

die Verfasser Mischungen aus Perubalsam mit allen bekannteren Verfälschungsmitteln her und zwar mit je 5 und 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Diese Mischungen gelangten in der beschriebenen Weise zur Untersuchung; die Resultate haben die Verfasser in einer Tabelle zusammengestellt, auf die ich nur verweisen kann. Aus diesen Resultaten folgt, dass sich mittels der Bromerhitzungsprobe die hauptsächlichsten Verfälschungsmittel des Perubalsams nachweisen lassen.

**Über die quantitative Bestimmung von Kantharidin** hat L. E. Walbum<sup>1)</sup> Versuche angestellt. Das Kantharidin kommt bekanntlich in den spanischen Fliegen vor; es verhält sich wie ein Säureanhydrid, welches mit Alkalien Salze bildet. In der Droge ist es teils im freien Zustande, teils an verschiedene, zum Teil unbekannte Stoffe mit basischem Charakter gebunden. Von den in der Literatur mitgeteilten Methoden zur quantitativen Bestimmung von Kantharidin eignen sich einige für die getrennte Ermittlung des freien und des gebundenen Kantharidins, während man nach anderen nur den Gesamtgehalt der spanischen Fliegen an Kantharidin feststellen kann. Zu den zuerst genannten Methoden gehört die von Baudin<sup>2)</sup> mitgeteilte, zu den letzt genannten dagegen die von Self und Greenish<sup>3)</sup> veröffentlichte. Walbum hat beide Methoden kritisch geprüft; da es aber nicht möglich ist, hier eingehend über die von dem Verfasser ausgeführten Versuche zu berichten, so muss ich mich damit begnügen, auf das Original zu verweisen.

### 3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

**K. Spiro.**

**Kohlehydrate.** Nach F. v. Fillinger<sup>4)</sup> kann man die Zuckerbestimmungsmethoden von Bang<sup>5)</sup> und Pavy<sup>6)</sup> zweckmäßig kombinieren. Dazu sind erforderlich: Lösung I enthaltend 250 g Rhodankalium, 250 g Kaliumkarbonat und 25 g Kaliumbikarbonat in 1 l Wasser, Lösung II 4,278 g kristallisierten Kupfervitriol in 1 l

1) Pharm. Zentralhalle **50**, 661.

2) Journ. de Pharm. et de Chimie **18**, 391.

3) Pharm. Journ. [4] **24**, 324.

4) Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussmittel **22**, 605.

5) Vergl. diese Zeitschrift **46**, 611 (1907); **52**, 131 u. 521 (1913).

6) Vergl. diese Zeitschrift **48**, 67 (1909).

Wasser. Vor den Titrierkolben sind zwei Erlenmeyerkolben mit alkalischer Pyrogallollösung vorgeschaltet. Man bringt in den Titrierkolben je 20 *ccm* der Lösungen I und II, kocht 3 Minuten zur Vertreibung des Sauerstoffs und lässt dann aus einer luftdicht in den Kolben eingeführten Bürette unter beständigem Kochen die zu untersuchende Flüssigkeit bis zur Entfärbung einfließen. Der Zuckergehalt wird durch eine Vorprobe mittels einer Lösung III ungefähr ermittelt, welche die Zusammensetzung besitzt: 200 *g* Rhodankalium, 250 *g* Kaliumkarbonat, 50 *g* Kaliumbikarbonat und 10,42 kristallisierten Kupfervitriol in 1 *l*. Man kocht in 5 Bechergläsern  $\frac{1}{5}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1 *ccm* der zu untersuchenden Flüssigkeit mit 10 *ccm* der Lösung III, welche durch 0,01 *g* Glukose entfärbt werden. Die Flüssigkeit ist danach für die Hauptbestimmung möglichst auf die Konzentration 0,1 ‰ zu bringen. Eiweiss ist nach Rona und Michaelis<sup>1)</sup> zu entfernen. Die Methode gewinnt an Zuverlässigkeit, wenn dem Gemisch der Lösungen I und II im Reduktionskolben noch 3—4 *g* Chlornatrium zugesetzt werden.

Zum Nachweis von Lävulose neben Dextrose im Harn versetzt A. Jolles<sup>2)</sup> 1 *ccm* des 10fach verdünnten Harns mit 8—10 Tropfen 20-prozentiger alkoholischer Diphenylaminlösung und 1 *ccm* konzentrierter Salzsäure und erhitzt zirka 50 Sekunden. Rotfärbung, Trübung und Niederschlag zeigen Lävulose an. Man kann so noch 0,1 ‰ Lävulose neben 4—5 ‰ Dextrose nachweisen.<sup>3)</sup>

Die polarimetrische Bestimmung des Rohrzuckers neben Dextrose mittels Zerstörung der letzteren durch Alkali<sup>4)</sup> ist nach Jolles<sup>5)</sup> auch im Harn möglich. Man verfährt zu diesem Zwecke folgendermaßen: Harne bis zu 5 ‰ Dextrose werden im Verhältnis 1 : 1, Harne mit mehr als 5 ‰ Dextrose im Verhältnis 1 : 2 mit destilliertem Wasser verdünnt. 100 *ccm* der Verdünnung werden mit 2,5 *ccm* einer 4 n-Natronlauge im geschlossenen Gefässe 24 Stunden ununterbrochen bei 37° gehalten. Abkürzung der Zeit durch höhere Temperatur oder stärkere Lauge ist nicht zu empfehlen. Die Flüssigkeit wird nach dem Abkühlen mit Essigsäure schwach angesäuert,

1) Vergl. diese Zeitschrift 48, 135 (1909) u. 49, 67 (1910).

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie 81, 203; durch Chem. Zentralblatt 83, II, 1582.

3) Vergl. diese Zeitschrift 50, 732 (1911).

4) Vergl. diese Zeitschrift 50, 393 (1911), 51, 516 (1912), 52, 240 (1913) und 53, 314 (1914).

5) Biochem. Zeitschrift 43, 56.

50 *ccm* mit 5 *ccm* 10-prozentiger Bleiazetatlösung auf 55 *ccm* aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert. Bei Abwesenheit von Saccharose resultiert eine geringe negative Enddrehung ( $- 0,3^{\circ}$ ). Einer Rechtsdrehung von  $+ 1^{\circ}$  im Apparat von Soleil-Ventzke entsprechen 0,278 % Saccharose. Der Gehalt des Urins ist daraus je nach der Verdünnung zu berechnen.

Zum Nachweis von Pentosen im diabetischen Harn werden nach A. Jolles<sup>1)</sup> 100 *ccm* Harn mit 4 *g* salzsaurem Phenylhydrazin und 8 *g* Natriumazetat 1 Stunde im siedenden Wasserbade erwärmt; der nach dem Erkalten abfiltrierte Niederschlag wird mit 15 *ccm* heißen Wassers 5 Minuten in einem siedenden Wasserbade erhitzt, rasch filtriert und mit 6 *ccm* konzentrierter Salzsäure versetzt. Hiervon werden zirka 6 *ccm* abdestilliert. 3 *ccm* des Destillats geben mit 5 *ccm* des Bial'schen Reagenses nach kurzem Kochen Grünfärbung. Die Probe ist bei Anwesenheit von 0,05 % Pentose noch deutlich.<sup>2)</sup> -

Zur Bestimmung des Traubenzuckers in physiologischen Flüssigkeiten haben K. Reicher und E. H. Stein<sup>3)</sup> die  $\alpha$ -Naphtholprobe kolorimetrisch verwandt. Das eigens dazu konstruierte Röhrchen (zu haben bei J. D. Riedel, Berlin) wird bis zur Marke 10 mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt, auf die Säure eine Tablette von  $\alpha$ -Naphthol (0,05 *g*) geworfen, langsam mit 2 *ccm* der zu untersuchenden Flüssigkeit versetzt und vorsichtig gemischt. Dann wird mit konzentrierter Schwefelsäure bis zur Marke 20 aufgefüllt und gut durchgemischt. Die quantitative Bestimmung erfolgt durch kolorimetrischen Vergleich mit einer 0,02-prozentigen Traubenzuckerlösung. Eiweißhaltige Flüssigkeiten sind zuvor bei streng neutraler Reaktion nach Rona und Michaelis zu behandeln.

Zur Bestimmung des Harnzuckers empfiehlt A. C. Andersen<sup>4)</sup>, 40 *ccm* Harn mit 50-prozentiger Essigsäure auf 50 *ccm* aufzufüllen und mit 4 *g* gepulverter Blutkohle zu schütteln. Ivar Bang<sup>5)</sup> fügt zum gleichen Zwecke zu 18 *ccm* Harn und 2 *ccm* 95—97-prozentigem Alkohol einen Teelöffel Blutkohle (Merck), wodurch etwa 50 % der reduzierenden Stoffe

1) Zentralblatt f. innere Med. 1912, Nr. 28.

2) Vergl. diese Zeitschrift 45, 196 u. 399 (1906) und 46, 616 u. 764 (1907).

3) Biochem. Zeitschrift 37, 321 u. 38, 344.

4) Biochem. Zeitschrift 37, 262.

5) Biochem. Zeitschrift 38, 168.

entfernt werden. Der Zuckergehalt darf 0,5 % nicht überschreiten, andernfalls ist der Harn zu verdünnen.<sup>1)</sup>

Nach Clarence E. May<sup>2)</sup> wird der Harn folgendermaßen geklärt: 50 *ccm* Harn werden mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure und 50 *ccm* einer 2-prozentigen Phosphorwolframsäurelösung versetzt, auf 150 *ccm* verdünnt und filtriert. 100 *ccm* des Filtrats werden mit Barytwasser schwach alkalisch gemacht, auf 200 *ccm* aufgefüllt und das Filtrat hiervon analysiert.

Über die Bestimmung des Traubenzuckers in Blut und Harn macht B. Oppler<sup>3)</sup> methodische Angaben: Die physiologischen Flüssigkeiten sind mit Phosphorwolframsäure, Bleiazetat und Schwefelwasserstoff vorzubehandeln<sup>4)</sup>; alsdann ist die polarimetrische Bestimmung die genaueste. Die Methode von Bertrand liefert demgegenüber etwas höhere Werte. Eine «fraktionierte Reduktion» lässt die durch reduzierende Beimengungen bedingten Fehler einigermaßen ausgleichen.

Der Blutzucker wird nach E. Herzfeld<sup>5)</sup> mit Methylenblau in alkalischer Lösung folgendermaßen titriert: 3—5 *ccm* frisches Serum oder Vollblut werden mit der etwa 3-fachen Menge 10-prozentiger Metaphosphorsäure versetzt, nach etwa 10 Minuten filtriert und der Niederschlag mit etwas Metaphosphorsäure nachgewaschen. Das wasserklare Filtrat (frei von Eiweiss, Cholesterin und Bilirubin) wird mit Kalilauge neutralisiert, weiter mit 0,5 *ccm* 20-prozentiger Kalilauge versetzt, vorsichtig erhitzt und beim Eintreten einer gelblichen Farbe mit einer Methylenblaulösung 1 : 100 000 in der Hitze titriert. Das Methylenblau ist sehr vorsichtig ohne Schütteln zuzufügen. Der Endpunkt ist erreicht, wenn die Flüssigkeit auch bei vorsichtigem Umrühren mit einem Glasstab gefärbt bleibt. 1 *ccm* der angewandten Lösung entspricht 0,000625 *g* Traubenzucker.

Zur polarimetrischen Zuckerbestimmung in der Milch empfiehlt E. Salkowski<sup>6)</sup>, dieselbe durch Sättigen mit Ammoniumsulfat (17,5 *g* auf 50 *ccm*) von Eiweiß zu befreien und zwecks leichteren Filtrierens mit dem gleichen Volumen konzentrierter Ammoniumsulfat-

1) Vergl. diese Zeitschrift **50**, 732 (1911).

2) Journ. of. Biol. Chem. **11**, 81.

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie **75**, 71.

4) Vergl. diese Zeitschrift **50**, 732 (1911).

5) Zeitschrift f. physiol. Chemie **77**, 420

6) Zeitschrift f. physiol. Chemie **78**, 89.

lösung zu verdünnen. Die Probe mit Fehling'scher Lösung erfordert wegen der Umsetzung der Natronlauge mit dem Ammoniumsulfat sehr viel Natronlauge.

Einen einfachen Nachweis des Vorkommens von gepaarter Glukuronsäure im Harn geben Carl Neuberg und Omer Schewket<sup>1)</sup> an: In einem kleinen Scheidetrichter versetzt man 10 *ccm* möglichst frischen Harns (freie Glukuronsäure geht nicht in Äther über) mit etwa 2 *ccm* verdünnter Schwefelsäure, fügt sofort 10 *ccm* gewöhnlichen Alkohol und 20 *ccm* Äther hinzu. Nach mehrfachem kräftigem Durchschütteln befördert man die Abtrennung der ätherischen Schicht durch Zugabe einiger Kubikzentimeter Wasser oder Kochsalzlösung. Diese wäscht man noch mit Wasser oder Kochsalzlösung und filtriert sie in eine Porzellanschale. Nach Zusatz von 5 *ccm* Wasser wird der Äther auf dem Wasserbade verjagt, die zurückbleibende Flüssigkeit in 2 Teile geteilt und mit diesen die Orzin- und Naphthoresorzinprobe angestellt. 10 *ccm* normalen Harns geben positive Reaktionen.

Zur Ausführung der Tollens'schen Glukuronsäurereaktion<sup>2)</sup> in diabetischem Harn empfiehlt A. Jolles<sup>3)</sup>, den Harn erst mit Bleiazetat, dann mit Bleiessig zu fällen und die vereinigten Niederschläge nach dem Entbleien zur Reaktion zu verwenden.<sup>4)</sup>

Zur polarimetrischen Bestimmung des Glukosamins im Ovomuroid verfahren Carl Neuberg und Omer Schewket<sup>5)</sup> folgendermaßen: 1 *g* Ovomuroid wird mit 50 oder 100 *ccm* 7-prozentiger Salzsäure 3 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht und die Flüssigkeit in einer Schale auf dem Wasserbade bei niederer Temperatur zur Trockne eingedampft. Die Lösung des Rückstandes in wenig Wasser wird in einem feingradierten Mischzylinder erst mit einer 25-prozentigen Merkuriazetatlösung, dann mit reiner Phosphorwolframsäure behandelt. Die von den Fällungen abfiltrierte Flüssigkeit ist farblos und klar und kann polarisiert werden. Die Berechnung hat die eingehaltenen Volumverhältnisse zu berücksichtigen. Beim Pseudomuzin ist die Salzsäurehydrolyse 30 Stunden lang fortzusetzen, das übrige Verfahren stimmt mit dem obigen überein.

Bei der Zuckerbestimmung in peptonhaltiger Lösung muss entweder das Pepton erst ausgefällt oder das Kupferoxydul in das

1) Biochem. Zeitschrift **44**, 502.

2) Vergl. diese Zeitschrift **48**, 657 (1909) und **50**, 66 (1911).

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie **81**, 203.

4) Vergl. diese Zeitschrift **49**, 389 (1910).

5) Biochem. Zeitschrift **44**, 491.

Rhodanür übergeführt werden, da nach Alessandro Bernardi<sup>1)</sup> sonst zu hohe Werte erhalten werden. Wie Pepton verhält sich auch Fischleim.

Zur Bestimmung der Diastase in Organen geben H. Schirokauer und G. G. Wilenko<sup>2)</sup> folgendes Verfahren an. Von dem zu untersuchenden, völlig blutfrei gespülten und mit Fließpapier getrockneten Organ wird eine abgewogene Menge (zirka 10 g) mit dem doppelten Quantum Seesand unter allmählichem Zusetzen gut zerrieben. Die Masse wird quantitativ mit 0,85-prozentiger Kochsalzlösung in einen Schüttelkolben übergeführt und darin mit 30 *ccm* Kochsalzlösung eine Stunde geschüttelt, die Flüssigkeit abgegossen und zentrifugiert. Mit der so erhaltenen Emulsion wird eine Reihe von Reagensgläsern in absteigender Menge nach J. Wohlgemuth<sup>3)</sup> beschickt, auf 1 *ccm* aufgefüllt und mit 5 *ccm* Stärkelösung und 1 *ccm* Toluol versetzt. Die Stärkelösung soll für Leber  $\frac{1}{10}$ -prozentig sein, sonst  $\frac{1}{2}$ -prozentig. Die Reagensgläser bleiben 24 Stunden bei 38° und werden zu Anfang, nach 8 und nach 16 Stunden gut durchgeschüttelt. Mindestens 4 Stunden nach dem letzten Schütteln wird der Versuch abgebrochen und die Endbestimmung nach Wohlgemuth vorgenommen. Die Resultate werden auf 1 g Organ und 1-prozentige Stärkelösung umgerechnet.

Eine kritische Studie über Zuckerbestimmungen mittels der Kupferreduktionsmethoden veröffentlicht A. W. Peters<sup>4)</sup>, auf welche hier nur verwiesen sei.

Lester Reed<sup>5)</sup>, teilt eine angenäherte Stärkebestimmung durch Jod mit.

Zwei Verschärfungen der Trommer'schen Probe gibt E. Salkowski<sup>6)</sup> an.

Die Seliwanoff'sche Lävulosereaktion<sup>7)</sup> erfordert nach Harry Koenigsfeld<sup>8)</sup> die Kautelen, dass nicht über 2% Dextrose, nicht über 12,5% Salzsäure anwesend sind und nicht länger als 20—30 Sekunden erhitzt wird, weil sonst Dextrose in Lävulose übergeht.

1) Biochem. Zeitschrift **41**, 160 u. **43**, 275.

2) Biochem. Zeitschrift **33**, 275.

3) Biochem. Zeitschrift **9**, 1. — Vergl. auch diese Zeitschrift **48**, 790 (1909).

4) Journ. Americ. Chem. Soc. **34**, 928.

5) Chem. News **104**, 271.

6) Zeitschrift f. physiol. Chemie **78**, 164.

7) Vergl. diese Zeitschrift **33**, 230 (1894) u. **40**, 559 (1901).

8) Biochem. Zeitschrift **38**, 310.

Aleuron- und Stärkekörner können nach O. Tunmann<sup>1)</sup> durch folgende Lösung unter dem Mikroskop braun gefärbt werden: Konzentrierte Rohrzuckerlösung, mit 0,5 % Jodkalium und 0,2 % Jod versetzt.

Zellulose kann mikrochemisch mit der von J. A mann<sup>2)</sup> angegebenen Chlorzinkjodlösung nachgewiesen werden, welche folgende Zusammensetzung hat: Chlorzink 10,0 g, Jodkalium 2,5 g, Jod 0,25 g und Wasser 10,0 g. Verdauliche Zellulose färbt sich violett, unverdauliche mehr oder weniger stark gelb.

#### 4. Auf gerichtliche Chemie bezügliche Methoden.

Von

A. Czapski.

**Über den quantitativen Blutnachweis.** Es handelt sich bei gerichtlichen Untersuchungen häufig nicht nur darum, die Anwesenheit von Blut zu konstatieren, sondern in vielen Fällen ist es auch von grosser Wichtigkeit, zu wissen, wie viel Blut die Untersuchungsobjekte enthalten.

Dieser Frage ist Loo ck<sup>3)</sup> nähergetreten und veröffentlicht hierüber folgendes.

Er gibt zunächst eine kritische Betrachtung der bis jetzt zu dem genannten Zweck angewandten Verfahren und beleuchtet die mehr oder weniger grossen Mängel, welche diesen anhaften.

Es dürfte ja wohl kaum möglich sein, eine Methode zu finden, welche die Bestimmung des vorhandenen Blutes ohne jeglichen Fehler gestattet. Namentlich bei altem Blut würden die bei demselben eintretenden Fäulnisvorgänge dies verhindern. Aber im allgemeinen wird die von Loo ck empfohlene Ermittlung des Eiweisses in dem Auszug aus den Untersuchungsobjekten zu Resultaten führen, die der wahren vorhandenen Blutmenge näher kommen, als die nach den bisher üblichen Verfahren erhaltenen. Die Eiweissmenge des Blutes schwankt zwischen 15 und 18 % und beträgt im Mittel 16,5 %. Hat man noch Blut des betreffenden Menschen oder der betreffenden Leiche zur Verfügung, so kann man ja den spezifischen Eiweissgehalt des Blutes derselben ge-

1) Apotheker-Zeitung 27, 261.

2) Schweiz. Wochenschrift für Chem. u. Pharm. 49, 697.

3) Zeitschrift f. öffentl. Chemie 19, 423 (1913).