI 1900

B. Acidosekörper.

[urn:nbn:de:hbz:38m:1-126153](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:38m:1-126153)

B. Acidosekörper.

Qualitativer Nachweis.

1. Aceton

wird nachgewiesen mit der Legalschen Probe:

Zu etwa 5 cm^3 Harn fügt man einige Tropfen einer frisch bereiteten etwa 5%igen Nitroprussidnatriumlösung und macht dann mit starker Natron- oder Kalilauge alkalisch. Bei Anwesenheit von Aceton (auch von reichlich Kreatinin) entsteht dann eine rubinrote Farbe (die langsam abbläßt, wenn sie von Kreatinin herrührt). Setzt man nun etwas Eisessig zu, so tritt bei Anwesenheit von Aceton eine purpurrote bis karminrote Färbung auf, die später über Violett in Blau übergeht, während bei Abwesenheit von Aceton sich die Lösung gelb färbt.

2. Acetessigsäure.

Zum Nachweis dient die Gerhardttsche Eisenchloridprobe:

Zu einigen Kubikzentimetern Harn fügt man tropfenweise konzentrierte Eisenchloridlösung, bis der anfangs entstehende Niederschlag von Ferriphosphat sich wieder auflöst. Je nach der Menge der vorhandenen Acetessigsäure färbt sich die Lösung bordeauxrot (+), dunkelrotviolett (++) oder schwarz (+++). Eine positive Acetessigsäurereaktion kann vorgetäuscht werden durch Ameisensäure, Essigsäure und Rhodanwasserstoffsäure, ferner durch Phenole und Phenolcarbonsäuren. Um zu entscheiden, ob es sich um Acetessigsäure oder eine dieser Substanzen handelt, wird der Harn vor Anstellen der Reaktion kurz aufgeköcht: handelt es sich um Acetessigsäure, so tritt die Reaktion jetzt nicht mehr auf. Um die Acetessigsäure neben den genannten Säuren nachzuweisen, prüft man den ätherischen Auszug des angesäuerten Harns mit einer dünnen wäßrigen Eisenchloridlösung. Hierbei tritt keine Färbung auf, wenn die Reaktion auf der Gegenwart von Ameisensäure oder Essigsäure beruhte. Bei Gegenwart von Rhodanwasserstoffsäure wird die ätherische, bei Vorhandensein von Acetessigsäure die wäßrige Schicht rot.

Nach Genuß von salicylsäurehaltigen Mitteln, Phenazetin, Antipyrin, Thallin u. a. ist die Reaktion nicht brauchbar.

3. β -Oxybuttersäure

wird gewöhnlich nachgewiesen durch Überführung in α -Krotonsäure, indem der eventuell eingeengte Harn mit dem gleichen Volumen

konzentrierter Schwefelsäure destilliert wird. Es ist dabei nach Embden u. Schmitz¹⁾ zweckmäßig, das Volumen des Harnschwefelsäuregemisches durch Zutropfenlassen von Wasser aus einem Tropftrichter einigermaßen konstant zu erhalten. Aus den ersten Teilen des Destillates scheidet sich bei genügender Abkühlung (Auffangen in eisgekühltem Kolben) unter Umständen direkt die sehr charakteristisch riechende α -Krotonsäure ab. Stets ist sie leicht zur Krystallisation zu bringen, wenn man das gewonnene Destillat mehrmals ausäthert und den Äther spontan verdunsten läßt. Der Schmelzpunkt der Krystalle liegt bei 71–72°. Die Reinigung der eventuell durch flüchtige Fettsäuren verunreinigten Krystalle geschieht nach Embden u. Schmitz am besten durch Lösen in Äther, Verjagen des größten Teils des Äthers durch Erwärmen und Fällung mit Petroläther. Der Schmelzpunkt der bei der Destillation ebenfalls leicht mit den Wasserdämpfen übergehenden, aus Hippursäure frei gewordenen Benzoesäure liegt bei 121°.

Quantitative Bestimmung.

a) Polarimetrische Bestimmung der β -Oxybuttersäure.

Prinzip: Die β -Oxybuttersäure wird mit Äther im Lindschen Apparat extrahiert und die Linksdrehung des Auszuges polarimetrisch bestimmt.

Ausführung nach Embden u. Schmitz²⁾:

Je nach dem Gehalt an β -Oxybuttersäure werden 100–300 cm^3 Harn mit Ammonsulfat gesättigt, wozu auf je 100 cm^3 Harn 90 g Ammonsulfat in Anwendung kommen, mit 25 % Schwefelsäure stark angesäuert und im Lindschen Apparat (s. u.) 6–8 Stunden mit Äther extrahiert. Der gewonnene Ätherextrakt wird unter öfterem Nachspülen mit Äther in einen Destillationskolben quantitativ filtriert, mit 5 cm^3 Wasser versetzt und unter sorgfältiger Vermeidung stärkerer Erwärmung der Äther abdestilliert. Der wäßrige Rückstand wird sofort unter der Wasserleitung abgekühlt, in einem Meßcylinder unter quantitativem Nachspülen auf 10–15 cm^3 gebracht, mit ganz wenig Tierkohle in der Kälte geschüttelt, in ein Polarisationsrohr filtriert und polarimetrisch untersucht. Die abgelesene Linksdrehung soll möglichst einer Traubenzuckermenge von mindestens 2 % entsprechen.

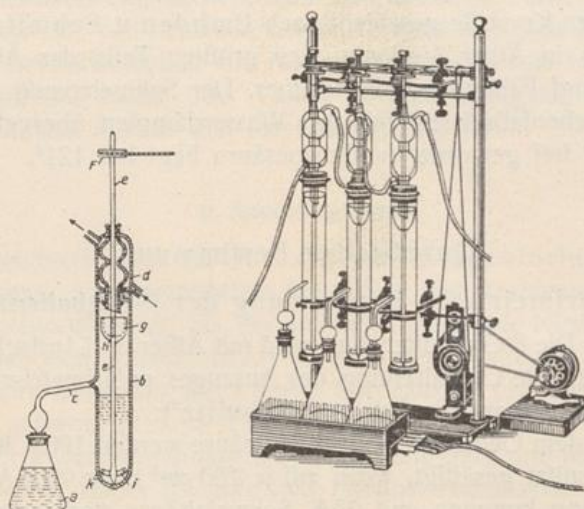
Durch Multiplikation der gefundenen (für Traubenzucker gelten den) Prozentzahl mit 2,18 erhält man den prozentualen β -Oxybuttersäuregehalt.

¹⁾ Embden u. Schmitz, Handb. d. biol. Arbeitsmeth., Abt. IV, Teil 5, Heft 2, 1924, Urban & Schwarzenberg. — ²⁾ Embden u. Schmitz, ebenda.

Beschreibung des Lindschen Extraktionsapparates:

Der Apparat (s. Abb. 49) besteht aus einem Erlenmeyer-Kolben *a*, in dem der Äther verdampft. Der Dampf gelangt durch eine Röhre *c* in das Extraktionsgefäß *b*, wird in dem Kühler *d* kondensiert und tropft in die Auffangsschale *g*. Von hier gelangt er durch eine Bohrung *h* in die Röhre *e*, die in der Nähe ihres unteren Endes zwei mit ihr kommunizierende hohle Rührarme *i* trägt, die mit kleinen Austrittsöffnungen *k* versehen sind. Durch diese Austrittsöffnungen tritt der Äther, der aus

Abb. 49.



der Auffangsschale in die Röhre *e* gelangt, in den zu extrahierenden Harn, passiert alsdann die Harnschicht und fließt dauernd durch die Röhre *c* in den Extraktionskolben zurück. Die Röhre *e* ist oberhalb des Kühlers mit einer Antriebsscheibe *F* versehen, vermittelt derer sie unter Anwendung eines Elektromotors und eines passenden Vorgeleges in dauernde rasche Rotation versetzt wird. Der aus den Enden der Rohrarme austretende Äther wird dadurch außerordentlich fein verteilt, so daß er in sehr kleinen, bei genügender Rotation fast staubförmigen Tröpfchen die Flüssigkeit durchdringt.

Außer der β -Oxybuttersäure gehen nach Embden u. Schmitz noch andere linksdrehende Substanzen in den Ätherextrakt über. Deswegen ist die polarimetrische Bestimmung der β -Oxybuttersäure nur bei Vorhandensein größerer Mengen dieser Substanz im Harn anwendbar. Die Methode liefert stets etwas zu hohe Mengen, jedoch beträgt der

Fehler bei β -Oxybuttersäuremengen von über 10 g in der Tagesmenge weniger als 10%.

Die Methode hat sich uns für klinische Zwecke als einfachste, schnellste und genaueste außerordentlich gut bewährt und wurde früher jahrelang als Methode der Wahl angewandt. In den letzten Jahren konnte sie nicht mehr allgemein benutzt werden, weil sie wegen der großen erforderlichen Äthermengen sehr teuer ist. Wir sind deswegen dazu übergegangen, die Ätherextraktion zu umgehen und einfach die Linksdrehung des 24 Stunden mit Hefe vergorenen Harnes zu bestimmen. Unbedingtes Erfordernis für diese direkte Bestimmung der Linksdrehung des vergorenen Harnes ist aber die Benutzung eines sehr empfindlichen Polarisationsapparates (Landolt-Lippichscher Dreischattenapparat). Bei Verwendung dieses Apparates aber ergibt die direkte Polarisationsmethode für klinische Zwecke ausreichend genaue Resultate, wie uns zahlreiche Kontrollversuche mit andern Methoden gezeigt haben. Als Belege hierfür geben wir einige beliebig herausgegriffene Kontrollanalysen von polarimetrischer Bestimmung und Untersuchung mittels der Methoden von Lublin und von van Slyke:

Willi Len., 22jähriger Diabetes gravis:

T a g	β -Oxybuttersäure, bestimmt durch Polarisation des vergorenen Harns	Bestimmung nach Lublin	
		Gesamtaceton	β -Oxybuttersäure
9. November 1924	 29.3 g	4.5 g	25.4 g
10. " 1924	 29.7 "	4.9 "	25.5 "
11. " 1924	 15.8 "	2.6 "	12.5 "
12. " 1924	 12.7 "	1.95 "	10.1 "
13. " 1924	 10.2 "	2.2 "	9.9 "

Marta Coh., 55jährige schwere Diabetica:

T a g	β -Oxybuttersäure, bestimmt durch Polarisation des vergorenen Harns	Bestimmung nach Lublin	
		Gesamtaceton	β -Oxybuttersäure
2. November 1924	 22.5 g	5.39 g	16.4 g
3. " 1924	 11.88 "	2.78 "	8.46 "
4. " 1924	 42.9 "	8.9 "	33.7 "
5. " 1924	 4.2 "	2.9 "	5.4 "

Frau Dibb, 26jährige mittelschwere Diabetica:

T a g	β -Oxybuttersäure, bestimmt durch Polarisation des vergorenen Harns	Bestimmung nach van Slyke	
		Gesamtaceton	β -Oxybuttersäure
23. November 1924	 9.5 g	2.83 g	10.55 g
24. " 1924	 6.6 "	0.89 "	3.7 "
25. " 1924	 1.5 "	0.18 "	0.86 "
26. " 1924	 2.2 "	0.26 "	1.5 "

Frau Jon., 50jährige mittelschwere Diabetica:

T a g		β -Oxybuttersäure, bestimmt durch Polarisation des vergorenen Harns	Bestimmung nach van Slyke	
			Gesamtaceton	β -Oxybuttersäure
27. November	1924	 9.9 g	2.0 g	8.5 g
28. "	1924	 11.4 "	1.99 "	9.87 "
29. "	1924	 4.3 "	0.9 "	3.1 "
30. "	1924	 2.1 "	0.6 "	2.1 "
1. Dezember	1924	 3.5 "	0.9 "	3.7 "
2. "	1924	 3.3 "	0.8 "	2.5 "

Es ergibt sich aus diesen Beispielen sowie aus unserm sonstigen großen Analysenmaterial, daß die Linksdrehung des vergorenen Harns immer etwas größere Mengen β -Oxybuttersäure anzeigt, als die durch die Lublinsche und van Slykesche Methode gefundenen. Dabei entsprechen aber ziemlich genau die nach den letzten beiden gefundenen Gesamtacetonkörperwerte (β -Oxybuttersäure + Acetessigsäure + Aceton) den direkt polarimetrisch gewonnenen β -Oxybuttersäuremengen. Es unterrichtet uns also diese äußerst einfache, wenige Minuten Arbeit beanspruchende und billige Methode bei Benutzung eines Landolt-Lippichschen Dreischattenapparates für rein klinische Zwecke mit genügender Genauigkeit über die Stärke der Gesamtaacidose. Für getrennte Bestimmung der 3 Acetonkörper, sowie für wissenschaftliche Zwecke genügt sie natürlich nicht, sondern muß durch die polarimetrische Untersuchung des Ätherextraktes oder durch eine der im folgenden besprochenen Methoden ersetzt werden.

b) Bestimmung des **Gesamtacetons** (Aceton + Acetessigsäure) als Aceton nach Messinger-Huppert, modifiziert nach Embden-Schmitz¹⁾:

Prinzip: Aceton und in Aceton übergeführte Acetessigsäure bildet mit Jodlösung und Alkali Jodoform und Essigsäure. Nach Abscheidung des Jodoforms wird das überschüssige Jod in Freiheit gesetzt und mit Natriumthiosulfat zurücktitriert.

Erforderliche Reagenzien:

1. 50 % ige Essigsäure.
2. 33 % ige Natronlauge.
3. Salzsäure.
4. n/10 Jodlösung.
5. n/10 Thiosulfatlösung.
6. 1 % ige Stärkelösung.

¹⁾ Embden-Schmitz, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 5, Heft 2.

Der Titer der Natriumthiosulfatlösung (am besten mit Kaliumbichromatlösung bestimmt, s. u. II, B., 2.) und der Jodlösung muß häufig kontrolliert werden. Diese Lösungen müssen kühl und dunkel aufbewahrt werden. Die Natronlauge muß nitritfrei sein und vor dem Gebrauch auf ihr Verhalten gegen Jod geprüft werden, von dem die Handelsware manchmal kleine Mengen bindet. Ebenso kann die Anwesenheit von kleinen Eisenmengen in der benutzten Salzsäure zu Jodverlusten führen.

Ausführung: In einen Erlenmeyer-Kolben von 750 cm^3 mißt man 150 cm^3 Wasser, 2 cm^3 50% iger Essigsäure und den zu untersuchenden Harn (bei reichlichem Acetongehalt 20 cm^3 , bei geringerem entsprechend mehr). Als Vorlage bei der mit diesem Gemisch vorzunehmenden Destillation benutzt man einen Erlenmeyer-Kolben von 750 cm^3 , der mit 150 cm^3 möglichst kalten Wassers beschickt ist, so daß das Destillationsrohr in dasselbe eintaucht. Unter ausgiebiger Kühlung wird nunmehr destilliert und während 20–25 Minuten im Sieden erhalten, wobei etwa 60 cm^3 Flüssigkeit übergehen sollen. Nachdem dann die Destillation unter Abspülen des Destillationsrohres unterbrochen ist, wird sofort die Titration vorgenommen. Zu diesem Zweck werden in die Vorlage 30 cm^3 33% ige Natronlauge und aus einer Bürette unter leichtem Umschwenken ein reichlicher Überschuß von Jod gegeben. Man erkennt das Vorhandensein überschüssigen Jods daran, daß 1 Tropfen Salzsäure an der Einfallsstelle eine braune Färbung hervorruft. Das Jodoform fällt zunächst als weißliche Trübung aus, die sich bald in intensiv gelb gefärbte Krystalle umwandelt. Nach 5 Minuten säuert man mit einem Überschuß von Salzsäure an (d. h. nach Auftreten der braunen Jodfarbe setzt man noch etwa 2 cm^3 Salzsäure zu) und titriert nach Zusatz von Stärkelösung das unverbrauchte Jod mit n/10 Thiosulfatlösung zurück.

Berechnung: 1 cm^3 verbrauchter Jodlösung entspricht 0.967 mg Aceton.

c) Colorimetrische Bestimmung des **Acetons** nach Adler¹⁾:

Prinzip: Die nur annähernde, aber für klinische Zwecke allenfalls ausreichende Resultate gebende Methode vergleicht colorimetrisch die bei der Legalschen Probe erhaltene Farbenintensität mit bestimmten empirisch zusammengesetzten Farbstoffen.

Herstellung der Vergleichslösungen:

1. Neutralrot 1:1000.
2. Neublau 1:1000.
3. Diamantphosphin 1:100 (Farbstoffe von Leopold Cassella, Frankfurt a. M.).

¹⁾ Adler, Münch. med. Wochenschr. 1919, 722.

Gemische dieser 3 Lösungen in bestimmten Mengenverhältnissen zeigen die gleichen Farbnuancen, wie sie acetonhaltige Harne bei der Legalschen Probe ergeben. Aus diesen Farbstofflösungen sind herzustellen folgende Testlösungen:

- I. 10 cm^3 Neutralrot (1)
 3 " Neublau (2)
 0.6 " Diamantphosphin (3)
 5 " Aq. dest.
 Diese Mischung entspricht 0.1 % Aceton.
- II. 10 cm^3 Testlösung I.
 10 " Aq. dest.
 Diese Mischung entspricht 0.08 % Aceton.
- III. 5 cm^3 Testlösung I.
 10 " Aq. dest.
 Diese Mischung entspricht 0.05 % Aceton.
- IV. 5 cm^3 Testlösung I.
 15 " Aq. dest.
 Diese Mischung entspricht 0.01 % Aceton.
- V. 5 cm^3 einer Mischung von 10 cm^3 Neutralrot (1)
 1 " Neublau (2)
 0.1 " Diamantphosphin (3)
 50 cm^3 Aq. dest.
 Diese Mischung entspricht 0.005 % Aceton.

Je 13 cm^3 der 5 Testlösungen werden in gleich weite Reagenströhrchen eingeschmolzen, die auf ein Gestell mit weißem Grunde schräg zu stehen kommen, mit Zwischenräumen für den zu untersuchenden Harn¹⁾.

Sonstige erforderliche Reagenzien:

4. 20 % ige Natronlauge.
5. 33 % ige Nitroprussidnatriumlösung.
6. Eisessig.

Ausführung: In ein Reagensglas von gleichem Kaliber wie das der Vergleichslösungen werden gefüllt 10 cm^3 Urin, 1 cm^3 20 % ige Natronlauge, 0.5 cm^3 33 % ige Natriumnitroprussidlösung und 20 Tropfen Eisessig, tropfenweise unter Umschütteln. Dann wird sofort durch Einsetzen des Reagensglases in das Gestell die Farbe des Harns mit der der Farbblösungen verglichen. Bei Farbgleichheit mit Testlösung I ist der

¹⁾ Das Gestell mit den fertigen Farbröhrchen kann bezogen werden von L. Dröll, Frankfurt a. M.

Urin mit dem gleichen Volumen normalen Urins zu verdünnen und die Prüfung zu wiederholen.

Die Adlersche Methode hat sich uns wenig bewährt aus folgenden Gründen:

1. Die Farbintensität der Legalschen Probe läßt sehr schnell nach, u. zw. mit verschiedener Geschwindigkeit.
2. Farbenintensität und Acetongehalt scheinen nicht völlig proportional zu sein, wie auch mehrfach in der Literatur angegeben.
3. Die Werte nach Adler weichen beträchtlich ab von dem nach Lublin bestimmten Gehalt an Aceton und Acetessigsäure.
4. Der nach Lublin bestimmten Gesamtacidose kommen die Adlerschen Werte z. T. näher, doch fallen dazwischen weite Abweichungen (wie nach Punkt 1 und 2 nicht anders zu erwarten).
5. In den Werten der Farbskala von 0·1 — 0·005 % ist eine leidlich genaue Ablesung möglich. Bei allen Fällen mit mehr als 0·1 % ist kaum mehr als eine Schätzung, ob Zu- oder Abnahme der Acidose, möglich.
6. Von der Linksdrehung nach Vergärung weichen die Adlerschen Werte weit ab.

d) Bestimmung der **Gesamtacetonkörper** nach van Slyke¹⁾, modifiziert nach W. Lintzel²⁾.

Prinzip: Aceton bildet beim Kochen mit Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung einen schwer löslichen Niederschlag, der neben Aceton basisches Quecksilbersulfat enthält. Der Niederschlag wird entweder getrocknet und gewogen, oder in verdünnter Salzsäure gelöst und auf seinen Quecksilbergehalt titriert. Da Traubenzucker bei der Oxydation Stoffe liefert, die mit Quecksilbersulfat ausfallen, wird er vor Anstellung der Bestimmung durch eine Kupfersulfatcalciumoxydfällung entfernt.

Erforderliche Reagenzien:

1. 20 % ige Kupfersulfatlösung.
2. 10 % ige Quecksilbersulfatlösung. 106·6 cm³ Schwefelsäure (spec. Gew. 1·84) mit Wasser auf 1 l gebracht, dazu 73 g rotes Quecksilberoxyd.
3. 50 Volumprozent Schwefelsäure.
4. 10 % ige Calciumhydroxydaufschwemmung. 100 g Ca(OH)₂ (Mercks reine Reagenzien) in 1 l Wasser.
5. 5 % ige Kaliumbichromatlösung.
6. 0·2 Mol. Kaliumjodidlösung. 33·204 g JK auf 1 l gebracht.
7. 0·05 Mol. Quecksilberchloridlösung. 13·575 g HgCl₂ auf 1 l gebracht.

¹⁾ van Slyke, Journ. of. biol. Chem. 1917, Bd. 32. — ²⁾ W. Lintzel, Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 34, S. 1249.

Statt 2. und 3. kann zur Gesamtacetonkörperbestimmung eine fertige Lösung hergestellt werden: 219 g Quecksilberoxyd, 755 cm³ reine Schwefelsäure, Wasser zum Gesamtvolumen von 12·5 l (van Slykes kombiniertes Reagens).

Der Titer der Sublimatlösung, gegen die die Jodidlösung eingestellt wird, wird durch Bestimmung des Quecksilbers als Sulfid festgestellt. 25 cm³ der Lösung, mit 100 cm³ Wasser verdünnt und mit Schwefelwasserstoff gefällt, sollen 0·2908 g Niederschlag ergeben.

Vor Anstellung der Bestimmung ist die Entfernung des Zuckers erforderlich. Zu diesem Zweck werden in einem 250 cm³ Meßkolben 25 cm³ Urin, 10 cm³ Wasser, je 50 cm³ Kupfersulfatlösung und Calciumhydroxydlösung gegeben und geschüttelt. Wenn die Reaktion gegen Lackmus alkalisch ist — falls nicht, weiterer Zusatz von Calciumhydroxyd — wird bis zur Marke aufgefüllt und nach 1/2 Stunde durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. Soll nur eine der folgenden Bestimmungen ausgeführt werden, genügt ein 100 cm³ Meßkolben mit 10 cm³ Urin und je 20 cm³ Kupfersulfat und Calciumhydroxyd.

α) Gleichzeitige Bestimmung der **Gesamtacetonkörper**. In einem 1/2 l Erlenmeyer-Kolben werden 25 cm³ Urinfiltrat, 100 cm³ Wasser, 10 cm³ 50 Volumenprozentige Schwefelsäure und 35 cm³ Quecksilbersulfatlösung (oder 25 cm³ Urinfiltrat und 145 cm³ kombiniertes van Slykesches Reagens) abgemessen. Unter dem Rückflußkühler wird bis zum Sieden erhitzt und beim Beginn des Kochens durch das Kühlrohr 5 cm³ Bichromatlösung zugesetzt. Es wird 1 1/2 Stunden gekocht, nach dem Abkühlen zur gewichtsanalytischen Bestimmung der Niederschlag auf einem gewichtskonstanten Gooch-Tiegel gesammelt, mit kaltem Wasser (200 cm³) gewaschen und im Trockenschrank getrocknet und gewogen. Bei 100° ist Gewichtskonstanz in 1 Stunde, bei 70° in 3–4 Stunden erreicht. Der Gooch-Tiegel kann ohne Reinigung immer wieder benutzt werden. — Zur Titrationsbestimmung wird der Niederschlag auf einer kleinen Trichternutsche gesammelt, gewaschen und mitsamt dem Filterblatt mit wenig Wasser in ein Becherglas gespült. Es wird mit 15 cm³ n/1 Salzsäure gelöst und mit Calciumacetatlösung abgestumpft. Aus einer Bürette wird soviel Kaliumjodidlösung zugesetzt, daß der auftretende rote Niederschlag wieder verschwindet. Der Überschuß von Jodid wird mit Quecksilberchloridlösung zurücktitriert, bis der erste bleibende rote Niederschlag auftritt.

β) Bestimmung von **Aceton** und **Acetessigsäure**. Es wird ebenso wie unter α) verfahren, jedoch kein Chromat zugesetzt und nur 45 Minuten unter Rückflußkühler gekocht.

γ) Bestimmung von **β-Oxybuttersäure**. 25 cm³ Urinfiltrat, 100 cm³ Wasser und 2 cm³ Schwefelsäure werden in einem offenen 1/2 l-Kolben

10 Minuten gekocht, im Meßcylinder gemessen und wieder in den Kolben gebracht. Der Meßcylinder wird mit der fehlenden Menge Wasser nachgespült und das ursprüngliche Volumen (127 cm^3) wieder hergestellt. Nach Zusatz von 8 cm^3 Schwefelsäure und 35 cm^3 Quecksilbersulfatlösung wird unter dem Rückflußkühler zum Sieden erhitzt, 5 cm^3 Bichromatlösung zugegeben und anderthalb Stunden gekocht. Der Niederschlag wird, wie unter a) angegeben, behandelt.

Die Berechnung geschieht nach folgenden Faktoren:

Ausgeführte Bestimmung	Als Aceton berechnet entsprechen		Als β -Oxybuttersäure berechnet entsprechen	
	1 g Niederschlag	1 cm^3 JK	1 g Niederschlag	1 cm^3 JK
Gesamtacetonkörper	2.48 %	0.0332 %	4.447 %	0.0595 %
β -Oxybuttersäure	2.64 %	0.0344 %	4.734 %	0.0617 %
Aceton + Acetessigsäure	2.00 %	0.0260 %	3.586 %	0.0466 %

Die titrimetrische oder gewichtsanalytische Methode können wahlweise angewandt werden. Doch geben van Slyke sowohl als Lintzel an, daß die Titration von Niederschlägen unter 50 mg sehr schwierig und unsicher ist. Bei größeren Niederschlägen hingegen empfiehlt sich die titrimetrische Methode, wobei das Trocknen im Gooch-Tiegel fortfällt.

e) Mikromethode zur Bestimmung des **Acetons** und der **β -Oxybuttersäure** nach Lublin¹⁾.

Prinzip: Das präformierte und das beim Kochen aus Acetessigsäure gebildete Aceton wird in eine Jodlösung überdestilliert und zu Jodoform umgesetzt; die überschüssige Jodmenge wird durch Titration mit Natriumthiosulfat bestimmt. Die β -Oxybuttersäure wird durch Kochen mit Bichromatschwefelsäure ebenfalls in Aceton umgewandelt und dann in derselben Weise bestimmt.

Erforderliche Reagenzien:

1. 2 % ige Lösung von Kaliumbichromat in 20 % iger Schwefelsäure.
2. 10 % ige Essigsäure.
3. 25 % ige Natronlauge.
4. n/100 Jodlösung.
5. n/100 Natriumthiosulfatlösung.
6. 1 % ige Stärkelösung.

Ausführung: Mit einer Stangenpipette von 1 cm^3 Inhalt wird 0.5 cm^3 Harn (bei starkem Ausfall der qualitativen Probe $0.4\text{--}0.25\text{ cm}^3$) in einen Mikrokjeldahl-Kolben von 50 cm^3 Inhalt überführt und dazu

¹⁾ Lublin, Bioch. Zeitschr. 1922, Bd. 133. — Klin. Wochenschr., 1. Jahrg., Nr. 15, 35 u. 46.

25 cm^3 Wasser + 1 cm^3 10% ige Essigsäure (zur Bindung der Phenole) und eine Spur Talkum gegeben. Alsdann wird der Kolben an das Destillationsrohr eines Mikrokjeldahl-Apparates nach Bang¹⁾ gesetzt und sein Inhalt mit sehr niedrigem, gegen Luftzug geschütztem Bunsenbrenner 10 Minuten in eine Vorlage A destilliert, die aus 40 cm^3 Wasser, 10 cm^3 n/100 Jodlösung und 5 cm^3 25% iger Natronlauge in einem Erlenmeyer-Kolben von 200 cm^3 Inhalt besteht. Nach 10 Minuten ersetzt man bei unverändert weitergehender Destillation die Vorlage A durch eine Vorlage B, die aus 40 cm^3 Wasser und 15 cm^3 n/100 Jodlösung (da der

β -Oxybuttersäuregehalt gewöhnlich das 4–7fache des Acetongehaltes beträgt) und 5 cm^3 25% ige Natronlauge in einem Erlenmeyer-Kolben von 200 cm^3 Inhalt besteht, und läßt aus einem kleinen Scheidetrichter unter Vermeidung von Acetonverlust langsam 20 cm^3 Kaliumbichromatschwefelsäure (2 g Kaliumbichromat, 80 cm^3 Wasser, 20 cm^3 100 volumenprozentige Schwefelsäure) in den Kjeldahl-Kolben tropfen. Nach weiteren 10 Minuten wird diese zweite Destillation unterbrochen.

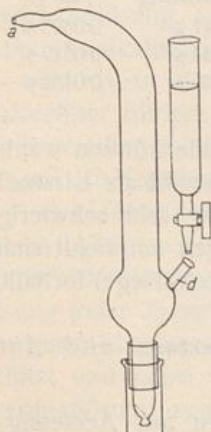
Die Kaliumbichromatschwefelsäure muß gleichmäßig tropfen, etwa 1 Tropfen pro Sekunde. Um ein zu schnelles Tropfen und Stagnation der Tropfen im Destillationsrohr, die ein Herübersaugen des Vorlageinhaltes in den Destillierkolben zur Folge haben kann, zu vermeiden,

empfiehlt es sich, den unteren Teil des Destillationsrohres etwa 1 cm^3 im lichten Durchmesser weit anfertigen, schräg abschneiden (mit dem längeren Ende nach der Seite der Chromatzuführung), unten im ganzen etwas centralaufwärts biegen und in ein Knöpfchen auslaufen zu lassen. Der in den Kjeldahl-Kolben hineinragende Teil des Destillationsrohres soll so weit sein, daß er, mit einem Stück Gummischlauch überzogen, fest in den Hals des Kjeldahl-Kolbens hineingesteckt werden kann. Obenstehende Abb. 50 zeigt den Destillationsaufsatz, dessen oberes Ende a durch ein Stück Paragummi mit dem wassergekühlten Destillationsrohr, und dessen seitliches Ende d ebenfalls durch ein Stück Paragummischlauch mit dem Scheidetrichter zu verbinden sind.

Jede der beiden Vorlagen wird unmittelbar nach beendeter Destilla-

¹⁾ Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden 1916, Bergmann.

Abb. 50.



tion titriert. Dazu säuert man mit 5 cm³ 25 % iger Schwefelsäure an und gibt 3 Tropfen einer 1 % igen Stärkelösung hinzu. Darauf wird mit einer n/100 Thiosulfatlösung aus einer Bangschen Mikrobürette aus Blau nach Farblos titriert. Sollte wegen sehr starker Acetonurie zu wenig Jod vorgelegt sein, was man daran erkennt, daß nach Schwefelsäure-zusatz keine Gelb- oder Braunfärbung auftritt, so kann die Analyse wiederum dadurch gerettet werden, daß man die Vorlage abermals durch 5 cm³ 25 % iger Natronlauge alkalisch macht, sie nach Zufügung neuer Jodlösung 5 Minuten stehen läßt und dann wieder mit 5 cm³ 25 % iger Schwefelsäure ansäuert. Empfehlenswerter ist aber, die Bestimmung mit einer entsprechend kleineren Harnmenge zu wiederholen.

Blindbestimmungen mit 25 cm³ Wasser, 1 cm³ 10 % iger Essigsäure und Talkum müssen von Zeit zu Zeit angestellt werden.

Berechnung: Die Anzahl der bei der Vorlage *A* verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfatlösung wird von der bei der Blindbestimmung ermittelten abgezogen und ergibt so den Jodverbrauch; dieser multipliziert mit 9.67 und dividiert durch die Anzahl der verwandten Kubikzentimeter Urin ergibt die Acetonmenge in Milligrammprozenten. Die bei der Vorlage *B* verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfatlösung werden ebenfalls von den bei dem entsprechenden Blindversuch verbrauchten abgezogen, mit 25 multipliziert und durch die Anzahl der benutzten Kubikzentimeter Harn dividiert; so erhält man die vorhandene β -Oxybuttersäure in Milligrammprozenten.

An Stelle der ziemlich kostspieligen Bang-Apparatur kann man sich eines 100-cm³-Kjeldahl-Kolbens und eines rechtwinklig gebogenen Glasrohres bedienen, dessen beide Schenkel je 5 cm lang sind. Der eine Schenkel wird durch die eine Öffnung eines doppelt durchbohrten Stopfens in den Hals des Kjeldahl-Kolbens geführt, während der andere Schenkel durch ein Stückchen Gummischlauch mit dem wassergekühlten Destillationsrohr verbunden wird. Durch die zweite Öffnung des Stopfens wird ein möglichst kurzes, S-förmig gekrümmtes Glasrohr eingeführt, das durch ein Stückchen Gummischlauch mit einem Scheidetrichter verbunden wird. Der wassergekühlte Teil des Destillationsrohres und der Mantel der Kühlung brauchen nicht aus Metall zu bestehen, sondern können aus Glas gefertigt sein.

Der Hauptvorteil dieser Lublinschen Methode besteht darin, daß sie für klinische Zwecke bei ausreichender Genauigkeit nur 20 Minuten Arbeitszeit erfordert.

C. Bestimmung der Gesamtsäure nach Moritz.

10 cm^3 Harn werden zur Ausfällung des Kalks mit einer Messerspitze reinen Kaliumoxalats (puriss. Kahlbaum) versetzt, nach einigen Minuten einige Tropfen Phenolphthalein hinzugefügt und mit $n/10$ Natronlauge bis zur dauernden Rotfärbung titriert. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Natronlauge multipliziert mit $\frac{1}{100}$ der Tagesharnmenge ergibt die Gesamtsäure, die bei gleichbleibender Kost ein gutes Urteil über die Harnacidose gestattet.

D. Ammoniakbestimmung nach Ronchèse-Malfatti.

Prinzip: Die Methode beruht auf der Tatsache, daß bei Einwirkung von Formalin auf Ammoniaksalze des Urins saure Verbindungen entstehen, die durch einfache Acidimetrie bestimmt werden können. Das zu verwendende Formalin wird wegen seines Gehaltes an Ameisensäure mit Phenolphthalein als Indikator durch $n/10$ Natronlauge bis zur eben beginnenden Rotfärbung neutralisiert.

Ausführung: 25 cm^3 Harn werden durch $n/10$ Natronlauge mit Phenolphthalein als Indikator neutralisiert, darauf 10 cm^3 neutralisiertes Formalin zugesetzt, worauf die rote Farbe wieder verschwindet. Nunmehr wird erneut $n/10$ Natronlauge bis zur abermaligen Rotfärbung zugesetzt. Jeder Kubikzentimeter der bei der zweiten Neutralisierung verbrauchten Natronlauge entspricht 1.7 mg Ammoniak. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Natronlauge multipliziert mit 0.0017 und dem 10. Teil der Tagesharnmenge ergibt also das darin enthaltene Ammoniak in Grammen.

Diese Ammoniakbestimmung kann unmittelbar an die Bestimmung der Gesamtsäure angeschlossen werden.

E. Bestimmung des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahl¹⁾.

Prinzip: Der gesamte im Urin enthaltene Stickstoff wird durch Kochen mit konzentrierter Schwefelsäure in Ammonsulfat überführt, das Ammoniak durch Erhitzen mit starker Lauge entfernt und in Schwefelsäure von bestimmtem Gehalt aufgefangen; der übrig bleibende Rest der Säure wird durch Titration mit Lauge ermittelt. Aus der so festgestellten Ammoniakmenge wird der Stickstoff errechnet.

¹⁾ Kjeldahl, Zeitschr. f. anal. Chemie 1883, Bd. 22, S. 366—382.