

Beiträge

zur

quantitativen Eiweissbestimmung.



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Genehmigung einer

Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen
Universität zu DORPAT

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Paul Liborius.

BIBLIOTH:
ACADEM:
DORPAT:

Ordentliche Opponenten:

Prof. Dr. A. Vogel. — Prof. Dr. G. Dragendorff. — Dr. L. Senff.

DORPAT 1871.

Druck, von Heinrich Laakmann.

Gedruckt auf Verfügung der medicinischen Facultät.
(Nr. 247.) Decan Boettcher.
Dorpat, d. 28. Oct. 1871.

MEINEN ELTERN

IN DANKBARKEIT UND LIEBE

GEWIDMET.

Einleitung.

Welche Bedeutung in neuerer Zeit dem Auftreten von Eiweiss im Harn beigemessen wird, geht aus den vielfachen Bestrebungen hervor, eine einfache und doch möglichst genaue Methode zu finden, um im gegebenen Falle die Menge des Eiweisses bestimmen zu können. Nachdem durch Liebig in seiner Titrimethode ein Weg angebahnt war, um in wenig zeitraubender Weise den Harnstoff quantitativ zu bestimmen, und es dadurch möglich wurde, längere Zeit hindurch die tägliche Harnstoffausscheidung eines Patienten vergleichend zu beobachten, gelang es auch manche von den Einflüssen kennen zu lernen, welche bei letzterer eine Rolle spielen. Je mehr Resultate in dieser Richtung erzielt wurden, desto fühlbarer machte sich der Mangel einer Methode, die in ebenso leicht ausführbarer Weise die quantitative Eiweissbestimmung im Harn ermöglichte. Die verhältnissmässig grosse Anzahl der vorgeschlagenen Methoden ist aber auch zugleich Beweis für die grösseren oder geringeren Mängel jeder einzelnen.

Den Werth der gegebenen Methoden zu prüfen, Erfahrungen über die mit ihrer Ausführung verknüpften Schwierigkeiten, so wie über die Genauigkeit der durch dieselben erzielten Resultate zu sammeln, muss als eine ebenso interessante, wie dankenswerthe Aufgabe betrachtet werden. Als mir daher Herr Professor Dragendorff auf meine Bitte um ein Thema zu meiner Inaugural-Dissertation vorschlug, die gegenwärtig gangbarsten Methoden zur quantitativen Eiweissbestimmung im Harn vergleichend zu prüfen, so ergriff ich diesen Vorschlag mit um so grösserer Freude, als es mir bereits vor einigen

D 411028

Jahren durch die Güte des Herrn Professor Dragendorff vergönnt war, eine Reihe von Harnanalysen unter seiner Leitung anzustellen, so dass ich mit manchen technischen Schwierigkeiten in dieser Beziehung nicht mehr ganz unbekannt war, deren Ueberwindung mir im entgegengesetzten Fall wohl mühevoller und zeitraubender geworden wäre.

Es lag anfangs im Plane der Arbeit, einmal die Umstände zu ermitteln, welche bei Anwendung der gewichtsanalytischen Methode die vollständigste Ausfällung des Eiweisses bewirken, dann aber vergleichende Beobachtungen zwischen der genannten Methode und gewissen anderen anzustellen, und zwar folgenden: 1. der Fällung des Eiweisses durch Alkohol und Bestimmung der Menge durch Wägung; 2. der Berzeliuss'schen Methode; 3. der sogenannten Differentialmethode von Haebler; 4. der quantitativen Bestimmung mittelst des Polarisationsapparates nach Hoppe-Seyler: endlich 5. der Fällung durch Phenylsäure und quantitativen Bestimmung durch Wägung nach Méhu.

Eiweissbestimmungen nach der optischen Eiweissprobe von Prof. A. Vogel ¹⁾ zu machen, lag nicht in meiner Absicht, da der Werth derselben im Vergleich zur Scherer'schen Methode sowohl durch Prof. Vogel selbst, als auch durch Dr. E. Masing ²⁾ genügend festgestellt ist. So lange die Scherer'sche Methode ihren Platz als Controlmethode für die Genauigkeit anderer bewahrt, so lange wird auch die Vogelsche ihre Bedeutung für den praktischen Arzt nicht verlieren. — Was die Boedekersche Titirmethode ³⁾ anlangt, so fühlte ich mich aus dem Grunde

1) Eine neue Eiweissprobe von Dr. Alfred Vogel, D. Arch. f. klin. Med. von Ziemssen u. Zenker, Bd. III, Heft I, p. 143, 1867.

2) Beiträge zur Albuminometrie von Ernst Masing. Inaug.-Diss. 1867. Dorpat. Ferner: Beobachtungen über die Ausscheidung des Eiweisses durch die Nieren an einigen Fällen von parenchymatöser Nephritis von Dr. E. Masing. St. Petersburger Med. Zeitsch, Bd. XVI, Heft 6. 1869.

3) Das Aequivalent des Albumins und Syntonins und deren Titrirung von C. Boedeker. Annalen der Chemie u. Pharmacie v. Wöhler, Liebig u. Kopp. Bd. CXI, p. 195. 1859.

nicht veranlasst, Versuche nach derselben anzustellen, weil man wohl sagen kann, dass die Akten über dieselbe geschlossen sind, und sie wohl fast von allen Autoren durchaus ungünstig beurtheilt wird. — Ebenso wenig lag es in meiner Absicht, Versuche nach dem Schwarzenbach'schen ¹⁾ Modus der quantitativen Eiweissbestimmung mittelst Kaliumplatincyantür anzustellen, weil die Methode doch schwerlich jemals weitere Verbreitung finden kann, da die mit ihrer Ausführung verknüpften Kosten unverhältnissmässig hoch sind.

Wenn ich den Aufgaben, die ich mir gestellt, nicht in dem Umfange nachgekommen bin, wie ich es anfangs beabsichtigte, so lag der Grund darin, dass mich ein Referat ²⁾ über Untersuchungen, die von Prof. Almén in Upsala angestellt wurden, und in das ich erst im Laufe meiner Arbeiten Einsicht erhielt, veranlasste, diesen eine ganz andere Richtung zu geben. Almén spricht nämlich, auf seine Erfahrungen beim qualitativen Nachweis des Albumin im Harn gestützt, die Vermuthung aus, das Tannin könne vielleicht in Zukunft auch bei der quantitativen Eiweissbestimmung Bedeutung erlangen.

Auf Prof. Dragendorff's Rath unternahm ich daher den Versuch, Beobachtungen darüber anzustellen, ob sich eine Gerbsäurelösung zum Titriren von eiweisshaltigen Flüssigkeiten eigne. — Leider sind jedoch die von mir gewonnenen Resultate noch so wenig entscheidend, dass ich vorläufig nichts weiter beanspruchen darf, als zu weiteren Untersuchungen in Bezug auf diese Methode eine grössere Anzahl von Vorversuchen und damit auch vielleicht einige Fingerzeige von praktischer Bedeutung geliefert zu haben. Als Entschuldigung für diese Mängel meiner Arbeit erlaube ich mir, die Kürze der mir durch

1) Ueber das Verhältniss des Albumins zum Casein von Professor Schwarzenbach in Bern. Annalen der Chemie u. Pharmacie v. Wöhler, Liebig u. Kopp Bd. CXXXIII. p. 185. 1865.

2) Die Empfindlichkeit verschiedener Methoden zum Nachweis von Albumin im Urin (Upsala Läkare Förhandlingar. V. 6. 535. 1870) ref. N. Jahrb. f. Pharm. u. verw. Fächer. Bd. XXXIV. p. 215. 1870.

äussere Verhältnisse zugemessenen Zeit, so wie den Umstand anzuführen, dass der grösste Theil meiner Arbeiten in die Zeit der Sommerferien fiel, wo die klinischen Anstalten geschlossen waren und ich mich wegen Mangels an anderem Beobachtungsmaterial auf Versuche mit künstlichen Eiweissmischungen beschränken musste.

Was die Eintheilung meiner Arbeit anbetrifft, so betrachte ich im ersten Abschnitt derselben die Scherer'sche Methode im Vergleich zur Berzelius'schen und zur Methode durch Alkohol-fällung; im zweiten die Haebler'sche Differentialmethode; im dritten die quantitative Bestimmung des Eiweisses mittelst des Polarisationsapparates nach Hoppe-Seyler; im vierten die Méhu'sche Methode (Fällung des Eiweisses mittelst Penylsäure und Wägung des erhaltenen Niederschlags); im fünften endlich die mit Tanninlösung gemachten Titrirversuche.

Indem ich aber zur Veröffentlichung der von mir gewonnenen Resultate schreite, erlaube ich mir, meinem hochverehrten Lehrer, Hrn. Prof. Dr. Dragendorff, meine aufrichtige Dankbarkeit auszudrücken nicht allein für die stets gleiche Freundlichkeit, mit der er mir bei meinen Untersuchungen seinen Rath und seine Unterstützung gewährte, sondern auch für die Güte, mit der er mir bei früheren Gelegenheiten anregend und fördernd entgegengekommen ist.

Zugleich erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. emer. Dr. Bidder und Herrn Prof. Dr. Vogel meinen herzlichsten Dank darbringe für die Freundlichkeit, mit der sie mir die Benutzung ihrer Bibliotheken gestatteten.

I. Die gewichtsanalytische Methode von Scherer im Vergleich zur Berzelius'schen Methode und zu der Methode der Alkohol-fällung.

Um den Eiweissgehalt eines Harns zu bestimmen, bedient man sich auch noch gegenwärtig, wenn es darauf ankommt, möglichst genaue Resultate zu erzielen, oder andere Methoden zu controliren, fast allgemein der gewichtsanalytischen Methode von Scherer. Die Schwierigkeiten aber, welche mit ihrer Ausführung, die ich als bekannt voraussetze, verknüpft sind und welche es dem Kliniker, geschweige denn dem praktischen Arzt fast immer unmöglich machen, sie anzuwenden, erweckten das Bedürfniss, eine andere Methode zu finden, welche in einfacherer und bequemerer Weise zu demselben Ziele führen sollte. Dieses Bedürfniss ist um so grösser, als man erwarten darf, durch zahlreiche quantitative Eiweissbestimmungen im Harn, namentlich wenn sie mit Berücksichtigung aller äusseren Einflüsse auf den betreffenden Patienten längere Zeit hindurch täglich gemacht worden sind, wichtige Aufschlüsse über manche noch ungelöste Frage des Stoffwechsels sowohl, als auch über den Einfluss gewisser medicamentöser und diätetischer Verordnungen zu erhalten.

Es ist aber noch ein anderer Umstand, welcher gegen die Anwendung dieser Methode Bedenken erweckt und welcher mich veranlasste, eine Reihe von Control-Untersuchungen anzustellen. Man hat nämlich den Einwand erhoben, dass beim Kochen von eiweisshaltigem Harn niemals eine vollständige Ausfällung des Eiweisses zu erzielen ist. Hoppe-Seyler¹⁾ sagt schon von der Scherer'schen Methode: „Bei dieser Be-

1) Handbuch der physiolog. und patholog. chemischen Analyse von Felix Hoppe-Seyler, p. 267. 1865.

stimmung wird immer etwas zu wenig gefunden, da auch beim vorsichtigsten Ansäuern mit Essigsäure etwas Albumin gelöst bleibt.“ Freilich legt er auf diesen Fehler kein grosses Gewicht. Dagegen führen Stscherbakoff und Chomjakoff¹⁾ als wesentliches Resultat ihrer Untersuchungen „zur quantitativen Eiweissbestimmung im Harn“ Folgendes an: — „die Wägungsbestimmung des coagulirten Eiweisses darf daher nicht angewandt werden, weil dabei ein grösserer oder minderer Theil des Eiweisses immer in Lösung bleibt. Da die Quantität des in Lösung bleibenden Eiweisses der des ausgefällten gleich sein oder dieselbe sogar übertreffen kann, so werden die Fehler bei dieser Methode sehr beträchtlich sein, besonders bei einem geringen Eiweissgehalt im Harn.

Die beiden letztgenannten Autoren scheinen den Grund dieser von ihnen constatirten Thatsache nicht darin zu sehen, dass es sich um verschiedene Modificationen des Eiweisses handeln könnte, sondern ihre Beobachtung lediglich auf eine durch gewisse äussere Einflüsse unvollständige Ausfällung einer und derselben Eiweissmodification zu beziehen, denn sie bezeichnen als Ursache des Gelöstbleibens eines Theils des Eiweisses den Gehalt des Harns an anorganischen Salzen.

In manchen Fällen werden Schwankungen in der Vollständigkeit der Eiweissausfällung ohne Zweifel auf derartige äussere Einflüsse, wie z. B. zu geringen Gehalt an Kochsalzlösung und nicht hinreichenden Zusatz von Essigsäure oder Ueberschuss der letzteren, zurückzuführen sein, aber von nicht minderer Bedeutung scheint mir der Umstand, dass die Gestalten, unter denen das Eiweiss im Harn auftritt, wohl mannichfaltiger sind, als man bis vor nicht langer Zeit anzunehmen geneigt war. Es ist *a priori* nicht unwahrscheinlich, dass manche Eiweissmodificationen, wenn sie im Harn, einem Medium von so sehr complicirter Beschaffenheit gelöst auftreten, in

ihren Eigenschaften noch weiter als sonst aus einander gehen, und eine oder die andere von ihnen z. B. unter Umständen auch durch Kochen vielleicht nicht gefällt wird, wie wir überhaupt bereits dem Eiweiss verwandte Körper kennen, welche beim Kochen nicht, oder unvollständig gefällt werden.

Es scheint mir gerechtfertigt zu sein, wenn ich einige Ansichten und Beobachtungen anderer Autoren, die sich auf diesen Gegenstand beziehen, meinen Untersuchungen vorausschicke, um so mehr als ich glaube, dass die Differenzen im Eiweissgehalte, den ich durch Alkohol-fällung und durch die Scherer'sche Methode bestimmte, zum Theil wenigstens darauf beruhten, dass Eiweissmodificationen im Harn vorhanden waren, welche zwar nicht durch Kochen, wohl aber durch Alkohol gefällt wurden.

C. Gerhardt¹⁾ äussert sich in einer Arbeit „Ueber die Eiweissstoffe des Harnes“ folgendermassen: „Wenn man bedenkt, dass mindestens vier Körper aus der Gruppe der Protein-substanzen normale Bestandtheile des Blutplasmas darstellen, so liegt die Frage nahe, ob von diesen unter pathologischen Verhältnissen nur ein einziger, das Serum-Eiweiss, wie man anzunehmen pflegt, in den Harn überzugehen vermöge. Diese Frage gewinnt an Berechtigung durch frühere Erfahrungen über verschiedene Reactionen der Eiweisskörper im Harn und durch bekannte Thatsachen über die verschiedenartige Entstehung des Eiweiss-harns.

In ersterer Beziehung lassen sich folgende Thatsachen erwähnen: Pavy fand, dass der Harn eines Tuberculösen, der Dialyse unterworfen, schon nach 24 Stunden viel Albumin durch die Membran von vegetabilischem Pergament durchgehen liess, während der noch eiweiss-haltige Harn desselben Kranken 6 Monate später durch eine gleichartige Membran fast gar nichts durchtreten liess. Terreil gab an, dass der durch Alkohol

1) Deutsches Archiv f. klin. Medicin. Bd. VII, Heft 2, p. 237. 1870.

1) Deutsches Archiv f. klin. Med. Band V, Heft 2. p. 212. 1868.

erzielte Eiweissniederschlag bei transitorischer Albuminurie in Wasser wieder gelöst werden könne, bei bleibender nicht; und dass die Kupferoxydkaliprobe nur bei ersterer gelinge. Ein so durchgreifender Unterschied lässt sich freilich nicht nachweisen, doch scheint auch mir bei fiebernden Kranken mit vorübergehender Albuminurie ein grösserer Theil des Niederschlags, der durch Alkohol erzielt wird, sich in Wasser zu lösen, als bei der, die von chronischen Nierenkrankheiten herrührt. Lehmann in Kopenhagen hat im eiweisshaltigen Harn Paraglobulin nachgewiesen. Durch Verdünnen mit Wasser und Einleiten von Kohlensäure oder Zusatz von wenig Essigsäure habe auch ich bei einigen Nierenkranken dasselbe erkennen können, in manchen anderen Fällen schien es entgegen der Annahme von Lehmann zu fehlen. Endlich hat neuerdings Masing angenommen, dass Urin, der bei Zusatz von Wasser sich milchig trübe, durch Säuren, Alkalien oder Kochsalzlösung wieder klar werde, Paralbumin enthalte, und dass dieses leicht beim Stehen an der Luft in andere Formen des Eiweisses übergehe.“

Mit Bezug hierauf erlaube ich mir auch eine Stelle aus Gmelin's Handbuch der Chemie ¹⁾ zu citiren, welche folgendermassen lautet: „Dass Proteinkörper in den Harn übergehen, deren Eigenschaften mit keinem der bekannten Albuminate übereinstimmen und deren Eigenthümlichkeiten auch nicht ohne Weiteres etwa von der Harnbeimischung abgeleitet werden können, ist nach Lehman durchaus nicht in Abrede zu stellen. So fand Bence Jones (Philos. Transact., 1848, I, p. 55 — 62, und Ann. d. Chem. u. Pharm., LXVII, p. 97 — 105) im Harne eines an „mollities ossium“, jedenfalls auch an Nierendegeneration leidenden Mannes neben Fibrin-cylindern, eine eigenthümliche eiweissartige Substanz, die, durch Alkohol aus dem Harne gefällt, nachdem sie mit Alkohol ge-

1) Handbuch der Chemie von Leopold Gmelin, VIII. Band: Phyto- und Zoochemie bearbeitet und herausgegeben von C. G. Lehmann und Rochleder 1858, pag. 378.

waschen, getrocknet und gepulvert worden war, sich langsam, aber vollständig in kaltem, leichter in warmem Wasser löst, 10 Minuten nach dem Erkalten zu einer Gallerte gestand, die sich, wenn das abdunstende Wasser immer ersetzt wurde, innerhalb einer Stunde durch Kochen wieder löste. Wurde nur wenig Wasser auf das Pulver gegossen, so klebte es zusammen, wurde beim Kochen hornartig und ging selbst bei lang fortgesetztem Erhitzen in Lösung über. Das Pulver löste sich langsam in kaltem Kali, wurde durch Neutralisation der Lösung mit Essigsäure nicht präcipitirt, wohl aber durch einen Ueberschuss der Essigsäure, in dem es sich erst beim Erhitzen wieder löste; Salpetersäure gab aus der alkalischen Lösung einen in der Wärme löslichen Niederschlag, Kochen nicht; beim Abkühlen der mit Salpetersäure versetzten Lösung kam der Niederschlag wieder zum Vorschein; in der mit Essigsäure angesäuerten Lösung erzeugte gelbes Blutlaugensalz ein in Kali lösliches Präcipitat. Die wässerige Lösung war durch Kupfervitriol und Sublimat fällbar, beide Niederschläge in Essigsäure löslich, der Kupferniederschlag in Kali mit blauer Farbe, beim Erwärmen sich röthend. Salzsäure löste die Substanz mit purpurblauer Farbe; wurde die Substanz in Kali gelöst und gekocht, so wurde sie durch Bleiacetat schwarz. Die Substanz enthielt neben Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff auch Stickstoff-Phosphor und Schwefel. Auf 1000 Theile Harn kamen 66,97 der Materie. ¹⁾ Eine durch Kochen gerinnende, durch Salpetersäure nicht fällbare (mit Phosphaten nicht verwechselte) Modification des Eiweisses fand Beneke (Arch. f. wiss. Heilkunde-I, 3) im Harn eines an grosser Abspannung, Dyspepsie etc. leidenden Mannes.“

G. Edlefsen ²⁾ ferner konnte in 31 verschiedenen Fällen

1) Sollte es sich in diesem Falle nicht vielleicht um Paralbumin gehandelt haben?

2) Beiträge zur Kenntniss der Eiweissstoffe des Harns von Dr. G. Edlefsen. D. Archiv f. klin. Med., Bd. VII. Heft 1., 1870 p. 67.

von Albuminurie jedes Mal bei reichlichem Wasserzusatz eine deutliche Trübung wahrnehmen, welche durch Einleiten von Kohlensäure stärker wurde, dagegen auf Zusatz einiger Tropfen concentrirter Salzlösung, Essigsäure, Salzsäure oder eines Tropfens Ammon verschwand. Bei schwach saurem oder alkalischem Harn genügte jedoch das einfache Verdünnen mit Wasser nicht, um diese Erscheinung hervorzurufen; es bedurfte dazu erst einiger Tropfen Essigsäure oder des Durchleitens von Kohlensäure. Edlefsen bezieht diese Erscheinung auf Anwesenheit von „Paraglobulin“, obgleich er durch den gefällten Körper keine Gerinnung fibrinogenhaltiger Flüssigkeiten bewirken konnte; Kalialbuminat konnte er in dem von Globulin befreiten Harn nicht nachweisen.

Ferner muss ich noch eines eiweissartigen Körpers Erwähnung thun, der von Baylon¹⁾ auch in normalem Harn gefunden worden ist, und den er als Albuminose bezeichnet; dieselbe soll weder durch Hitze, noch durch Säuren oder Alkalien gefällt werden, wohl aber durch Tannin und viele Metallsalze. Nach Mialhe soll sich dieser Stoff zum Albumin ebenso verhalten, wie die Glykose zum Amylon.

Bechamp²⁾ endlich giebt an, in jedem normalen Urin eine durch Alcohol fällbare Proteinsubstanz beobachtet zu haben, welche bei 60—70° C. Stärke in Zucker verwandelt, und welche er Nephrozymose nennt.

In Bezug auf diese beiden Substanzen muss ich noch Folgendes bemerken:

1) Durch Zusatz von Tanninlösung erhielt ich bei allen von mir untersuchten Harnen Trübungen, bei den meisten auch deutlich flockige Niederschläge, auch in Harnen, in welchen auf gewöhnlichem Wege keine Spur von Eiweiss nachzuweisen

1) Canstatt's Jahresberichte über die Fortschritte etc., 1860, III. Bd., pag. 270.

2) Anleitung zur qual. und quant. Analyse des Harns von Neubauer und Vogel, 1867, pag. 60.

war. Ich fügte zu 1 Litre Harn etwa 200 Cc. einer 1,7 procentigen Tanninlösung; in dem entstandenen Niederschlage erhielt ich starke Stickstoff- und Schwefelreaction.

2) Durch Zusatz des vierfachen Volums 85 procentigen Alkohols konnte ich in den meisten von mir untersuchten normalen Harnen Trübungen u. bei längerem Stehen flockige Niederschläge bewirken. 1 Litre solchen sogenannten eiweissfreien Harns engte ich auf dem Wasserbade auf ungefähr 100 Cc. ein, setzte die vierfache Menge 85 procentigen Alkohols hinzu, filtrirte, wusch den Niederschlag anfangs mit destillirtem und dann mit essigsäurehaltigem Wasser so lange aus, bis einige Tropfen des Filtrats, nach Ansäuern, mit Chlorbaryumlösung keine Trübung gaben. Auch in diesem Niederschlag konnte ich Stickstoff und Schwefel in nicht unerheblicher Menge nachweisen. Durch Kupferoxydkali u. Millons Reagens erhielt ich deutliche Eiweissreaction. Um annähernd die Menge der in solchem Harn vorhandenen eiweissartigen Substanz kennen zu lernen, versetzte ich 100 Cc. eines an Phosphaten sehr reichen Harns, in welchem weder durch Kochen noch durch Salpetersäure eine Trübung zu erzielen war, mit 400 Cc. 85 procentigen Alkohols. Der Niederschlag wog 0,0416 Grm.; davon kamen, wie die Aschenbestimmung ergab, 0,0287 Grm. auf anorganische Salze. Der Rest, 0,0129 Grm., musste folglich auf organische Substanz bezogen werden. Da die Asche nicht kohlenensäurehaltig war, nehme ich an, dass im Niederschlage keine Urate vorhanden gewesen. Auch Harnsäure hatte ich in dem Niederschlage nicht bemerken können.

Was meine eigenen Versuche anbetrifft, so war ich, wie schon früher bemerkt, bei denselben hauptsächlich auf künstliche Eiweissmischungen angewiesen. Ich bereitete mir dieselben mit Ausnahme eines Falles, wo ich Serum von dem Aderlassblut eines Pneumonikers erhielt, aus Serum von Schaf- und Rinderblut. Nachdem ich letzteres direct vom geschlachteten Thier in einem reinen Glasgefäss aufgefangen, liess ich es

24 Stunden in kühler Temperatur stehen; von dem klar ab-
geschiedenen Serum wurden in der Regel 100 Cubikcentimeter
mit einer Pipette vorsichtig abgehoben, mit destillirtem Wasser
auf 1 Litre verdünnt und, weil stets eine mehr oder weniger
starke, wohl auf Gegenwart von Globulin zu beziehende Trübung
eintrat, filtrirt. Eine solche Mischung von Serum mit Wasser
enthält ausser ca. 0,7 pCt. Serumalbumin und ungefähr ebenso-
viel anorganischen Salzen keine anderen Bestandtheile in so
erheblicher Menge, dass sie in Betracht kämen und eignet sich
daher zu derartigen Untersuchungen sehr gut.

In Bezug auf die technische Ausführung der in der Ueber-
schrift genannten Methoden möchte ich Folgendes bemerken:

1. Die Scherer'sche Methode.

Ich erwärmte eine genau abgemessene Menge der Serum-
mischung (in der Regel 100 Cc.) in einer Porzellanschale
langsam über einer Spiritusflamme, was ich dadurch leicht er-
zielte, dass ich die Schale von der Flamme durch ein feines
Eisendrahtnetz trennte; dabei setzte ich 15—20 Cc. einer un-
gefähr 18 procentigen Kochsalzlösung und etwa 20—30 Tropfen
verdünnter Essigsäure zu der schwach alkalischen Lösung.¹⁾
Bei beginnender Coagulation entfernte ich das Drahtnetz, um
nun die Flamme stärker wirken zu lassen und dadurch ein
vollständiges Aufkochen zu bewirken. Darauf brachte ich
die Flüssigkeit heiss auf ein bei 120° C. getrocknetes und
gewogenes Filter, wo dann die Filtration ohne Ausnahme
sehr schnell und gut von Statten ging; ich wusch dann

1) Die Erfahrung hatte gelehrt, dass aus kochsalzhaltigen Flüssigkeiten
die Fällung vollständiger ist, auch der Niederschlag sich besser abscheidet,
dass er schnell abfiltrirt und ausgewaschen werden kann. Weiter hatte ich
beobachtet, dass bei einem solchen Verhältniss die Ausscheidung des Albumins
so vollständig und schnell, als nur möglich, erfolgt; ein Ueberschuss an
Kochsalzlösung stört übrigens die Ausscheidung in keiner Weise, wie ich
weiter unten zeigen werde.

mit kochendem Wasser¹⁾ so lange nach, bis ein Tropfen
des zuletzt durchgelaufenen Wassers neutrale Reaction zeigte
und beim Verdunsten auf Platinblech keinen nennenswerthen
Rückstand mehr hinterliess. Das Filter mit seinem Inhalt
wurde zuerst längere Zeit bei 100° C., darauf einige Stunden
bei 110°—115° C. getrocknet und dann gewogen; das Trocknen
bei 110°—115° C. mit darauffolgendem Wägen wurde so oft
wiederholt, bis die Differenz zwischen zwei Wägungen 1 Mgrm.
nicht überstieg; schliesslich bestimmte ich auch noch in den meis-
ten Fällen die Menge der in dem Eiweissrückstande enthaltenen
Asche, obgleich diese Correkturen für die Resultate nicht von
Wichtigkeit waren, da der sorgfältig ausgewaschene Eiweiss-
niederschlag höchstens 1 % Asche enthielt, in weitaus den
meisten Fällen aber viel weniger. — Zur Controle brachte ich das
Filtrat dann in eine Porcellanschale, dampfte es auf dem Was-
serbade auf ungefähr $\frac{1}{6}$ seines Volumens ein, fällte das darin
vielleicht noch enthaltene Eiweiss durch Zusatz der 4—5 fachen
Menge 85procentigen Alkohols und verfuhr dann damit weiter,
wie ich es bei der Methode der Fällung durch Alkohol näher
beschreiben werde.

Ich lasse hier sogleich eine Reihe von Versuchen folgen,
welche den Einfluss verschiedener Essigsäure-, Salpetersäure-,
Kochsalz-, Salmiak-, Harnstoff- und Phosphorsäuremengen auf
die Ausfällung des Eiweisses, so wie den Einfluss der Art des
Auswaschens der erhaltenen Niederschläge auf die quantitative
Bestimmung feststellen sollten.

Es wurden zu diesen Versuchen benutzt: Serum von
Schafsblut, von welchem 1 Theil mit 9 Theilen destillirten
Wassers gemischt wurde, ferner ungefähr 19 procentige Koch-
salz- und Salmiaklösung, ferner eine Mischung von 1 Theil
einer Essigsäure von 1,04 specifischem Gewicht, mit 2 Theilen
destillirten Wassers, endlich eine Mischung von 1 Theil einer

1) Wendet man Wasser von nur 50°—60° an, so quillt mitunter der
Niederschlag wieder etwas auf und lässt sich nur langsam auswaschen.

Salpetersäure von 1,38 specifischem Gewicht, mit 4 Theilen destillirten Wassers. Bei den Versuchen, den Einfluss der Phosphorsäure auf die Eiweissausfällung anlangend, bediente ich mich 5 verschiedener Harne, welche von einander abweichenden Gehalt an Phosphaten zeigten, und in denen weder durch Kochen noch durch Behandlung mit Salpetersäure Eiweiss nachzuweisen war. Um endlich die Wirkungsweise des Harnstoffs in dieser Beziehung kennen zu lernen, wurden drei Versuche bei Zusatz von verschiedenen Mengen Harnstoff angestellt. — Endlich muss ich noch bemerken, dass in allen Fällen die Aschenbestimmung gemacht und die Aschenmenge in Abrechnung gebracht wurde; fast immer war dieselbe verschwindend klein.

a) Einfluss der Essigsäure und Salpetersäure auf die Eiweissausscheidung.

Je 50 Cc. der obenerwähnten Serummischung mit 10 Cc. Kochsalzlösung wurden unter Zusatz von verschiedenen Mengen der Essigsäuremischung der Fällung durch Kochen unterworfen.

N.	Essigsäure in CC.	Niedersch. in Grm.	Reaction des Filtrats.
1	0,5	0,4192	Salpetersäure: Spuren von Trübung. Taninlösung: sehr deutl. flock. Niederschl.
2	1,0	0,4233	S. — T. —
3	2,0	0,4283	S. Spuren von Trübung. T. sehr deutl. flock. Niederschlag.
4	3,0	0,4197	S. keine Trübung. T. deutl. flock. Niederschlag.

Man sieht hieraus, dass die Menge der zugesetzten Essigsäure in den angegebenen Grenzen keinen wesentlichen Einfluss auf die Resultate der Fällung ausübt. Bei 50 — 60 CC. einer Eiweisslösung von ca. 4 % Kochsalzgehalt kann also die zuzusetzende Essigsäuremenge zwischen 0,5 — 3,0 CC. schwanken, vorausgesetzt, dass es sich um Serum-Albumin handelt. Zweckmässig erscheint es mir, mindestens 1 CC. der Essigsäuremi-

schung anzuwenden, da die Probe Nr. 1 mit nur 0,5 CC. sich schlechter filtriren und auswaschen liess, wie die Proben 2, 3 und 4.

Statt der Essigsäure Salpetersäure zu gebrauchen, wie Almén¹⁾ es räth, möchte nach den beiden Versuchen, die ich im Folgenden mittheile, nicht rathsam erscheinen. Die Filtration ging bei beiden Versuchen so langsam von Statten, dass die Niederschläge erst nach 48 Stunden in den Trockenofen gebracht werden konnten. — Als Versuchsflüssigkeiten dienten auch hier je 50 CC. der ersterwähnten Serummischung mit 10 CC. Kochsalzlösung. Ich erhielt bei

Zusatz von 1 CC. Salpetersäure 0,3134 Grm.
 „ 2 CC. „ 0,3136 Grm.
 trockenen Albumins, also bedeutend weniger, als bei Essigsäurezusatz.

b) Einfluss des Kochsalzes auf die Eiweissausscheidung.

Als Versuchsflüssigkeiten dienten hier je 50 CC. Serum mit 1 CC. Essigsäuremischung.

Nr.	Kochsalzlösung in CC.	Niedersch. in Grm.	Reaction der Filtrate.
1	5	0,4191	S. keine Trübung. T. sehr deutl. flock. Niederschl.
2	10	0,4233	S. — T. —
3	20	0,4301	S. keine Trübung. T. deutl. flock. Niederschl.
4	30	0,4279	S. keine Trübung. T. deutl. flock. Niederschl.

Wenn bei Nr. 1 die etwas geringere Menge erhaltenen Niederschlags auch vielleicht nur auf Beobachtungsfehlern beruht, so scheint es nach den Ergebnissen dieser Tabelle doch rathsam, der Versuchsflüssigkeit mindestens einen Kochsalzge-

1) A. a. O.

halt von 4 % zu geben, da ein Ueberschuss bei der Eiweissausfällung nicht störend wirkt. Die Filtration wird im Gegentheil bei reichlicherem Kochsalzgehalt beschleunigt.

c) Einfluss von Salmiak auf die Eiweissausscheidung.

Serummischung wie in a und b.

Nr.	Serummischung in CC.	Essigs. in CC.	Salmiaklösung in CC.	Niedersch. in Grm.	Reaction der Filtrate.
1	25	0,5	2,5	0,1946	S. deutl. Trübung. T. reichl. flock. Trübg.
2	50	1	10	0,4167	S. keine Trübung. T. deutl. flock. Trübg.
3	50	1	20	0,4164	S. keine Trübung. T. Spuren von Trübung.
4	50	1	40	0,4278	S. Spuren von Trübung. T. deutl. flock. Trübg.

Die gefällte Eiweissmenge in Nr. 1 ist so erheblich geringer, als bei den 3 folgenden Versuchen, dass hier in der That der geringe Salmiakgehalt und vielleicht auch der etwas geringere Essigsäurezusatz als Grund der Differenz angesehen werden müssen. Man kann daher annehmen, dass auch bei Anwendung von Salmiak statt des Kochsalzes mindestens 4 % Salmiak in der Versuchsflüssigkeit enthalten sein müssen. Auch hier erfolgt die Filtration um so schneller, je mehr Salmiak zugesetzt wurde. Im Uebrigen scheint die Anwendung des Salmiaks keinen wesentlichen Vorzug vor der des Kochsalzes zu haben.

d) Einfluss des Harnstoffs auf die Eiweissausscheidung.

Als Versuchsflüssigkeiten dienten je 50 Cc. Serummischung wie bei den vorigen Versuchen mit 10 Cc. Kochsalzlösung und 1 Cc. Essigsäure. Ich erhielt bei Zusatz von

0,5 Grm. Harnstoff 0,4079 Grm. Albumin.

1,0 „ 0,4091 „

2,0 „ 0,4427 „

Worin der Grund liegt, dass bei Nr. 3 ein reichlicherer Niederschlag erhalten ist, als bei 1 und 2, bin ich ausser Stande

anzugeben; das Auswaschen war genügend lange fortgesetzt, da die Aschenmenge nur 0,0011 betrug. Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, dass ein Plus von Harnstoff die Eiweissausscheidung nicht beeinträchtigt.

e) Einfluss der Phosphorsäure auf die Eiweissausscheidung.

Es wurden von 5 eiweissfreien Harnen je 50 CC. abgemessen und 5 CC. Serum hinzugefügt (das Serum hatte schon einige Tage in einem Becherglase bei kühler Temperatur gestanden, und war vielleicht durch Verdunstung von Wasser etwas concentrirter geworden), ferner 10 CC. Kochsalzlösung und 1 CC. Essigsäure. In der folgenden Tabelle gebe ich für jeden Harn seinen Gehalt an Phosphorsäure in Procenten, berechnet aus der Menge der Phosphate. Harn 1, 2 und 5 zeigten stark saure, 3 und 4 schwach alkalische Reaction. Ich erhielt bei:

1.	0,0155 % Phosphorsäure	0,4290 Grm. Albumin.
2.	0,0194 „	0,4412 „
3.	0,0335 „	0,4376 „
4.	0,0820 „	0,4348 „
5.	0,0995 „	0,4392 „

Die geringen Differenzen sind wohl dem Umstande zuzuschreiben, dass bei diesen Versuchen jeder einzelnen Harnportion 5 CC. Serum (also einer sehr concentrirten Eiweisslösung) zugesetzt wurden, wodurch leicht geringe Differenzen im Eiweissgehalt der einzelnen Versuchsflüssigkeiten entstehen konnten. Jedenfalls übt d. Phosphorsäuregehalt des Harns, nach diesen Resultaten zu urtheilen, keinen Einfluss auf d. Eiweissausscheidung.

f) Einfluss des Auswaschens auf die Menge des Niederschlags, je nachdem man sich zu diesem Zwecke kochenden destillirten oder kochenden essigsäurehaltigen Wassers bedient (zur Bereitung essigsäurehaltigen Wassers wurden 2 Theile des oben erwähnten Essigsäuregemischs mit 100 Theilen destillirten Wassers verdünnt, um eine Flüssigkeit zu erhalten, welche in Bezug auf ihren Essigsäuregehalt der Versuchsflüssigkeit so ähnlich, wie möglich war).

Als Versuchsflüssigkeiten dienten je 50 CC. Serummischung mit 10 CC. Kochsalzlösung und 1 CC. Essigsäure. Bei Nr. 1 und 2 wurde mit kochendem reinen, bei 3 und 4 mit kochendem essigsäurehaltigem Wasser ausgewaschen.

Niedersch. in Grm.	Verhalten von Salpetersäure gegen :	
	die Filtrate von von 1 + 2 u. 3 + 4	die Waschlösungen von 1 + 2 u. 3 + 4
1. 0,4285	Spuren von Trübung.	Keine Trübung.
2. 0,4253		
3. 0,4004	Spuren von Trübung.	Starke Trübung. 1)
4. 0,4006		

Es ist bemerkenswerth, dass bei 3 und 4 gegen das Ende des Auswaschens ein Moment eintrat, wo im Filtrat eine geringe Trübung sich zu zeigen schien; wahrscheinlich beruhte diese Erscheinung darauf, dass der grösste Theil der Salze entfernt war und dadurch Spuren von Eiweiss wieder in Lösung übergang. Beim Auswaschen mit essigsäurehaltigem Wasser sind offenbar geringe Mengen Eiweiss wieder gelöst, da die beiden Niederschläge 3 und 4 ungleich geringer, als 1 und 2 sind, und in den betreffenden Filtraten auch mehr Eiweiss nachzuweisen war.

Auf die aus diesen Versuchen gewonnenen Resultate komme ich am Ende des Abschnittes noch einmal zurück.

2. Berzelius's Methode. 2)

Das Verfahren bei derselben ist in Kürze folgendes: man verdunstet eine abgemessene und mit Essigsäure angesäuerte Quantität der zu untersuchenden Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit Alkohol u. heissem

1) Bei völligem Austrocknen hinterliess es häutige Massen, dem austrockneten Eiweiss ähnlich.

2) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse von Felix Hoppe-Seyler, pag. 268. 1865.

Wasser gut aus, filtrirt durch ein gewogenes Filter, trocknet, wägt und bringt schliesslich die Asche in Abzug.

Es wurden 4 Versuche nach der Berzelius'schen Methode in der Weise angestellt, dass je 50 Cc. Serummischung, die diesmal mit normalem Harn (1 : 9) angefertigt war, mit 1 Cc. Essigsäure angesäuert, auf dem Wasserbade eingedampft und in der angegebenen Weise weiter behandelt wurde (Nr. 1 ohne Kochsalz, Nr. 2 mit 5 Cc., Nr. 3 mit 10 Cc. Kochsalzlösung und Nr. 4 mit 10 Cc. Salmiaklösung). Zur Controle wurden 2 ebenso grosse Portionen mit je 10 Cc. Kochsalzlösung u. 1 Cc. Essigsäure nach Scherer's Methode behandelt, und endlich noch in zwei ebenso grossen Portionen durch Alkoholfällung der Eiweissgehalt bestimmt (die Art dieses Verfahrens wird weiter unten beschrieben). Die Resultate waren folgende:

	Nach Berzelius's Meth.	Nach Scherer's Meth.	Durch Alkoholfäll.
1.	0,4172 Grm. Alb.	0,4199 Grm. Alb.	0,4606 Grm. Alb.
2.	0,4132 "	0,4141 "	0,4604 "
3.	0,4186		
4.	0,3991		

Die Filtrate des Berzelius'schen Alkoholauszuges waren frei von Albumin; die Filtrate der Alkoholfällung zeigten bei Zusatz von Tanninlösung keine Trübung.

Man sieht, dass die Ergebnisse der ersten beiden Methoden sehr genau übereinstimmen, während die dritte nicht unbedeutend höhere Resultate giebt. Zusatz von Kochsalz erwies sich als überflüssig, Salmiakzusatz nicht als empfehlenswerth.

Ferner wurde noch ein Versuch nach Berzelius's Methode in derselben Weise, wie bei Nr. 3 gemacht; nur wurde hier mit Alkohol heiss ausgezogen, während dort kalt extrahirt war. Der Niederschlag wog nach Abzug der Asche 0,4293 Grm.; das Alkoholfiltrat war eiweissfrei, während im Waschwasser sich geringe Mengen von Eiweiss nachweisen liessen.

Endlich machte ich noch in zwei eiweisshaltigen Harnen die Eiweissbestimmung nach den 3 genannten Methoden und erhielt folgende Resultate:

	Nach Berzelius's Meth.	Nach Scherer's Meth.	Durch Alkohol-fällung.
1. {	0,1016 % Alb.	0,1180 % Alb.	0,1619 % Ab.
	0,1116 "		
2.	0,0430 "	0,0440 "	0,0616 "

Auch hier sind die Resultate der beiden ersten Methoden nahezu übereinstimmend, während durch Alkohol-fällung ein etwas höherer Eiweissgehalt gefunden wurde.

3. Methode der Fällung durch Alkohol.

Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, dass die Anwendung von absolutem Alkohol nicht wesentlich andere Resultate, als die von 85 procentigem lieferte, wenn letzterer nur in genügender Menge hinzugefügt wurde, so führte ich die Bestimmung folgendermassen aus: ich mass mit einer Pipette 50—100 CC. der zu untersuchenden Flüssigkeit ab und liess sie in ein hohes Cylinderglas, das mehr als $\frac{1}{2}$ Litre fasste, fliessen; ich fügte dann das 4—5fache Volumen 85 procentigen Alkohols hinzu und suchte durch Umschütteln eine innigere Mischung zu bewirken. Nach 24 Stunden, wenn die Ausfällung des Eiweisses ganz vollendet war, und über dem grobflockigen Niederschlage der Alkohol vollkommen klar erschien, so filtrirte ich, wusch mit Alkohol nach, trocknete dann das Filter zuerst längere Zeit bei 100° C. und darauf einige Stunden bei 110°—115° C., und wog dann so oft (nachdem nach jeder Wägung wieder einige Stunden bei 110°—150° C. getrocknet war), bis die Differenz zwischen zwei Wägungen 1 Mgrm. nicht überstieg. Dann bestimmte ich die Aschenmenge und brachte dieselbe in Abzug. Bei diesen Alkohol-fällungen enthielt der Niederschlag jedesmal mehr Asche, als bei den nach der Scherer'schen Methode erhaltenen Niederschlägen, zuweilen sogar 10—20 %.)

1) Dass im Rückstande keine harnsauren Salze vorhanden waren, glaube ich aus der Abwesenheit von kohlensauren Salzen in der Asche schliessen zu dürfen, wie ich letzteres constatiren konnte.

Im Folgenden theile ich die nach der Scherer'schen Methode und der Methode durch Alkohol-fällung von mir angestellten Parallelversuche mit. Nach Berzelius's Methode habe ich keine weiteren Eiweissbestimmungen gemacht, da ich bei allen bisherigen gefunden hatte, dass sie mit den Resultaten, die durch die Scherer'sche Methode gewonnen waren, so genau, wie nur möglich übereinstimmten.

In der folgenden Tabelle habe ich 10 Parallelversuche zwischen der Scherer'schen Methode und der Methode durch Alkohol-fällung zusammengestellt.

In der Columnen I gebe ich die Quantität der Serummischung mit der ich operirte, in Cubikcentimetern an; in II die Resultate der Alkohol-fällung; in III die Ergebnisse der Scherer'schen Methode (der Uebersichtlichkeit wegen hielt ich es für besser dort, wo ich nicht gerade mit 100 CC., sondern mit 50 oder 25 CC. der Serummischung operirt hatte, die Wägungsergebnisse auf den Procentgehalt umzurechnen); in der letzten Columnen gebe ich an, wie viel Procente von der durch Alkohol-fällung erhaltenen Eiweissmenge durch Scherer's Methode nachgewiesen werden konnte, d. h. das Verhältniss, in welchem die Resultate beider Methoden zu einander stehen, wenn man die durch Alkohol-fällung gewonnene Menge = 100 setzt.

No.	I.	II.	III.	IV.
1	50Cc.Serummischung ¹⁾	0,5328%	0,4824 %	90,5%
2	50 "	0,7404 "	0,6866 "	92,7 "
3	25 "	0,7896 "	0,7104 "	89,9 "
4	100 "	0,7018 "	0,6849 "	97,6 "
5	100 "	0,6666 "	0,6435 "	96,5 "
6	100 "	0,7736 "	0,7718 "	99,7 "
7	50 "	0,6964 "	0,6756 "	97,0 "
8	100 "	1,3500 "	1,3294 "	98,4 "
9	50 "	0,9212 "	0,8398 "	91,1 "
10	50 "	9,9208 "	0,8282 "	89,9 "

1) Zum Versuch 2, 3, 4, 5 und 7 war Serum von Ochsenblut, bei 1 von Kalbs-, bei 6 von Kuhblut und bei 8 vom Aderlassblut eines an Pneu-

Differenzen, wie sie in 4, 5, 6, 7 und 8 sich finden, können auch bei zwei Versuchen, die mit der gleichen Quantität Serumischung nach der Scherer'schen Methode gemacht sind, vorkommen, und lediglich als Beobachtungsfehler angesehen werden; in 1, 2, 3, 9 und 10 sind aber die Differenzen schon beträchtlicher und darf der Grund für dieselben nicht mehr in Fehlern der Beobachtung gesucht werden. Dazu kommt noch der sehr bemerkenswerthe Umstand, dass die Resultate der Scherer'schen Methode durchweg niedriger ausfallen, als diejenigen der Alkoholfällung. Das Constante dieser Erscheinung macht es noch wahrscheinlicher, dass bei der Fällung des Eiweisses durch Erhitzen bis zum Kochen, geringe Mengen in Lösung bleiben.

Ungleich grössere Differenzen zwischen den Resultaten beider Methoden stellten sich bei Eiweissbestimmungen im Harn heraus, und kann ich diese Differenzen ebenfalls nicht etwa auf eine fehlerhafte Ausführung der Scherer'schen Methode beziehen, denn ich vermisste auch hier in keinem Falle die gegenwärtig massgebenden Zeichen für eine möglichst vollständige Eiweissausfällung durch Kochen: flockige Gerinnung, Klarheit der über dem Niederschlage abstehenden Flüssigkeit u. schnell vor sich gehende Filtration.

Im Laufe meiner Untersuchungen erhielt ich eiweisshaltigen Harn von 6 verschiedenen Patienten, von denen 3 an morbus Brightii litten, einer an strictura oesophagi (carcinoma?, III), einer an eczema simplex (V), der sechste Fall betraf eine Frau, welche in hohem Grade anämisch war (II).

Abgesehen von ihrem Gehalt an Eiweiss boten diese Harne sonst nichts Bemerkenswerthes dar; wenn sie zur Untersuchung gelangten, waren sie nicht älter als 24 Stunden, reagirten alle

monie leidenden Mannes verwandt worden. Das Verhältniss des Serums zum Wasser in der Mischung war 1 : 9, mit Ausnahme von Versuch 5, wo es 1 : 10 und von Versuch 8, wo es 1 : 4 war.

mehr oder weniger sauer und wurden, im Falle sie trübe waren, oder es sich um Parallelversuche mit filtrirtem u. nicht filtrirtem Harn handelte, ganz oder zum Theil filtrirt; nicht filtrirt waren die Portionen 4, 6 und 9 in der folgenden Tabelle. Was die Anordnung der letzteren anbetrifft, so entsprechen die römischen Zahlen der ersten Columne den Harnen von verschiedenen Patienten (Nr. 1 einerseits und 2 u. 3 andererseits beziehen sich auf Harn eines und desselben Patienten, aber von verschiedenen Tagen; ebenso 4 und 5 gegenüber 6 und 7); in der zweiten ist das specifische Gewicht angegeben; in der dritten die Menge des jedesmal verwandten Harns in Cubikcentimetern; in der vierten die Resultate der Alkoholfällung; in der fünften die der Scherer'schen Methode (auch in dieser Tabelle habe ich die jedesmaligen Wägungsergebnisse auf den Procentgehalt umgerechnet); in der letzten Columne ist wieder das Verhältniss der Resultate beider Methoden zu einander gegeben, wenn man die durch Alkoholfällung gewonnenen = 100 setzt.

Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
1		1,008	100 CC.	0,1269 %	0,0285 %	22,4 %
2	I	1,012	100	0,1413	0,0231	16,3
3		1,012	100	0,1508	0,0272	18,0
4		1,010	50	0,0836	0,0176	21,0
5	II	1,010	50	0,0884	0,0272	30,7
6		1,008	100	0,0542	0,0191	35,2
7		1,008	100	0,0543	0,0172	31,6
8	III	1,026	50	0,4876	0,2744	56,2
9		1,035	50	0,0848	0,0657	77,4
10	IV	1,035	50	0,1044	0,0612	58,6
11	V	1,014	100	0,1619	0,1180	72,8
12	VI	1,024	100	0,0616	0,0440	71,4

Zweierlei ist es, was bei Betrachtung der vorstehenden Tabelle ins Auge fällt: einmal die verhältnissmässig sehr grossen Differenzen zwischen den Resultaten beider Methoden, andererseits aber der mannichfaltige Wechsel in der Grösse dieser Differenzen. Im zweiten Versuch ist der Eiweissgehalt der Versuchsflüssigkeit durch die Scherersche Methode 6 Mal so niedrig gefunden, als auf dem Wege der Alkohol-fällung, im Versuch 9 dagegen nur $1\frac{1}{3}$ Mal so gering; es sind dieses die grösste und die geringste Differenz. Im Durchschnitt wurden durch die Scherersche Methode 42 % des auf dem Wege der Alkohol-fällung bestimmten Eiweissgehalts gefunden, also nicht einmal die Hälfte.

Bevor ich aber weitere Schlüsse aus den vorstehenden Beobachtungen ziehe, möchte ich dieselben durch die Resultate einer anderen Versuchsreihe noch ergänzen.

Es lag der Gedanke nahe, dass im Filtrat der der Kochprobe unterworfenen Versuchsflüssigkeiten noch so viel Eiweiss in Lösung sich befände, als die Differenz zwischen den Ergebnissen beider Methoden betrug. Um nun zu ermitteln, ob dieses in der That der Fall sei, brachte ich das, durch wiederholtes Auswaschen des Niederschlages mit destillirtem Wasser zu voluminös gewordene Filtrat in einer Porcellanschale aufs Wasserbad, engte dasselbe auf ungefähr 100 Cc. ein, behandelte es mit der vierfachen Menge 85 procentigen Alkohols und verfuhr dann in der oben bei der Beschreibung der Methode durch Alkohol-fällung angegebenen Weise. Die so gefundene Zahl wurde dann zu der nach der Schererschen Methode erhaltenen Eiweissmenge addirt und damit in der That die vorher bestehende Differenz fast immer nahezu ausgeglichen.

Der Kürze wegen vereinige ich in der folgenden Tabelle die bei Serummischungen und beim Harn gefundenen Resultate. In der Columne I verzeichne ich die jedesmal in Arbeit genommene Quantität der Versuchsflüssigkeit in Cubikcentimetern; in II die nach der Schererschen Methode gewonnenen Resultate;

in III die durch Alkohol-fällung im Filtrat der Kochprobe erhaltenen Niederschläge; in IV die Summen beider vorhergehenden; in V die durch Alkohol-fällung in den Versuchsflüssigkeiten gefundenen Eiweissmengen, und in VI endlich das procentische Verhältniss von IV zu V, indem d. unter letzterer Rubrik stehenden Zahlen = 100 gesetzt werden.

	No.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	Im Mittel.
Serummischungen.	1	50	0,2412	0,0256	0,2668	0,2664	100,1	100,6 %
	2	50	0,3433	0,0245	0,3678	0,3702	99,3	
	3	25	0,1776	0,0199	0,1975	0,1974	100,0	
	4	100	0,6849	0,0239	0,7088	0,7018	100,9	
	5	100	0,6435	0,0325	0,6760	0,6666	101,4	
	6	100	0,7718	0,0110	0,7828	0,7736	101,1	
	7	50	0,3378	0,0127	0,3505	0,3482	100,6	
	8	100	1,3294	0,0456	1,3750	1,3500	101,8	
Eiweissalt. Harn.	9	50	0,0088	0,0267	0,0355	0,0418	84,9	110,0 %
	10	50	0,0136	0,0339	0,0475	0,0442	107,4	
	11	100	0,0191	0,0483	0,0674	0,0542	124,3	
	12	100	0,0172	0,0583	0,0755	0,0543	139,0	
	13	50	0,1372	0,1309	0,2681	0,2438	109,9	
	14	100	0,0657	0,0420	0,1077	0,0848	127,0	
	15	100	0,0612	0,0357	0,0969	0,1044	92,8	
	16	100	0,1180	0,0356	0,1536	0,1619	94,9	

Aus der vorstehenden Tabelle geht hervor, dass die Differenzen zwischen den entsprechenden Wägungsergebnissen aus Columne II und V fast durchgängig viel grösser sind, als zwischen denen aus Columne IV und V.

Bei dieser Gelegenheit muss ich einer von Stscherbakoff und Chomjakoff¹⁾ hervorgehobenen Thatsache erwähnen. — Wenn ich auch der Genauigkeit der Resultate, welche mittelst des Polarisationsapparates in Bezug auf quantitative Eiweissbestimmung gewonnen werden, keinen grossen Werth beilegen

1) A. a. O.

kann, so scheint mir doch der Umstand nicht in Abrede gestellt werden zu können, dass die genannten Autoren, in den Filtraten der, nach der Schererschen Methode behandelten Harn constant Linksdrehungen der Polarisationssebene beobachteten. Ihre Beobachtungen stehen mit den von mir gemachten, auf Fällung durch Alkohol basirenden, im Einklange, und ich glaube, mit Recht als Grund dafür annehmen zu können, dass bei der Eiweissbestimmung im Harn nach der Schererschen Methode stets grössere oder geringere Mengen eiweissartiger und dem Albumin physiologisch gleichbedeutender Substanz sich der Bestimmung entziehen, weil sie durch Erhitzen nicht fällbar sind.

Wenn ich auf die bisher mitgetheilten Resultate zurückblicke, so glaube ich zu folgenden Schlüssen berechtigt zu sein:

Sowohl die Scherersche, als auch Berzelius's Methode geben zu niedrige Resultate, theils weil geringe Mengen von Eiweiss durch äussere Einflüsse, wie z. B. zu niedrigen Kochsalzgehalt der Versuchsflüssigkeit etc., in Lösung bleiben oder nach der Fällung beim Auswaschen wieder in Lösung übergehen können; theils aber, was mir viel bedeutungsvoller scheint, *weil in eiweisshaltigen Harnen in vielen, wenn nicht in den meisten Fällen verschiedene Eiweissmodifikationen neben einander vorkommen, von denen nicht alle durch Kochen gefüllt werden*, oder welche beim Eindampfen zur Trockne und nachherigem Ausziehen mit heissem Wasser wieder in Lösung übergehen.

Ferner glaube ich auch, den Angaben von Stscherbakoff und Chomjakoff gegenüber hervorheben zu müssen, dass Gegenwart von Kochsalz, Phosphaten etc. die Gerinnung des durch Kochen fällbaren Eiweisses beim Erhitzen durchaus nicht hindert, im Gegentheil eher begünstigt; in einem, von mir weiter oben angegebenen Minimum ist ihre Gegenwart sogar nothwendige Bedingung für die vollständige Ausfällung des fällbaren Eiweisses.

Was endlich die Methode durch Alkoholfällung anlangt,

so habe ich die Ueberzeugung gewonnen, dass dieselbe in der oben angegebenen Weise ausgeführt, noch die sichersten Resultate liefert, trotzdem dass die Genauigkeit derselben vielleicht in manchen Fällen, durch geringe Mengen ausgeschiedener Harnsäure, welche den Niederschlägen beigemischt sein können, ein wenig beeinträchtigt wird. Da die ausgeschiedenen Harnsäurekrystalle, wie ich wiederholt beobachten konnte, ziemlich fest an den Wandungen des Gefässes sassen, während die Eiweissflocken im Alkohol suspendirt waren, so gelangten jedenfalls nur verhältnissmässig geringe Mengen Harnsäure auf das Filtrum, und der dadurch entstandene Fehler kann nicht sehr erheblich sein.

Mir scheint daher diese Methode, wenn auch nicht für die practischen Zwecke des Klinikers, so doch als Controle für andere Methoden vorläufig noch am geeignetsten zu sein.

II. Die Differentialmethode von M. Haebler.

Haebler¹⁾ nimmt an, dass die Differenz der specifischen Gewichte eines eiweisshaltigen Harns vor und nach dem Enteiweissen durch Kochen in constantem Verhältniss zum Eiweissgehalt des betreffenden Harns steht, und theilt eine Reihe von 13 Versuchen mit, aus welchen hervorgeht, dass eine Differenz von 0,0001 im specifischen Gewicht vor und nach der Eiweissausfällung einem Eiweissgehalt von 0,0210 pCt. entspricht, man also einfach die gefundene Differenz mit der constanten Zahl 210 zu multipliciren hat, um direct den Procentgehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit an Eiweiss zu erhalten. Sein Verfahren schildert er dabei folgendermassen:

„Um nun die betreffende Flüssigkeit zu enteiweissen, füllt man sie am bequemsten in ein grosses Reagenzglas, oder einen kleinen Glaskolben, die natürlich durchaus trocken gewesen sein müssen. Nachdem sodann sowohl das specifische Gewicht, wie die Temperatur der Flüssigkeit genau bestimmt ist, verschliesst man das Glassgefäss durch einen Kork, der von einer ca. 3' langen, ungefähr $\frac{1}{3}$ Centimeter Durchmesser in der Lichtung haltenden Glasröhre durchbohrt wird. Man erhitzt nun die Flüssigkeit zum Sieden, am kürzesten über directem Feuer, säuert sie mit 2—3—5 Tropfen Essigsäure an und setzt den Kork so schnell wie möglich wieder auf. Bleibt die sich über dem niederfallenden Coagulat absetzende Flüssigkeit trübe, so ist noch Albumen in Lösung. Ist alles Eiweiss gefällt, so filtrirt man nach vollständiger Abkühlung, die durch Anwendung von kaltem Wasser sehr beschleunigt werden kann, durch ein trockenes gefaltetes Filter, bringt die Temperatur auf dieselbe Höhe wie vorher und bestimmt das specifische Gewicht. Um sicher zu gehen, thut man am Besten, dasselbe überall durch

1) Eine neue Methode der quantitativen Eiweissbestimmung im Urin von Max Haebler. Inaug. Diss. pag. 10, 1868, Berlin.

ein in freier Luft und destillirtem Wasser gewogenes Senkgläschen auf vier Decimalstellen zu bestimmen, doch zeigen die im Nachfolgenden mitgetheilten Erfahrungen, dass für die gewöhnlichen Zwecke die Bestimmungen mittelst der Urometer-spindel auf drei Decimalstellen vollkommen ausreichend sind.“

Uebrigens ist schon etwa drei Jahre vor dem Erscheinen der Haebler'schen Dissertation von G. Lang¹⁾ eine Methode nach demselben oder einem ähnlichen Prinzip veröffentlicht. Da mir jedoch seine Arbeit weder im Original noch in einem Referat zugänglich gewesen, muss ich auf eine Beschreibung seines Verfahrens verzichten. Haebler²⁾ sagt in Bezug auf die Lang'schen Untersuchungen: „Es erscheint der Beachtung werth, dass wir beide auf ganz verschiedenen Wegen in Bezug auf die Grösse des zwischen der Differenz der specifischen Gewichte und dem Eiweissgehalt bestehenden Verhältnisses zu wenigstens annähernd denselben Resultaten gekommen sind.“

Bornhardt³⁾ stellte etwa ein Jahr später eine Reihe von 15 Versuchen nach der Haebler'schen Methode an, fand aber, dass eine Differenz der specifischen Gewichte von 0,0001 einem Eiweissgehalt von 0,0415 % entspricht. Er meint, dass die Länge der in den Kork mündenden Röhre von Einfluss auf die Differenz der specifischen Gewichte ist, und dass daher die Beziehung zwischen dem Albumingehalt der Versuchsflüssigkeit und der Verminderung des specifischen Gewichts für jeden Apparat vorher festgestellt werden muss.

C. Neubauer⁴⁾ erhielt bei einem Versuch nach der Haebler'schen Methode mit Haebler's Quotienten 0,231 % Albumin, während die Gewichtsanalyse 0,455 % ergab; dagegen mit

1) Eredeti értekezések. Húgyelemzési tanulmányok. Dr. Láng Gustáv. (Pesther med. Zeitschr. 1865.)

2) Archiv für Anatomie, Physiol. u. wiss. Med. von Reichert und Du Bois Reymond, 1868, pag. 400.

3) Archiv der Klinik für innere Krankheiten von Botkin, Bd. I. 1869.

4) Zeitschrift für analytische Chemie von Fresenius, Jahrgang 9, Heft 1, 1870.

dem Bornhardt'schen Quotienten berechnet, betrug der Eiweissgehalt allerdings 0,4565 %. Neubauer beurtheilt ebendasselbst die Methode folgendermassen: „Wird der Urin nach dem Kochen und Abkühlen vor der Filtration nicht wieder durch Zusatz von Wasser auf sein ursprüngliches Gewicht gebracht, so müssen ja die Resultate unter allen Umständen verschieden ausfallen. Durch Eeseitigung des Albumins wird der Urin leichter, durch Verdampfen mit Wasser beim Kochen, trotz Verticalrohr, wird derselbe schwerer. Die Resultate müssen also je nach der Dauer des Kochens mehr oder weniger falsch ausfallen.“

Stscherbakoff und Chomjakoff¹⁾ in Kasan gelangen bei acht Versuchen, die sie genau nach den Bornhardtschen Vorschriften angestellt, zu „wunderbar verschiedenen Resultaten;“ in diesen acht Versuchen nämlich variiren die „Constanten,“ mit denen die Differenzen der specifischen Gewichte multiplicirt werden müssen, um die durch Gewichtsanalyse gefundenen Albuminprocente zu erhalten, zwischen 47 und 2000. Die genannten Autoren äussern sich in ihrer Arbeit über die Haebler'sche Methode wie folgt: „Diese acht Analysen genügen zwar nicht, um über die Genauigkeit resp. Ungenauigkeit der Láng'schen und Haebler'schen Methoden zu urtheilen, jedoch haben uns dieselben und mehrere andere Analysen gezeigt, dass die Wägungsmethode selbst, durch welche die Haebler'sche Methode gewöhnlich controlirt würde, zu grossen Fehlern führen kann.“ Und weiter: „Alle Methoden, deren Werth durch die Wägungsmethode controlirt war, wie Boedeker's Methode, die Vogel'sche optische Methode, die Haebler'sche Methode, können wegen der oben angeführten Fehlerquelle“ (unvollständige Gerinnung des Eiweisses beim Kochen) „nicht für richtige gehalten werden; die letztere kann ausserdem an sich unrichtige Resultate geben.“

1) „Zur quantitativen Eiweissbestimmung im Harn.“ Deutsches Archiv f. klin. Med. von Ziemssen u. Zenker, Bd. VII, Heft 2, pag. 228, 1870.

Bei den 10 Versuchen, welche ich nach der Haebler'schen Methode anstellte, bestimmte ich vorerst das specifische Gewicht der Versuchsflüssigkeit mittelst eines Pyknometers bei 15° C., erhitzte darauf 100 Cc. derselben, nachdem verdünnte Essigsäure in erforderlicher Quantität hinzugefügt war, in einem Kochfläschchen, welches ungefähr 300 Cc. hielt, langsam über einer kleinen Spiritusflamme zum Kochen. Das Fläschchen war mit einem gutschliessenden, einfach durchbohrten Kork zugestöpselt, der ein ungefähr 4 Fuss langes, gläsernes Verticalrohr von $\frac{1}{3}$ Centimeter innerer Lichtung trug. Der im Fläschchen sich entwickelnde Wasserdampf verdichtete sich in dem kühleren Verticalrohr und rann in Tropfen wieder zurück, so dass der durch Verdampfung entstehende Wasserverlust aller Voraussetzung nach nur äusserst gering sein konnte. Nachdem die gekochte Flüssigkeit vollständig abgekühlt war, brachte ich dieselbe auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter, worauf sogleich der Trichter mit einer Glasplatte bedeckt wurde, u. bestimmte wieder mittelst des Pyknometers das specifische Gewicht des Filtrats bei 15° C. Der Rückstand auf dem Filter wurde wiederholt getrocknet und gewogen, bis zwei Wägungsergebnisse keine nennenswerthen Differenzen mehr darboten¹⁾.

Die von Haebler empfohlene Art der Ausfällung unterscheidet sich von dem Verfahren, das ich einschlug hauptsächlich in zwei Punkten: 1. Haebler setzt erst während des Kochens der Flüssigkeit 2—3—5 Tropfen Essigsäure zu, wobei er also den die Flasche verschliessenden Kork, wenn auch nur für einige Augenblicke, entfernt (Bornhardt fügt die Essigsäure tropfenweise durchs Verticalrohr hinzu), während ich vor

1) Da ich gleichzeitig noch andere, gleichgrosse Quantitäten der zu untersuchenden Flüssigkeit der Kochprobe unterzog, alle beim Kochen erhaltenen Niederschläge wog und keine wesentlichen Unterschiede fand; da ferner die Coagulation stets gut von Statten ging, die über dem Niederschlag abstehende Flüssigkeit bei der Filtration schnell und klar das Filter passirte, so glaube ich zu der Annahme berechtigt zu sein, dass alles durch Kochen überhaupt fällbare Albumin ausgeschieden war.

dem Kochen den Essigsäurezusatz machte. 2. Haebler bestimmt das specifische Gewicht mittelst der Urometerspindel, während ich diese Bestimmung mittelst des Pyknometers machte.

Was den ersten Punkt anbetrifft, so kann der Modus des Essigsäurezusatzes das Verhältniss zwischen der Abnahme des specifischen Gewichts und dem durch Gewichtsanalyse gefundenen Eiweissgehalt nicht modificiren, denn sobald der Eiweissgehalt wegen unvollständiger Fällung zu niedrig gefunden ist, so muss das specifische Gewicht des Filtrats verhältnissmässig höher sein, und der obenerwähnte Quotient unverändert bleiben. Dass übrigens bei meinen Versuchen das Eiweiss so vollständig wie möglich ausfiel, bewiesen mir, wie gesagt, andere, mit den gleichen Quantitäten der Versuchsflüssigkeit angestellte Versuche nach der Scherer'schen Methode, bei denen sich, wie auf der vorhergehenden Seite erwähnt, keine wesentlichen Differenzen darboten.

In Bezug auf den zweiten Punkt glaube ich behaupten zu können, dass der Art u. Weise meines Verfahrens die Schuld nicht beizumessen war, wenn auch die von mir gefundenen „Constanten“ ihrem Namen wenig Ehre machten. — Wenn die Bestimmung des specifischen Gewichts mittelst des Pyknometers auch complicirter ist, und somit mehr Gelegenheit zu Beobachtungsfehlern gegeben wird, so ist die Summe derselben bei sorgfältiger Ausführung doch ungleich geringer, als der Fehler bei der Anwendung einer Urometerspindel, wo bei der vierten Decimalstelle schon von Genauigkeit nicht mehr die Rede sein kann.

Zehn Versuche, die ich nach der Haebler'schen Methode anstellte, gaben trotz grosser Sorgfalt, die ich ihrer Ausführung zuwandte, so sehr von einander abweichende Resultate, dass es in der That nicht möglich war, ein auch nur annähernd constantes Verhältniss zwischen dem durch Gewichtsanalyse bestimmten Eiweissgehalt und der Differenz der specifischen Gewichte vor und nach der Euteiweissung zu finden. Wie man aus der folgenden Tabelle sieht, stellt sich beim Versuch

1 sogar eine geringe Zunahme des specifischen Gewichts des Filtrats heraus; freilich war der Albumingehalt des Harns auch nur ein geringer. Ferner ist aus den folgenden Versuchen ersichtlich, dass ich mit Eiweisslösungen von sehr verschiedener Concentration operirte, jedoch bewegt sich diese in Grenzen, welche durchaus nicht selten im Harne vorkommen, und wenn die Methode Ansprüche auf Brauchbarkeit macht, so muss sie für alle Concentrationsgrade innerhalb dieser Grenzen Anwendung finden können.

In der folgenden Tabelle habe ich unter I die Art der von mir untersuchten Eiweisslösungen gegeben, unter II den durch Gewichtsanalyse gefundenen Eiweissgehalt in Procenten, unter III die Differenz der specifischen Gewichte vor und nach dem Euteiweissen und unter IV den Quotienten, den man bei der Division von III in II erhält.

Nr.	I.	II.	III.	IV.	
1		0,0285 %	+ 0,000505	—	
2	Harn	}	0,0231	— 0,000042	564,3
3			0,0798	— 0,000327	240,9
4			0,7034	— 0,004350	161,7
5			1,1181	— 0,003037	368,1
6			0,9314	— 0,002398	388,4
7	Serummischung	}	0,5473	— 0,001670	327,7
8			0,3851	— 0,000783	491,8
9			0,3564	— 0,000976	365,1
10			0,1953	— 0,000295	662,0

Die von mir gefundenen Quotienten variiren zwischen 161,7 und 662,0; der Durchschnittsquotient ist 385,5 und nähert sich weder dem Haebler'schen, noch dem Bornhardt'schen so weit, dass ich die Resultate eines der beiden Autoren bestätigen kann.

Schliesslich möchte ich noch darauf hinweisen, dass die Art und Weise, in welcher Haebler die Resultate seiner Methode mit denen der gewichtsanalytischen vergleicht, nicht

geeignet ist, um eine richtige Vorstellung von der Grösse der Fehler zu erhalten, welche den nach seiner Methode gefundenen Zahlenwerthen anhaften.

Er giebt nämlich die Differenz zwischen den nach seiner und nach der Scherer'schen Methode erhaltenen Resultaten direct als Fehlergrössen an, ohne zu berücksichtigen, um wie grosse Eiweissquantitäten es sich bei der Vergleichung handelte. So ist z. B. der Fehler unbestreitbar wesentlich geringer, wenn man auf gewichtsanalytischem Wege den Eiweissgehalt einer Flüssigkeit auf 1,000 % und nach der Haebler'schen Methode auf 1,020 % bestimmt hat, als in einem anderen Falle, wo in der Flüssigkeit auf dem ersten Wege 0,020 % und auf dem zweiten 0,040 % Albumin gefunden worden, obgleich in beiden Fällen die Resultate genau um 0,020 % differiren. Der Fehler beträgt aber in Wirklichkeit im ersten Falle nur etwas weniger als 2 % der vorhandenen Eiweissmenge, im zweiten dagegen 50 %.

Dem Gesagten zufolge möchte ich daher das von Haebler für die Schärfe seiner Methode angeführte Beispiel ¹⁾ eher als Beweis für die Ungenauigkeit der Methode ansehen, wenn es sich um einen geringen Eiweissgehalt handelt. Er sagt nämlich: „Dass diese Methode auch bei minimalen Eiweissmengen angewandt werden kann, geht aus Beispiel Nr. 3 hervor, wo bei 0,007 % Albumin noch eine Abnahme des specifischen Gewichts nach der Enteiweissung um 0,0002 constatirt wurde“. Bei der Multiplication dieser Differenz mit der Zahl 210 erhält man aber 0,042 %, also 6 mal mehr, als durch directe Wägung, während freilich die einfache Differenz nur 0,035 beträgt.

Ich muss mich daher Neubauer's, so wie Stscherbakoff's u. Chomjakoff's Ansicht anschliessen, dass die Häbler'sche Methode ihrer schwankenden Resultate wegen zur quantitativen Eiweissbestimmung sich nicht eignet, um so mehr, als bei ihr die Ausfällung des Eiweisses, wie bei der Scherer'schen Methode, auf Kochen der Versuchsflüssigkeit beruht.

1) Eine neue Methode der quantitativen Eiweissbestimmung im Harn von Max Haebler. Inaug. Dissert. pag. 16. 1868, Berlin.

III. Die Methode der quantitativen Eiweissbestimmung durch Circumpolarisation von Hoppe-Seyler.

Nachdem von Biot festgestellt war, dass die Polarisations-ebene durch Eiweisslösungen nach links gedreht wird, nachdem Bouchardat und Becquerel diese Eigenschaft für die quantitative Eiweissbestimmung zu verwerthen suchten, ohne jedoch Resultate erlangt zu haben, welche der Methode Anklang verschafft hätten, war es Hoppe-Seiler, der den von Soleil erfundenen und von Ventzke modificirten Saccharimeter auch zur quantitativen Bestimmung des Eiweisses empfahl.¹⁾ Er lobt diese Methode hauptsächlich der Schnelligkeit wegen, mit der die Beobachtungen gemacht werden können, dann aber auch ihrer verhältnissmässig genauen Resultate wegen und empfiehlt sie aus diesen Gründen dem Kliniker und praktischen Arzt.

Als wesentlichste Resultate ergeben sich aus seinen Untersuchungen in Kürze folgende: Die zur Untersuchung bestimmten albuminhaltigen Flüssigkeiten dürfen nicht zu dunkel gefärbt und müssen natürlich vollkommen klar sein; die Fehler sind nicht grösser, als bei den auf chemischem Wege gemachten Bestimmungen; Albumin dreht die Polarisations-ebene ziemlich ebenso stark nach links, wie der Traubenzucker nach rechts, daher der Ventzke-Soleil'sche Apparat auch zur quantitativen Eiweissbestimmung vollkommen geeignet ist.

1) Ueber die Bestimmung des Eiweissgehalts im Urin, Blutserum, Transsudaten mittelst des Ventzke-Soleil'schen Polarisationsapparates von Dr. F. Hoppe. Archiv f. pathol. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med. von R. Virchow. Band XI.

Was die Fehlergrösse anbetrifft, so giebt Hoppe-Seyler selbst an, dass dieselbe bei Ungeübten 0,2 Grm., bei Geübten 0,1 Grm. für 100 Cc. Urin nicht übersteigt. Bei neun von ihm angestellten Parallelversuchen begegnen wir viermal Differenzen von 0,18—0,24 Grm. In den übrigen Fällen sind diese Differenzen freilich geringer. Dazu kommt aber, dass Hoppe-Seyler bei fünf von diesen Versuchen mit Albuminlösungen von verhältnissmässig sehr starker Concentration, wie sie im Harn wohl nur äusserst selten vorkommt, operirt hat; es sind dieses Serum-mischungen und Hydroceleflüssigkeit von 2–4 % Eiweissgehalt. Die zwei mit eiweisshaltigem Harn angestellten Versuche können keinen Maassstab für die Fehlergrösse bei geringerem Eiweissgehalt geben, da bei nur zwei Versuchen die geringe Fehlergrösse eben lediglich auf Zufall beruhen kann. Aus dieser kleinen Versuchsreihe ist man daher nicht berechtigt, den Schluss zu ziehen, dass bei geringerem Eiweissgehalt auch der Fehler ein geringerer werde; in weitaus den meisten Fällen aber, in denen der Eiweissgehalt eines Harns bestimmt werden soll, handelt es sich nur um 0,5 % und weniger.

A. Vogel macht bereits auf diesen Umstand aufmerksam und erklärt die Methode für nicht zweckentsprechend.¹⁾ Haebler führt noch einen andern Umstand gegen dieselbe an, nämlich das Vorkommen verschiedener Eiweissmodificationen mit verschiedenem specifischem Drehungsvermögen.²⁾ Einige, von mir mit dem, der hiesigen medicinischen Klinik gehörigen Ventzke-Soleil'schen Instrumente angestellten Versuche gaben so widersprechende Resultate, dass sie durchaus unbrauchbar waren.³⁾

1) Eine neue Eiweissprobe von Dr. Alfred Vogel. Deutsches Arch. f. klin. Med. von Ziemssen u. Zenker. Bd. III., Heft 1., pag. 143. 1867.

2) Eine neue Methode der quantitativen Eiweissbestimmung im Urin von Max Haebler. Inaug. Diss. p. 6. 1868.

3) Ich muss hierbei bemerken, dass diese Versuche mit Albuminlösungen von ungefähr 0,3 pCt. angestellt wurden, welche bei einigen Einstellungen sogar geringe Rechtsdrehungen zu bewirken schienen.

Da mir ein genauer, nach anderem Princip construirter Apparat zu Gebot stand, so habe ich mit dem erstgenannten nicht weiter experimentirt.

H. Wild, welcher neuerdings einen Apparat construirt hat, den er „Polaristrobometer“ nennt, empfiehlt denselben auch zur quantitativen Eiweissbestimmung¹⁾.

Der Wild'sche Apparat unterscheidet sich vom Ventzke-Soleil'schen seiner Construction nach im Wesentlichen dadurch, dass die Verbindungsfläche der rechts- und der linksdrehenden Quarzplatte beim letzteren in der Axe, im ersteren dagegen senkrecht auf der Axe des Instruments steht; ausserdem fallen beim Wild'schen Apparat die compensirenden Quarzplatten des Ventzke-Soleil'schen ganz weg. Soleil benutzt als Criterium Farbenercheinungen, Wild dunkle Fransen, beides Erscheinungen, wie sie je nach Umständen beim Durchgang von polarisirtem Licht durch Krystallblättchen auftreten.

Da sich, wie bereits oben bemerkt, der Ventzke-Soleil'sche Apparat als nicht genügend zur Untersuchung von eiweissärmeren Flüssigkeiten erwiesen hatte, so bediente ich mich bei meinen Beobachtungen ausschliesslich des Wild'schen Polaristrobometers.

Nachdem ich mir durch eine Anzahl vorläufiger Beobachtungen einige Uebung in der Handhabung dieses Instruments verschafft hatte, stellte ich sieben Parallelversuche an, bei denen ich einmal den Eiweissgehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit nach der Scherer'schen Methode und andererseits die durch diese Lösung bewirkte Linksdrehung bestimmte. Die Fehlergrösse zu verringern, verfuhr ich folgendermassen: ich bestimmte zuerst in einem Quadranten durch sechs Einstellungen den Indifferenzpunkt, das heisst den Punkt, bei welchem im Gesichtsfelde mit Ausnahme der äussersten

1) Ein neues Polaristrobometer (Saccharimeter, Diabetometer), und eine neue Bestimmung der Drehungsconstante des Zuckers von Dr. H. Wild. Bern, 1865.

Ränder desselben keine Spur einer Querstreifung zu entdecken war, schaltete dann die Röhre (ich bediente mich stets einer Röhre von 300 mm. Länge) mit der Versuchsflüssigkeit ein, bestimmte abermals durch 6 Einstellungen den Indifferenzpunkt und wiederholte dieses Verfahren auch in den drei übrigen Quadranten; dann zog ich das arithmetische Mittel aus den Gradstellungen sowohl ohne eingeschaltete, als bei eingeschalteter Röhre in jedem Quadranten und berechnete daraus für jeden Quadranten die Grösse der Linksdrehung. Das schliesslich aus diesen vier Differenzen gezogene arithmetische Mittel wurde dann, da die Beobachtungen bei weissem Lampenlicht gemacht waren, auf homogen gelbes Licht von der Brechbarkeit der Frauenhofer'schen Linie D des Sonnenspectrums umgerechnet, und der gefundene Werth in die von Hoppe-Seyler angegebene Gleichung $p = \frac{\alpha}{(\alpha)_j l}$ für α substituirt; p entspricht in diesem Fall dem Albumingehalt v. 1 Cc. der Versuchsflüssigkeit, α der beobachteten Linksdrehung, $(\alpha)_j$ der specifischen Drehung des Albumins ($= -56^\circ$) und l der Länge des die Flüssigkeit enthaltenden Rohrs, in Decimetern ausgedrückt. Um den Procentgehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit zu finden, braucht man nur α mit 100 zu multipliciren.

Ich muss aus eigener Erfahrung gestehen, dass geraume Zeit vergeht, ehe der Neuling einerseits die feineren Nüancirungen im Verschwinden und Auftauchen der Interferenzfransen wahrzunehmen im Stande ist und andererseits bei diesen Untersuchungen Oeconomie mit der Anwendung seines Sehvermögens treiben lernt. Man muss schon einen gewissen Grad von Geübtheit darin erlangt haben, so schnell wie möglich den Indifferenzpunkt zu bestimmen, um nicht genöthigt zu sein, lange Erholungspausen bei seinen Beobachtungen zu machen. — Ich kann nicht umhin, hier noch eine Bemerkung einzuflechten, die mir auch von anderer Seite bestätigt worden ist; ich fand nämlich, dass ich ohne wahrnehmbare äussere Ursache an gewissen Tagen und zu gewissen Tageszeiten, und zwar gewöhnlich am

Nachmittage mehr zu derartigen Untersuchungen disponirt war, als zu anderen Zeiten, dass mir die Einstellungen schneller glückten, und die Resultate weniger von einander differirten. Es scheint mir dieses ein Umstand zu sein, der bei der Beurtheilung der Methode auch nicht ganz ausser Acht gelassen werden darf, um so mehr, als bei derartigen Untersuchungen der Subjectivität mehr oder weniger Spielraum gegeben ist, wenn auch nicht in dem Grade, wie beim Vontzke-Soleilschen Saccharimeter.

Im Folgenden stelle ich zunächst die Ergebnisse meiner hierhin bezüglichen Versuche tabellarisch zusammen und erlaube mir dann, weiter unten der Anschaulichkeit wegen, einige Beispiele solcher polaristrobometrischer Beobachtungen in detaillirterer Weise anzuführen. In der Tabelle gebe ich unter Columne I die Art der Flüssigkeit an, mit der ich operirte, unter II den nach der Scherer'schen Methode gefundenen Procentgehalt an Eiweiss, unter III den mittelst des Polaristrobometers gefundenen Procentgehalt und unter IV das Verhältniss, in welchem IV zu III steht, wenn III = 100 gesetzt wird.

Nr.	I.	II.	III.	IV.
1	Eiweisshaltiger Harn.	0,0285 %	0,0472 %	165,6 %
2		0,0366	0,0488	133,3
3		0,0798	0,0932	118,0
4		0,7034	0,3785	53,8
5 ¹⁾	Mischungen von Blutserum mit Wasser.	0,9314	0,7248	77,8
6		0,3564	0,4012	112,5
7		0,2464	0,2323	94,2

1) Anmerk.: Was die auf Nr. 5 bezügliche unter III stehende Zahl 0,7248 anberuht, so muss ich Folgendes bemerken: nachdem im ersten Quadranten die Einstellungen gemacht waren, liess ich eine Stunde verstreichen, ehe ich im 2ten, und 6 Stunden, ehe ich im 3ten und 4ten beobachtete, um nämlich zu sehen, ob bei einigem Stehen an der Luft sich Unterschiede im Eiweissgehalt bemerkbar machen würden. Im 1ten und 3ten Quadranten hatte Prof. Dragendorff die Güte, gleichfalls eine Reihe von vergleichen-

Wie man aus der Tabelle ersieht, ist die Uebereinstimmung zwischen den entsprechenden Resultaten beider Methoden doch zu gering, um daraus befriedigende Schlüsse auf die vorhandene Eiweissmenge ziehen zu können. Noch grösser wird der Fehler, wenn man einzelne Einstellungen bei eingeschalteter oder ohne eingeschaltete Röhre vergleicht, und um dieses zu veranschaulichen, so wie um überhaupt ein Bild von den Schwankungen zwischen den einzelnen Einstellungen selbst zu geben, liefere ich im Folgenden eine Tabelle, in welcher eine solche Beobachtung, welche 48 Einstellungen umfasst, im Detail niedergelegt ist. Die in dieser Tabelle als Ueberschrift gebrauchten Ausdrücke „voll“ und „leer“ entsprechen den Momenten bei der Untersuchung, wo die, die betreffende Flüssigkeit enthaltende Röhre eingeschaltet ist, oder nicht.

den Einstellungen zu machen, von deren Resultaten die entsprechenden, von mir gewonnenen, nicht wesentlich differirten; im 2ten Quadranten wiederholte ich selbst die Einstellungen, und zwar in grosser Uebereinstimmung mit den, kurz vorher im selben Quadranten gemachten. Es stellt sich dabei Folgendes heraus:

	I	II nach einer Stunde.	III nach 6 Stunden.	
	1 Quadr.	2 Quadr.	3 Quadr.	4 Quadr.
a. Mittel d. ersten Einstellung.	— 0,9684°	— 1,2025°	— 1,4645°	— 1,5117°
b. Mittel d. gleich darauf folgenden 2. Einstellung.	— 0,9800	— 1,2145	— 1,7736	—

Wenn man nach der Zeit in welcher die Beobachtungen gemacht wurden, die gefundenen Werthe gruppirt, so ist das arithmetische Mittel aus I (a+b), ferner aus II (a+b) und endlich aus III (a+a+b) zu ziehen, jedes derselben auf gelbes Licht umzurechnen, und die dann gefundenen Werthe nach einander in die obenerwähnte Gleichung einzusetzen.

Danach hätte der Albumingehalt, oder das specif. Drehungsvermögen der Versuchsflüssigkeit im Laufe einiger Stunden sich fast auf das Doppelte erhöht.

Da ein einmaliger Versuch in dieser Richtung nicht entscheidend sein kann, so habe ich in obiger Tabelle Versuch Nr. 5 die Generaldifferenz aus allen dahin gehörigen Beobachtungen benutzt, um den Albumingehalt zu berechnen.

N	1 Quadrant.		2 Quadrant.		3 Quadrant.		4 Quadrant.	
	leer	voll	leer	voll	leer	voll	leer	voll
1	47,24	46,84	137,64	137,30	227,49	227,26	317,12	317,07
2	47,23	47,10	137,40	137,26	227,56	227,20	317,06	316,92
3	47,14	46,97	137,34	137,36	227,49	227,50	317,14	316,92
4	47,40	47,30	137,66	137,44	227,42	227,34	317,20	317,14
5	47,30	47,16	137,60	137,41	227,46	227,30	317,28	316,98
6	47,04	47,04	137,52	137,30	227,56	227,46	317,16	316,99
	47,2450	47,0683	137,5266	137,3600	227,5133	227,3433	307,1600	317,0033
	— 0,1767°		— 0,1666°		— 0,1700°		— 0,1567°	

— 0,1775° (für gelbes Licht — 0,1566°).

Wählt man z. B. im ersten Quadranten die vierte Zahl unter „leer“ 47,40 und zieht sie von der ersten Zahl unter „voll“ 46,84 ab, so hat man eine Linksdrehung von 0,56°; wählt man dagegen die dritte Zahl unter „leer“ 47,14 und zieht sie von der vierten Zahl unter „voll“ 47,30 ab, so hat man eine Rechtsdrehung von 0,16°.

Dieses Beispiel wird es zur Genüge erklären, dass eine grössere Anzahl von Einstellungen erforderlich ist, um einigermaßen genaue Resultate zu erzielen, und zwar eine grössere Anzahl, als ich sie bei meinen Versuchen gemacht habe. Dabei stellt sich aber dann ein Uebelstand von practischer Bedeutung heraus, welcher eine solche Beobachtung zu einer sehr zeitraubenden macht: je nach der Beschaffenheit der Augen des Beobachters, ermüden dieselben bald früher, bald etwas später, jedenfalls bedürfen sie nach einer Reihe von 10—20 Einstellungen einer kurzen Ruhepause. Je länger aber die Beobachtungen fortgesetzt werden, desto länger müssen auch die Ruhepausen werden. Wenn also zur quantitativen Eiweissbestimmung eines Harns *summa summarum* mindestens 80 Einstellungen erforderlich sind, so wird die bei dieser Methode gerühmte Zeitersparniss illusorisch, ohne dass eine grössere Genauigkeit,

als z. B. bei der Vogel'schen optischen Probe erzielt werden könnte. Ferner scheint mir der Einwand, dass eine Mischung von verschiedenen Eiweissmodificationen, wie sie im Harn öfter vorkommen, andere und sehr wechselnde Drehungsconstanten, als das Serumalbumin geben müssen, durchaus nicht leicht beseitigt werden zu können. Ich führe in Bezug hierauf die von Hoppe-Seyler selbst angegebenen Drehungsconstanten einiger Eiweissarten an:

1. Serumalbumin:

- 56° (in der wässrigen neutralen Lösung!)
- 71° (durch Einwirkung von Kohlen-, Wein-, Phosphorsäure etc).
- 78,8° (in reiner concentrirter Salzsäure gelöst).

2. Eialbumin:

- 35,5° (in wässriger Lösung).
- 37,7° (durch Ansäuern mit Salzsäure).

3. Casein der Milch:

- 80° (In Lösung von schwefelsaurer Magnesia).
- 76° (in schwach alkalischer Lösung).
- 87° (in ganz verdünnter Salzsäure).
- 91° (in stark alkalischer Lösung).

4. Paralbumin:

- 61,5° (in ziemlich neutraler Lösung).

5. Syntonin:

- 72° (in sehr verdünnter Salzsäure).
- 84,8° (einfach nach Erhitzen im verschlossenen Gefäss im Wasserbade).

Es heisst in seinem Handbuch der physiol.- und pathologisch-chemischen Analyse, Aufl. 2, pag, 188: „Dass aber die durch Einwirkung des Aetzkali auf verschiedene Albuminstoffe erhaltenen Albuminate oder Proteine (denn einen Unterschied zwischen dem Mulder'schen Protein und dem von Lieberkühn besonders geschilderten Albuminat finde ich nicht) nicht identisch sind, zeigt die grosse Verschiedenheit ihrer Einwirkung

auf das polarisirte Licht. So wurde durch starke Kalilauge eine Steigerung der specifischen Drehung des Serumalbumin auf 86°, eine Steigerung des Eialbumin unter gleichen Verhältnissen nur auf 47°, des Casein auf 91° und des coagulirten Eialbumin auf 58,5° erreicht.“

Zu alledem kommt noch, dass die Drehungsconstante für das Serumalbumin aus Controlbestimmungen nach der Scherer'schen und Berzelius'schen Methode (die in ihren Resultaten nicht wesentlich differiren) berechnet ist. Falls sich also im Laufe der Zeit Methoden finden lassen sollten, nach welchen in der That alles in Lösung vorhandene Eiweiss, so wie das Mengenverhältniss der in der Lösung befindlichen verschiedenen Eiweissmodificationen zu einander bestimmt werden könnte, so würde man aller Wahrscheinlichkeit nach wohl andere Drehungsconstanten für die verschiedenen Modificationen finden.

Mir scheint daher hauptsächlich aus zwei Gründen die quantitative Bestimmung des Eiweisses im Harn mittelst des Polarisationsapparates für den Kliniker keinen Werth zu haben:

1. Die Fehler der Methode sind zu gross einmal, weil die Berechnung des Eiweissgehalts auf dem specifischen Drehungsvermögen einer Eiweissart, des Serumalbumins beruht und der specifische Drehungswinkel desselben aus Parallelversuchen nach der Berzelius'schen und Scherer'schen Methode herzu-
leiten ist, andererseits aber weil der Subjectivität ein zu grosser Spielraum gestattet ist.

2. Die Beobachtung selbst ist zu zeitraubend, namentlich wo es sich um längere Zeit hindurch täglich vorzunehmende Eiweissbestimmungen handelt.

Der Umstand, dass es geraumer Zeit bedarf, um die nöthige Uebung in der Handhabung des Instruments sich anzueignen; ferner dass es verhältnissmässig wenig Männer, namentlich im Gelehrtenstande giebt, deren Sehvermögen ihnen überhaupt eine solche Uebung zu erlangen gestattet; endlich dass die Anschaffung eines so kostbaren Instruments, wie eines guten

Polaristrobometers, dem praktischen Arzt in den meisten Fällen nicht möglich ist, lässt mich annehmen, dass dieses Instrument für den genannten Zweck sich nie allgemeinere Geltung verschaffen wird,

Ehe ich diesen Abschnitt schliesse, muss ich hier noch einer Arbeit Erwähnung thun, welche v. Stscherbakoff u. Chomjakoff in Kasan veröffentlicht wurde ¹⁾. Die genannten Autoren benutzen d. mittelst des Ventzke-Soleil'schen Saccharimeters gewonnenen Resultate als Controlbestimmungen für die Ergebnisse der Scherer'schen Methode, und suchen aus den vorhandenen Differenzen die Unbrauchbarkeit der letzteren zu erweisen. Sie haben dabei aber ausser Acht gelassen, dass der Bestimmung des Eiweissgehalts nach der Hoppe-Seyler'schen Methode gerade die Scherer'sche und Berzelius'sche Methode, welche, wie schon oben bemerkt, in ihren Resultaten nicht wesentlich von einander differiren, zu Grunde liegen, daher nicht umgekehrt die gewichtsanalytische Methode durch die Circumpolarisationsmethode corrigirt werden kann; Hoppe-Seyler bezweckt ja mit der von ihm angegebenen Methode auch nur eine Vereinfachung der Verfahrens, um dadurch dem Kliniker die häufigere Ausführung von quantitativen Eiweissbestimmungen möglich zu machen.

1) a. a. O.

IV. Die Methode durch Fällung mit Phenylsäure von Méhu.

Méhu beschreibt die Ausführung seiner Methode folgendermassen: ¹⁾ „Après de nombreux essais, pratiqués sur des poids déterminés d'albumine de l'oeuf ou du sérum, j'ai dû me convaincre que l'on pouvait obtenir très-rapidement le dosage de l'albumine au moyen de la liqueur suivante:

Acide phénique 1 partie.
 Acide acétique du commerce... 1 partie.
 Alcool à 86° 2 parties.

On prend 100 grammes du liquide albumineux, de l'urine par exemple, on lui ajoute successivement 2 centimètres cubes d'acide azotique ordinaire et 10 centimètres cubes de la solution phénique précédente; on agite bien la liqueur après chaque addition et l'on jette le précipité sur un petit filtre de papier blanc, bien sec et pesé à l'avance. Le liquide s'écoule rapidement; quand il s'est écoulé tout entier, on lave avec de l'eau contenant $\frac{1}{2}$ p. 100 d'acide phénique, enfin avec de l'eau légèrement alcoolisée. On dessèche le filtre à 110 degrés, et comme le résidu sec est très-hygroscopique, on le pèse entre deux verres de montre après refroidissement sur l'acide sulfurique. En retranchant du poids de ce filtre le poids du filtre vide et sec, on aura le poids de l'albumine.“

Er giebt weiterhin an, dass es ihm durch wiederholte Versuche zu constatiren gelungen sei, dass die Phenylsäure keine Verbindung mit dem Eiweiss eingeht, und dass die Filtration so ungemein schnell vor sich geht, dass im Niederschlage sich nur Spuren von Harnsäure finden.

1) De l'emploi de l'acide phénique pour doser l'albumine par M. Méhu. Journal de Pharmacie et de Chimie. Tome neuvième. 1869. p. 95.

Ausser von C. Schacht sind, so viel mir bekannt, keine nach dieser Methode angestellte Analysen veröffentlicht. Schacht scheint jedoch nur einmal mittelst der Méhu'schen Lösung die Eiweissmenge im Harn bestimmt zu haben, wenigstens veröffentlicht er keine weiteren Versuche. In dem erwähnten Harn findet er nach der Scherer'schen Methode 0,021 % und nach der Méhu'schen Methode 0,025 %.¹⁾ Er äussert sich ungünstig über die von ihm erhaltenen Resultate, indem er sagt: „Will man mittelst der Méhu'schen Lösung das Albumin quantitativ bestimmen, und zwar in Harnen mit geringem Albumingehalt, so erfolgt die Abscheidung des letzteren nicht augenblicklich, oder wenigstens nicht nach kurzer Zeit.“ „Bis jetzt habe ich mich nicht von der Vortrefflichkeit der Méhu'schen Methode überzeugen können, besonders wenn die quantitative Bestimmung des Albumins in Harnen von geringem Albumingehalt stattfinden soll.“

Auch mir gelang es trotz genauester Befolgung der Méhu'schen Vorschriften durchaus nicht, irgendwie befriedigende Resultate zu erhalten. Die Fällung schien mir zwar schnell und vollständig, und die Filtration vor Anwendung des Waschwassers verhältnissmässig rasch vor sich zu gehen; sobald aber das, genau nach Méhu's Vorschrift bereitete Waschwasser angewandt wurde, so ging die Filtration immer langsamer von Statten, der Niederschlag quoll allmählig auf, gewann gallertartige Consistenz und im Filtrat entstanden mehr oder weniger beträchtliche Trübungen. In einem Fall geschah dieses in so hohem Grade, dass die Filtration unvollendet blieb, und als ich das Filter nach mehreren Tagen vergeblichen Wartens, im Verlauf welcher ich wiederholt etwas nachgewaschen hatte, um das Filter wenigstens feucht zu erhalten, aus dem Trichter nehmen wollte, so haftete es stellenweise so fest an den Wandungen desselben, dass die Entfernung nicht gelang, ohne das Filter zu zerreißen.

1) Archiv der Pharmacie. Band 139, pag. 19.

Ich habe mit Ausschluss dieses Versuchs nur viermal Eiweissbestimmungen nach der Méhu'schen Methode unternommen und hielt dann, sowohl durch die erwähnten Erscheinungen bei der Ausführung der Methode, als auch durch die unconstanten Wägungsergebnisse bewogen, weitere Versuche für überflüssig.

Die vier zur Wägung gelangten Eiweissfällungen nach der Méhu'schen Methode verhielten sich zu den Resultaten von Parallelversuchen nach der Scherer'schen Methode wie folgt:

N.	Nach Scherer's Methode.	Nach Méhu's Methode.
1	0,9314 %	0,7640 %
2	0,3851	0,2239 0,0122 } 0,2361
3	0,1935	0,2067
4	0,7104	0,5748 0,0156 } 0,5904

In allen vier Fällen ging, wie gesagt, die Filtration, sobald das Auswaschen begann, äusserst langsam von Statten; es dauerte mindestens 24 Stunden, ehe ich zum Trocknen und Wägen schreiten konnte. Das Filtrat wurde immer trübe, im höchsten Grade beim 2ten und 4ten Versuch, wo ich es einer zweiten Filtration unterwarf und den erhaltenen Rückstand zum ersten addirte.

In den ersten beiden und im vierten Fall sind die Resultate der Méhu'schen Methode um ein Bedeutendes zu niedrig, im dritten zu hoch ausgefallen.

Möglicherweise hat Méhu in seiner Vorschrift Umstände unerwähnt gelassen, welche die von mir erwähnten Uebelstände vermeiden lassen. Vorläufig jedoch kann seine Methode zur quantitativen Eiweissbestimmung nicht empfohlen werden.

V. Einige Versuche, betreffend die quantitative Bestimmung des Eiweisses durch Titriren mittelst einer Tanninlösung.

Prof. Almén¹⁾ in Upsala, welcher verschiedene Methoden zur quantitativen Eiweissbestimmung im Harn auf ihre Schärfe prüfte, findet, wie bereits in der Einleitung erwähnt, dass geringste Mengen Eiweiss, deren Gegenwart durch keine andere Reaction nachgewiesen werden kann, durch Tanninlösung noch gefällt, und zu Gesicht gebracht werden. Die Schärfe der Reaction, die Beschaffenheit des Niederschlages, so wie die äusserst schnelle Filtration veranlassen ihn zu der Vermuthung, dass die Gerbsäure auch bei der quantitativen Bestimmung Bedeutung erlangen könne.

Da die Gerbsäure beim Fällen des Eiweisses mit letzterem eine Verbindung eingeht, deren Eigenschaften und Constitution noch nicht näher studirt sind, so erschien es misslich, durch Wägung des erhaltenen Niederschlags die Menge zu bestimmen. Prof. Dragendorff schlug mir vor, Versuche darüber anzustellen, ob die Gerbsäure zum Titriren von Eiweisslösungen geeignet sei.

Da Almén eine 20%ige Lösung von Gerbsäure in destillirtem Wasser mit Zusatz von Alcohol und Essigsäure zu seiner Probe empfiehlt, so wurden zum Behuf der Titrirversuche 20 Grm. reines Tannin in 400 CC. 85 procentigen Alkohols gelöst, 75 CC. Eisessig hinzugefügt und diese Lösung mit destillirtem Wasser auf 1 Litre verdünnt. Ich erhielt dadurch eine vollkommen Klare hellbraune Flüssigkeit. Der Gehalt an trockenem

¹⁾ Die Empfindlichkeit verschiedener Methoden zum Nachweis von Albumin im Urin (Upsala Läkare Förhandlingar. V. 6. 535 1870) ref. Neues Jahrb. f. Pharmacie u. verwandte Fächer. Band XXXIV. p. 215. 1870

Tannin wurde bei jedesmaliger Bereitung einer neuen Lösung durch eine Trockenbestimmung festgestellt. In der Folge zeigte sich, dass Tannin von einer und derselben Sorte beim Trocknen fast constante Mengen Wasser abgab: so verlor 1 Grm. Tannin von einer Sorte, die ich hauptsächlich bei meinen Versuchen anwandte, bei einer Trockenbestimmung 0,1337 Grm., bei einer anderen 0,1338 Grm. an Gewicht.

Als Versuchsflüssigkeiten dienten anfangs einfache Mischungen von klarem Blutserum mit destillirtem Wasser, bei Zusatz von verschiedenen Quantitäten Kochsalzlösung, deren Gegenwart sich als sehr wesentlich für das Gelingen der Probe herausstellte, späterhin auch Eiweisslösungen und Milch, dann verschiedene normale Harne, denen Blutserum hinzugefügt war, und endlich auch einige eiweisshaltige Harne.

Der Modus des Titrirens war folgender: zu der in einem Becherglase befindlichen Versuchsflüssigkeit liess ich aus einer in $\frac{1}{10}$ CC. getheilten Quetschhahnbürette eine gewisse Quantität Tanninlösung fliessen; dann filtrirte ich eine kleine Probe in ein Reagenzgläschen und beobachtete, ob auf Zusatz von einigen Tropfen der Tanninlösung zum Filtrat noch eine Trübung entstand. Es lässt sich dieses mit vollkommen genügender Schärfe auch bei geringer Uebung bestimmen, wenn man das erwähnte Filtrat in zwei sorgfältig gereinigte Reagenzgläschen vertheilt, in das eine von ihnen 2–3 Tropfen der Tanninlösung (selbstverständlich aus der Bürette) fliessen lässt, dann beide neben einander gegen eine schwarze Fläche (schwarzes Papier, geschwärztes Glas etc.) hält und die in demselben enthaltenen Flüssigkeiten vergleicht. Auch Lampenlicht gestattet diese Beobachtung, und wie es mir scheint, sogar in noch schärferem Grade, als die Tagesbeleuchtung. Entsteht im Filtrat noch eine Trübung, so bringt man das kleine Filtrirchchen mit dem darin enthaltenen Rückstand, sowie den Inhalt beider Reagenzgläschen in das Becherglas zurück und fügt von Neuem Tanninlösung hinzu. Man eignet sich bald den

nöthigen Blick dafür an, wie viel ungefähr bei einer, auf Zusatz von Tanninlösung eintretenden Trübung noch fernerer Zusatz von Titirflüssigkeit erforderlich ist, um die Probe als beendet ansehen zu können. Dieses letztere ist nämlich der Fall, wenn bei Zusatz einiger Tropfen Tanninlösung zum Filtrat kein Unterschied in Bezug auf Klarheit zwischen dem Inhalt beider Reagenzgläschen zu constatiren ist. Bei einer Tanninlösung von der Concentration, wie ich sie benutzte, genügten sehr oft $\frac{2}{10}$ CC., um einen Ausschlag zu geben, d. h., wenn bei einer Probe noch eine Spur von Trübung entstand, so war diese nach Zusatz von $\frac{2}{10}$ CC. Tanninlösung verschwunden.

Die von mir angestellten Versuche habe ich je nach dem Zweck, der dabei verfolgt wurde, in verschiedene Gruppen gebracht: Es handelte sich darum, zu ermitteln,

1. ob in gleich grossen Quantitäten von Eiweisslösungen unter sonst gleichen Verhältnissen gleiche Mengen Tanninlösung erforderlich sind, um das darin enthaltene Eiweiss vollständig auszufällen;
2. welchen Einfluss dabei grösserer oder geringerer Eiweissgehalt, sowie grösserer od. geringerer Kochsalzgehalt ausüben;
3. in wie weit dabei langsamerer oder schnellerer Zusatz der Titirflüssigkeit d. h. grössere oder kleinere Pausen zwischen jedesmaligem Zusatz von Eiweiss sind;
4. ob ein gleichzeitiges Erwärmen der Mischung die Ausführung der Probe begünstigt oder stört;
5. ob Kochsalz oder Salmiak in ihrem Einfluss auf die Fällung des Eiweisses wesentliche Differenzen zeigen;
6. wie die Resultate sich gestalten, wenn Subjectivität so viel, als möglich ausgeschlossen ist, d. h. wenn mit Versuchsflüssigkeiten operirt wird, deren Quantität und Concentration dem Untersuchenden unbekannt ist;
7. ob bei Anwendung von verschiedenen Tanninsorten ein wesentlicher Unterschied sich herausstellt;
8. ob verschiedene Verhältnisse in der Zusammensetzung

der Titirflüssigkeit, namentlich was die relative Menge von Alkohol und Essigsäure anbetrifft, bei der Ausfällung des Eiweisses Differenzen bedingen;

9. ob der Wirkungswerth des Tannins dem Hühnereiweiss und dem Casein gegenüber ein ähnlicher ist, wie dem Serumalbumin gegenüber;

10. ob in normalem Harn bei Zusatz von gewissen Quantitäten Blutserums die Resultate denen bei einfachen Serum-mischungen gewonnenen, analog sind, d. h. ob die normalen Harnbestandtheile eine störende Rolle bei der Ausführung der Probe spielen;

11. ob sich die erwähnte Tanninlösung zur quantitativen Bestimmung des Eiweisses in pathologischem Harn eignet;

12. ob aus dem Gewicht der bei einer Reihe von Parallelversuchen erhaltenen Niederschläge sich ein constantes Verhältniss zwischen Albumin u. Gerbsäure herausstellt, aus welchem man auf die Zusammensetzung des Niederschlags schliessen könnte.

Als Controlbestimmungen für alle diese Versuche habe ich fast durchgängig den Eiweissgehalt der Versuchsflüssigkeit sowohl nach der Scherer'schen Methode, als auch durch Alkoholfällung bestimmt, habe aber die Resultate der letzteren ausschliesslich benutzt, auch nur diese jedem Versuch hinzugefügt und nach ihnen alle nöthigen Berechnungen angestellt. Wer Vergleiche mit den Resultaten der Scherer'schen Methode zu machen wünscht, wird in dieser Beziehung im ersten Abschnitt meiner Arbeit die nöthigen Angaben dort finden, wo ich die Ergebnisse der genannten beiden Methoden mit einander verglichen habe. In einem Falle habe ich die Aschenbestimmung nicht machen können, da das betreffende Filter mit seinem Inhalt mir durch einen unglücklichen Zufall abhanden gekommen war. Ich habe dessen am gehörigen Orte erwähnt.

Mit Ausnahme der Versuche, in denen ich mit verschiedenen Tanninsorten operirte und worüber am geeigneten Ort die nöthigen Angaben gemacht werden, habe ich die Mehrzahl mei-

ner Experimente Anfangs mit Tannin, welches nach der Pharm. Ross. bereitet und im hiesigen pharmaceutischen Institute vorrätig war, späterhin mit einer sehr schönen reinen Tanninsorte, welche vom Herrn Apotheker Köhler hieselbst bezogen wurde, angestellt. Es ergab sich, dass in 1 Grm. der ersterwähnten Sorte 0,8913 Grm. und in 1 Grm. der letzteren 0,8663 Grm. trockenen Tannins enthalten war.

Das Verhältniss in der Zusammensetzung der Titrirflüssigkeit war, mit Ausnahme einer Versuchsreihe, wo darüber gleichfalls die nöthigen Angaben gemacht werden, das am Eingang dieses Abschnitts erwähnte.

Die Kochsalz- resp. Salmiaklösungen, deren ich mich bediente, waren so bereitet, dass 200 Grm. des käuflichen Salzes in destillirtem Wasser gelöst, auf 1 Litre verdünnt und dann filtrirt wurden. Nach den Ergebnissen mehrfacher Trockenbestimmungen schwankte der Gehalt der Kochsalzlösungen an trockenem Kochsalz zwischen 18 und 19 %.

Versuchsreihe I.

Sind in gleich grossen Quantitäten von Eiweisslösungen unter sonst ganz gleichen Verhältnissen gleiche Mengen Tanninlösung erforderlich, um das darin enthaltene Eiweiss vollständig auszufällen?

a) 1 Theil Kalbsblutserum + 9 Theile destill. Wassers wurden filtrirt. Eiweissgehalt **0,6044** %. Tanninlösung 1,7826 procentig (Tanninlösung I). Zu je 100 Cc. der Mischung werden vor dem Titriren 20 Cc. Kochsalzlösung hinzugefügt.

Nr.	Versuchsflüssigkeiten in Cc.	Verbrauchte Tanninlösung in Cc.	Wie viel trockenem Albumin entspr. danach 1 Cc. Tanninlösung.	Im Mittel.
1	100	19,55	0,0309	} 0,0307
2	100	19,8	0,0305	
3	100	19,7	0,0307	

1 Grm. trockenes Tannin entspricht 1,7733 Grm. tr. Alb.

b) 1 Thl. Ochsenblutserum + 2 Thle Kochsalzlösung + 7 Thle destill. Wassers wurden filtrirt. Eiweissgehalt **0,7896** %. Tanninlösung 1,7326 procentig (Tanninlösung II).

Nr.	Versuchsflüssigkeiten in Cc.	Verbrauchte Tanninlösung in Cc.	Wie viel trockenem Albumin entspr. danach 1 Cc. Tanninlösung.	Im Mittel.
4	25	6,75	0,0292	} 0,0299
5	25	6,45	0,0306	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 1,7176 Grm. tr. Alb.

c) 1 Thl. Ochsenblutserum + 9 Thle destill. Wassers wurden filtrirt. Eiweissgehalt **0,7018** %. Tanninlösung II. Auf 5 Theile Mischung 1 Theil Kochsalzlösung.

6	100	21,2	0,0331	} 0,0323
7	50	11,1	0,0316	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 1,8686 Grm. trock. Alb.

Um die Art und Weise zu veranschaulichen, in der ich diese Resultate gewonnen, erlaube ich mir, ehe ich zu den folgenden Experimenten übergehe, als Beispiel den Versuch *a.* im Detail wiederzugeben:

I.	III	III.
17 CC. Tanninlösung (Im Filtrat starke Trübung.)	17 CC. Tanninl. (starke Trüb.)	17 CC. Tanninl. (starke Trüb.)
0,5 do.	1 do.	1 do.
0,5 do.	1 (schwäch. Trüb.)	1 (schwache Trüb.)
0,5 do.	0,5 (sehr schw. Trb.)	0,35 (sehr schw. Trb.)
0,5 (schwächere Trb.)	0,3 (fertig.)	0,35 (fertig.)
0,55 (fertig.)	19,8 CC. TL.	19,7 CC. TL.
19,55 CC. Tanninl.		

Wenn man nun aus dem Versuch *a.* (Tanninl. I.) die berechnete Mittelzahl 0,0307 benutzt, um mit derselben nach einander die in Nr. 1, 2 und 3 verbrauchten Cubikcentimeter Tanninlösung zu multipliciren, so erhält man direct die in der Versuchsflüssigkeit enthaltene Eiweissmenge, woraus sich dann der Procentgehalt leicht berechnen lässt:

	Berechneter Procentgehalt.	Durch Alcoholfällung gefund. Procentgehalt.	Fehlergrösse in Procenten.
1	0,6001 %	} 0,6044 %	- 0,7%
2	0,6078		+ 0,6
3	0,6048		+ 0,1
			Durchschnittsfehler = 0,46 %

Wenn man ferner die Versuche *b* und *c*, da bei ihnen die gleiche Tanninlösung gebraucht wurde (II), zusammenzieht und mit der dann gewonnenen Mittelzahl 0,0311 in der angegebenen Weise verfährt, so gelangt man zu folgenden Resultaten:

	Berechneter Procentgehalt.	Durch Alcoholfällung gefund. Procentgehalt.	Fehlergrösse in Procenten
4	0,8397 %	} 6,7096 %	+ 6,8 %
5	0,8023		+ 1,6
6	0,6593	} 0,7014 %	- 6,7
7	0,6904		- 1,7
			Durchschnittsfehler = 4,1 %

Um späterhin beim Verwerthen der gewonnenen Zahlen nicht zu ausführlich sein zu müssen, habe ich mich bei diesem ersten Versuch eingehender darüber mitgetheilt.

Aus dem Vorhergehenden geht übrigens hervor, dass die Fehler so gering sind, dass sie der Anwendung der Methode für praktische Zwecke nicht hinderlich sein würden.

Versuchsreihe II.

Ueben grösserer oder geringerer Eiweiss- und Kochsalzgehalt auf die zur vollständigen Eiweissausfällung erforderliche Menge Titrirflüssigkeit einen wesentlichen Einfluss?

Einleitend muss ich hierbei erwähnen, dass sich Gegenwart von Kochsalzlösung überhaupt als unbedingt nothwendig herausgestellt hatte, um Eiweissfällung durch Tanninlösung zu bewirken, und ein klares Filtrat zu erhalten, wie dieses aus folgenden Versuchen hervorgeht:

1. Bei 25 CC. Serummischung (1 : 9) + 200 CC. aq. dest. bewirkte Zusatz von Tanninlösung nur geringe Trübung.

Zusatz von 10 CC. Kochsalzlösung genügte, um reichliche flockige Fällung und klares Filtrat zu erhalten.

2. Bei 25 Cc. Serummischung (1 : 9) + 400 Cc. aq. dest. bewirkte Zusatz von Tanninlösung gleichfalls nur geringe Trübung. 10 Cc. Kochsalzlösung waren nicht genügend, um die Probe mit Erfolg anstellen zu können; weitere 10 Cc. ebenso wenig. Erst nachdem noch 20 Cc., also im Ganzen 40 Cc. Kochsalzlösung hinzugefügt waren, trat flockige Fällung ein, und war klare Filtration möglich.

3. Bei 25 Cc. Serummischung (1 : 9) genügten schon 5 Cc. Kochsalzlösung, um die Probe ausführen zu können.

Es geht hieraus hervor, dass ein gewisses Quantum von Kochsalzlösung erforderlich ist, um eine genügende Fällung durch Tanninlösung zu bewirken, und zwar: je verdünnter die Versuchsflüssigkeit ist, desto mehr Kochsalzlösung muss hinzugefügt werden, so dass man es immer mit einer Versuchsflüssigkeit zu thun hat, welche mindestens 4 % Kochsalz enthält.

1 Theil Kalbsblutserum + 9 Theile destillirten Wassers, Eiweissgehalt = 0,5328 %. Tanninlösung II (1,7826 procentig).

Nr.	Serum- mischung in Cc.	Aq. dest. in Cc.	Kochsalz- lösung in Cc.	Tannin- lösung in Cc.	Wie viel trock. Alb. demnach 1 Cc. Tan- ninlösung entspr.	Im Mittel.
1	25	—	5	4,4	0,0303	} 0,0307
2	50	50	10	8,75	0,0304	
3	50	50	20	8,7	0,0306	
4	50	100	20	8,75	0,0304	
5	50	100	40	8,7	0,0306	
6	25	100	20	4,4	0,0303	
7	25	200	20	4,3	0,0309	
8	25	100	40	4,4	0,0303	
9	25	200	40	4,4	0,0303	
10	25	300	40	4,2	0,0317	
11	25	400	40	4,2	0,0317	
12	25	500	40	4,3	0,0309	
13	25	500	80	4,4	0,0303	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 1,7292 Grm. trock. Alb.

Hieraus ist ersichtlich, dass ein Ueberschuss von Kochsalzlösung die Resultate der Probe nicht wesentlich ändert, und dass Versuchsflüssigkeiten von der verschiedensten Concentration sich zu derartigen Titrirversuchen eignen, sobald nur die genügende Menge von Kochsalzlösung zugesetzt ist.

Versuchsreihe III.

Welchen Einfluss übt der Modus des Titirens, d. h. grössere Pausen zwischen jedesmaligem Zusatz von Titrirflüssigkeit und häufiger Zusatz derselben in kleinen Quantitäten auf die Resultate?

a) 1 Theil Ochsenblutserum + 9 Theile destill. Wassers. Eiweissgehalt **0,7018** %. Tanninlösung II (1,7326 procentig). Auf 5 Theile Versuchsflüssigkeit wird 1 Theil Kochsalzlösung hinzugefügt.

Nr.	Versuchsf. in Cc.	Modus des Zusatzes.	Titrirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trock. Alb. demnach 1 Cc. der Titrirfl. entspricht.
1	100	langsam	20,0	0,0350
2	50		10,55	0,0332
3	100	schnell	21,2	0,0331
4	50		11,1	0,0316

b) 1 Theil Kuhblutserum + 9 Theile destill. Wassers. Eiweissgehalt **0,7736** %. Auf 5 Theile Mischung wird 1 Theil Kochsalzlösung hinzugefügt. Tanninlösung II (1,7326 procentig).

5	50	Cc. weise	12,7	0,0304
6	50	Gleich Anfangs 9 Cc.	11,8	0,0327
7	50		11,1	0,0348

In *a* ist eine Pause von 15 — 30 Minuten zwischen jedesmaligem neuen Zusatz von Titrirflüssigkeit mit „langsam“ bezeichnet, während unter „schnell“ verstanden ist, dass solche Pausen nicht stattfanden, sondern die Probe in gewöhnlicher Weise zu Ende geführt wurde. In *b*, 5 ist die Tanninlösung, mit 1 Cc. angefangen, cubikcentimeterweise zugesetzt, während bei 6 und 7 gleich Anfangs 9 Cc. zugesetzt wurden.

Die, bei Betrachtung der beiden Tabellen sich ergebenden Resultate sind zwar nicht massgebend, da die Anzahl der gemachten Versuche eine zu kleine ist. Im Allgemeinen habe ich jedoch die Beobachtung gemacht, dass bei Zusatz der Titrirflüssigkeit in kleinen Quantitäten in der Regel etwas mehr verbraucht wird.

Die dadurch entstehenden Differenzen in den Ergebnissen sind nicht so gross, dass sie für praktische Zwecke eine wesentliche Bedeutung erlangen könnten.

Versuchsreihe IV.

Begünstigt oder stört ein gleichzeitiges Erwärmen der Versuchsflüssigkeit die Ausführung der Probe?

Es wurden 3 Versuche in dieser Richtung angestellt; bei einem wurde nach jedesmaligem Zusatz von Tanninlösung das Becherglas mit der Versuchsflüssigkeit aufs Wasserbad gestellt und 15—20 Minuten lang auf ungefähr 80° C. erwärmt. Bei zwei anderen wurde die Versuchsflüssigkeit gleich anfangs vor Zusatz der Tanninlösung $\frac{1}{2}$ Stunde lang bis 60° C. auf dem Wasserbade erwärmt und dann in der eben angegebenen Weise fortgeföhren. Es war dieses aber durchaus keine Verbesserung; denn die Versuche konnten nicht zu Ende geführt werden, da in keinem Fall ein klares Filtrat zu erhalten war. Aus diesem Grunde wurden keine weiteren Versuche nach dieser Richtung hin angestellt.¹⁾

1) Ich erlaube mir bei dieser Gelegenheit auch 3 anderer Versuche zu erwähnen, die gleich unbefriedigende Resultate lieferten. Durch die Beobachtung, dass beim Auswaschen eines solchen Niederschlages von gerbsaurem Eiweiss (?) mit alkoholhaltigem Wasser das anfangs klare Filtrat sich mehr oder weniger trübt, bewogen, setzte ich in einigen Fällen zur Versuchsflüssigkeit, ehe mit dem Titriren begonnen wurde, das gleiche Volumen 85 procentigen Alkohols hinzu, wodurch noch keine Eiweissfällung bewirkt wurde, und begann dann zu titriren. Allein nun zeigte sich beim Zusatz der Tanninlösung keine oder doch nur äusserst geringe Trübung, welche erst nach längerem Stehen etwas deutlicher wurde; durch Filtriren war in keinem Fall ein klares Filtrat zu erhalten.

Auf die Erklärung dieser Erscheinung muss ich verzichten.

Versuchsreihe V.

Zeigen Kochsalz- und Salmiaklösung in ihrem Einfluss auf die Fällung des Eiweisses Differenzen?

a) Versuchsflüssigkeit III, b. Tanninl. II (1,7326 procentig). Aus einer anderen Versuchsreihe, bei der auf 50 Cc. derselben Flüssigkeit durchschnittlich 10,7 Cc. (nämlich einmal 10,9 Cc. Tanninlösung, das andere Mal 10,6 Cc.) Tanninlösung bei Zusatz von Kochsalzlösung verbraucht wurden, waren bei 4 Titirversuchen, bei denen statt Kochsalzlösung Salmiaklösung angewandt wurde, zur völligen Ausfällung des Eiweisses auf je 50 Cc. der Versuchsflüssigkeit 12,5 Cc., 14,1 Cc., 12,5 Cc. und 15 Cc. Tanninlösung erforderlich, also durchgängig mehr. Bei 6 weiteren Titirversuchen wurden auf je 50 Cc. Versuchsflüssigkeit unter sonst gleichen Umständen von der Tanninlösung verbraucht:

Bei Zusatz von Kochsalzlösung: Bei Zusatz von Salmiaklösung:

12,7 CC.	14,1 CC.
11,8	12,7
11,1	13,2

b) Beim Titiren von verschiedenen Harnen stellte sich mit wenig Ausnahmen dasselbe heraus. Bei Parallelversuchen, wo einmal Kochsalz- und im anderen Fall Salmiaklösung benutzt war, wurde unter sonst ganz gleichen Umständen an Tanninlösung verbraucht:

Bei Gegenwart von Kochsalzlösung:	Bei Gegenwart von Salmiaklösung:
13,8 CC. }	15,5 CC.
13,5 }	
13,0 }	13,9
12,8 }	
13,5 }	16,0
13,6 }	
12,3 }	14,6
5,3 }	5,0
5,6 }	

Man sieht also, dass bei Gegenwart von Kochsalzlösung fast durchgehends weniger Tanninlösung erforderlich ist, um vollständige Eiweissausfällung zu erzielen. — In der Art und Weise wie sich der Niederschlag bildet, sowie in der Schnelligkeit des Filtrirens, habe ich keine constanten, bemerkenswerthen Unterschiede wahrnehmen können, und glaube daher nicht Unrecht zu thun, wenn ich der Kochsalzlösung schon wegen des billigeren Preises in ihrer Anwendung bei derartigen Titirversuchen den Vorzug einräume.

Versuchsreihe VI.

Wie gestalten sich die Resultate, wenn Subjectivität so viel als möglich ausgeschlossen ist?

a) Zu dieser Reihe von Experimenten bereitete Professor Dragendorff eine Serum Mischung, von welcher er verschiedene Quantitäten in Bechergläser vertheilte und mir zur Untersuchung übergab, ohne dass mir die Menge bekannt war.

1 Thl. Ochsenblutserum + 10 Thle. dest. Wassers. Eiweissgehalt **0,6666** %. Tanninlösung II. (1,7326procentig.)

Nr.	Serum-mischung in Cc.	Kochsalz-lösung in Cc.	Titirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trock. Album. demnach 1 Cc. der Titirflüssigkeit entspr.	Im Mittel.
1	35	7	7,3	0,0319	} 0,0303
2	45	10	9,9	0,0303	
3	80	15	16,0	0,0333	
4	65	10	15,4 (1)	0,0277	
5	30	7	7,3	0,0274	
6	75	15	16,0	0,0312	

Demnach 1 Grm. trockenes Tannin = 1,7645 trockn. Albumin.

Was den Versuch Nr. 4 anbetrifft, so war bei demselben die erforderliche Menge Tanninlösung vielleicht um 1 CC. überschritten.

b) Eine zweite Versuchsreihe wurde in der Weise angestellt, dass eine grössere Anzahl von solchen Eiweissproben von Personen ausgeführt werden sollten, denen einmal diese

Methode ganz neu und andererseits die Mengen, die in Arbeit gegeben wurden, unbekannt waren.¹⁾ In der folgenden Tabelle sind die verschiedenen Beobachter durch die grossen lateinischen Buchstaben bezeichnet. Die drei letzten Versuche (Nr. 16 bis 18) sind von mir angestellt.

1 Theil Kuhblutserum + 9 Thle. dest. Wassers. Eiweissgehalt **0,7736** %. Tanninlösung II (1,7326 procentig).

Beobachter.	Nr.	Serum-mischung in Cc.	Kochsalz-lösung in Cc.	Titrirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trock. Alb. demnach 1 Cc. Tanninlösung entspr.	Im Mittel.
A	1	40	8	9,2	0,0336	} 0,0329
	2	35	8	7,4	0,0366	
	3	60	12	12,9	0,0359	
B	4	32	8	7,4	0,0334	
	5	83	15	20,9	0,0307	
	6	50	10	12,3	0,0314	
	7	28	5	8,2	0,0265	
	8	75	15	18,9	0,0307	
	9	25	5	8,6	0,0224	
D	10	30	10	4,4	0,0528	
	11	63	15	15,7	0,0310	
	12	38	8	7,5	0,0392	
E	13	47	10	12,1	0,0300	
	14	78	16	19,6	0,0308	
	15	22,5	15	6,1	0,0285	
F	16	45,5	10	9,8	0,0355	
	17	55	11	13,5	0,0315	
	18	36	8	8,4	0,0331	

Demnach 1 Grm. tr. Tannin = 1,8604 Grm. trock. Albumin.

Man sieht aus den vorhergehenden Tabellen, dass die Resultate im Allgemeinen wenigstens den früher gewonnenen ähnliche sind, trotzdem dass bei der ersten Gruppe von Versuchen die Eiweissmengen dem Beobachter unbekannt waren, und die zweite von Beobachtern angestellt wurde, welche zum ersten Male nach dieser Methode die quantitative Eiweissbestimmung machten.

1) Fünf zu der Zeit im pharmaceutischen Institut beschäftigte Herren hatten die Güte, auf meine Bitte sich dieser Mühe zu unterziehen, wofür ich ihnen bei dieser Gelegenheit meinen herzlichsten Dank auszusprechen mir erlaube.

Versuchsreihe VII.

Wird durch Anwendung von verschiedenen Tanninsorten ein wesentlicher Unterschied in den Resultaten bedingt?

Zu Versuchen nach dieser Richtung hin bereitete ich Titrirlösungen, welche in demselben Verhältniss zusammengesetzt waren, wie diejenigen, mit welchen ich bisher gearbeitet hatte; ich wählte 5 verschiedene Tanninsorten zur Bereitung dieser Lösungen, welche letztere ich der Kürze wegen in den folgenden Tabellen mit α , β , γ etc. bezeichnen werde. Ich muss bemerken, dass die zu den Lösungen α u. ε verwandten Tanninsorten dieselben waren, welche ich bei Bereitung der schon erwähnten Lösungen I und II benutzt hatte. — Es wurden verwandt zu den Lösungen:

α . Tannin, welches nach der Pharm. Ross. bereitet war. Die Lösung enthielt 1,7826 % trockenes Tannin.

β . Tannin, nach der Pharm. German. bereitet. Die Lösung enthielt 1,8402 % trockenes Tannin.

γ . Tannin, aus chinesischen Galläpfeln bereitet. Die Lösung enthielt 1,9164 % trockenes Tannin.

δ . Tannin, nach der Pharm. Ross. bereitet und mit Aether gereinigt. Die Lösung enthielt 1,8034 % trockenes Tannin.

ε . Eine sehr reine Tanninsorte, von Herrn Apotheker Köhler hieselbst bezogen. Die Lösung enthielt 1,7326 % trock. Tannin.

a. 1 Th. Ochsenblutserum + 2 Th. Kochsalzlösung + 7 Th. destill. Wassers. Eiweissgehalt **0,7404** %. Zu diesem Versuch wurden 100 Cc. Versuchsflüssigkeit benutzt.

Tanninlösung.	Nr.	Titirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trockenem Albumin demnach 1 Cc. der Titirflüssigkeit entspr.	Im Mittel.
α	1	19,4	0,0381	0,0381
	2	19,4	0,0381	
β	3	18,8	0,0393	0,0393
	4	18,8	0,0393	
γ	5	19,75	0,0374	0,0374
	6	19,75	0,0374	
δ	7	19,0	0,0389	0,0389
	8	19,0	0,0389	
ε	9	19,6	0,0377	0,0376
	10	18,7	0,0375	

b. Dieselbe Serumischung, wie bei a. Zu jedem Versuch wurden 50 Cc. derselben verwandt, mit Ausnahme von Nr. 19, wo 40 Cc. genommen wurden.

α	11	11,5	0,0322	0,0322
β	12	11,1	0,0333	0,0333
γ	13	10,7	0,0364	0,0338
	14	11,8	0,0313	
δ	15	11,3	0,0327	0,0327
ε	16	11,5	0,0322	0,0322
I	17	11,55	0,0320	0,0312
	18	11,2	0,0330	
	19	10,35	0,0287	

Aus a geht hervor, dass 1 Grm. trock. Tannin entspricht:

nach α: 2,1409	} Grm. trock. Albumins.
β: 2,1401	
γ: 1,9562	
δ: 2,1608	
ε: 2,1747	

Aus b geht hervor, dass 1 Grm. trock. Tannin entspricht:

nach α: 1,8058	} Grm. trock. Albumins.
β: 1,8123	
γ: 1,7179	
δ: 1,8166	
ε: 1,8579	
I: 1,7599	

In Bezug auf die genannten Tanninsorten muss ich erwähnen, dass die, aus den chinesischen Galläpfeln bereitete Sorte sich nicht ganz klar löste, und schon aus dem Grunde sich nicht zu dem vorliegenden Zweck eignete.

Im Uebrigen sieht man, dass die Differenzen zwischen den einzelnen Sorten nicht erheblicher sind, als die zwischen verschiedenen, mit einer Sorte angestellten Versuchen. Weil die Lösung ε vollkommen klar, und am hellsten gefärbt erschien, das Tannin dieser Sorte offenbar sehr rein war, so entschloss ich mich, im weiteren Verlauf meiner Untersuchungen, mich ausschliesslich dieses Tannins zu bedienen.

Unerlässlich ist es aber, welche Tanninsorte es auch sei, dass durch einige Trockenbestimmungen der wahre Tannin gehalt bestimmt werde, ehe man eine frischbereitete Lösung zum Titiren verwendet. Beiläufig erwähne ich noch, dass ich mehrmals Versuche, mit Tanninlösungen ausgeführt habe, die 1—2 Monate aufbewahrt worden, ohne gerade Differenzen in der Wirkungsweise zu beobachten.

Versuchsreihe VIII.

Bedingt eine verschiedene Zusammensetzung der Titirflüssigkeit in Bezug auf den Alkohol und die Essigsäure wesentliche Unterschiede in den Resultaten?

Um in dieser Beziehung zu experimentiren, bereitete ich 6 Lösungen, zu denen ich die schon erwähnte Tanninsorte aus der Köhler'schen Apotheke verwandte, in folgenden Mischungsverhältnissen:

- a. 2 Grm. Tannin + 40 Cc. Alkoh. (85%) mit aq. dest. auf 100 Cc. verdünnt.
 b. " " + 7,5 " acet. glac. " "
 c. " + 40 " Alkoh. + 3,5 " " "
 d. " + 20 " " + 7,5 " " " "
 e. " + 20 " " + 3,5 " " " "
 f. " " + 3,5 " " " "

A. 1 Thl. Ochsenblutserum + 9 Theile dest. Wassers Eiweissgehalt **0,7018%**. Auf 5 Theile Mischung wird 1 Thl. Kochsalz hinzugesetzt.

Welche Tanninlösung.	Nr.	Serum-mischung in Cc.	Titirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trock. Alb. demnach 1 Cc. Titirflüssigkeit entspricht.	Im Mittel.
a	1	50	10,0	0,0350	} 0,0354
b	2	50	10,5	0,0334	
c	3	50	9,5	0,0369	
	4	25	4,8	0,0365	

Demnach 1 Grm. tr. Tannin = 2,0354 Gr. tr. Tannin.

Ich muss hierzu bemerken, dass die Lösung a insofern den übrigen nachstand, als bei ihrer Anwendung das Filtrat nie vollkommen klar zu erhalten war. Bei Nr. 2 war mit 10,5 Cc. die erforderliche Menge vielleicht um einige Zehntel Cubikcentimeter überschritten.

B. 1 Theil Ochsenblutserum + 10 Theile aq. dest. Die filtrirte Mischung enthält **0,6666%** Alb. Auf 5 Theile Mischung wird 1 Theil Kochsalzlösung zugesetzt.

Welche Tanninlösung.	Nr.	Serum-mischung in Cc.	Titirflüssigkeit in Cc.	Wie viel trock. Alb. demnach 1 Cc. Titirflüssigkeit entspricht.	Im Mittel.
a	1	50	9,1	0,0366	} 0,0354
b	2	50	9,3	0,0358	
c	3	50	9,0	0,0370	
d	4	50	9,3	0,0358	
e	5	50	8,9	0,0375	
f	6	50	10,0	0,0333	
	7	50	9,9	0,0336	
II	8	50	9,8	0,0340	
	9	50	9,5	0,0351	

Demnach 1 Grm. tr. Tannin = 2,1055 Grm. tr. Alb.

Auch hier ist die Lösung a insofern schlechter, wie die übrigen, als kein ganz klares Filtrat zu erhalten ist. Die übrigen Lösungen zeigen keine wesentlichen Differenzen. Am besten arbeitet die Lösung c. — Mit der Lösung II wurden die beiden Versuche 8 und 9 angestellt.

Es geht hieraus hervor, dass die Gegenwart von einem gewissen Quantum Essigsäure erforderlich ist, um mit gutem Erfolg titiren zu können. Die Grösse dieses Quantums scheint von minder erheblicher Bedeutung zu sein.

Ich habe mich durch diese Versuche jedenfalls nicht veranlasst gesehen, bei meinen ferneren Experimenten die anfängliche Zusammensetzung der Titirflüssigkeit zu ändern.

Versuchsreihe IX.

Ist der Wirkungswerth des Tannins dem Hühnereiweiss und dem Casein gegenüber ein ähnlicher, wie dem Serumalbumin gegenüber?

A. 1 Th. Weiss vom Ei (Huhn) + 9 Th. aq. dest. filtrirt enthält **1,1796%** Alb. — Tanninlösung I (1,7826 procentig).

Nr.	Eiereiw.-mischung in Cc.	Destill. Wasser in Cc.	Kochsalz-lösung in Cc.	Titirflüssigkeit in Cc.	Wie viel tr. Alb. demn. 1 Cc. Titirflüssigkeit entspr.	Mittel aus Nr. 2 u. 5.
1	25	25	10	13,3	0,0221	} 0,0282
2	25	25	20	10,0	0,0295	
3	25	50	10	13,4	0,0220	
4	25	50	20	13,3	0,0221	
5	25	50	40	10,6	0,0270	

Demnach 1 Gr. trock. Tannin = 1,6061 Gr. trock. Hühnereiweiss.

Ich muss hier bemerken, dass ich nur die Zahlen von Nr. 2 und 5 bei den Berechnungen verwertete, weil die übrigen entschieden unrichtige Resultate lieferten, offenbar, weil zu wenig Kochsalzlösung zugegen war.

B. Abgerahmte Milch. Caseingehalt **44,6%**. Tanninlösung II (1,7826 %).

Nr.	Milch in Cc.	Destill. Wasser in Cc.	Kochsalz- lösung in Cc.	Titirfl. in Cc.	Wie viel Casein demn. 1 Cc. Titirfl. entspricht.	Im Mittel.
1	5	25	10	8,5	0,0262	} 0,0266
2	5	35	10	8,5	0,0262	
3	10	50	15	16,5	0,0270	
4	10	75	15	16,5	0,0270	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 1,5445 Grm. trock. Casein.

Wie man aus den beiden Tabellen ersieht, so ist der Wirkungswerth des Tannin dem Hühnereiweiss und Casein gegenüber ein ähnlicher, wie dem Serumalbumin gegenüber. Um dieses thatsächlich festzustellen, bedarf es natürlich einer grösseren Anzahl von Versuchen, aus denen dann auch hervorgehen würde, ob die geringen von mir gefundenen Differenzen zufällige und auf Beobachtungsfehlern beruhende, oder constante sind.

Versuchsreihe X.

Sind die Resultate, die man durch Titriren von Mischungen aus normalem Harn und Serum erhält, analog denen, die bei Mischungen von Serum mit destillirtem Wasser (vorausgesetzt, dass der Eiweissgehalt ein gleicher ist) gewinnt, d. h. stören die normalen Harnbestandtheile die Ausführung der Probe?

A. Normaler, bernsteingelber, klarer Harn (durch die gewöhnlichen Reagentien ist kein Eiweiss nachweisbar; Tannin giebt eine leichte Trübung). Serum Mischung aus Versuchsreihe II; Eiweissgehalt derselben = **0,5328** %. Tanninlösung I (1,7826 procentig).

Nr.	Serum- mischung in Cc.	Harn in Cc.	Aq. destill. in Cc.	Koch- salz- in Cc.	Tannin- in Cc.	Wie viel tr. Alb. demn. 1 Cc. Tannin- lösung entspricht.	Im Mittel.
1	25	25	—	10	4,65	0,0286	} 0,0261
2	25	25	—	—	4,65	0,0286	
3	25	100	—	—	5,7	0,0233	
4	25	100	100	—	5,6	0,0238	

Demnach 1 Grm. tr. Tannin = 1,4508 Grm. tr. Albumin.

Bei diesen 4 Versuchen sieht man, dass durch geringen Zusatz von Harn nur eine kleine Steigerung in der erforderlichen Menge von Titirflüssigkeit nothwendig wird; und dass diese Steigerung grösser wird, wenn die zugesetzte Harnquantität eine grössere wird. Wenn man aber dabei in Betracht zieht, dass der Harn an und für sich durch die Tanninlösung schon leicht getrübt wurde, so haben sich hier die Resultate gegen die früher gewonnenen nicht wesentlich geändert.

A. Kalbsblutserum in Verbindung mit verschiedenen Harnen. 10 Cc. des ersteren + 50 Cc. des einen Harns, welcher Spuren von Eiweiss zeigt, enthält **0,7338** %. Eiweiss (ohne Abzug der Asche). Es wurden ausser dem erwähnten Harn noch 3 andere normale, klare, eiweissfreie (nur Tanninlösung gab eine leichte Trübung) verwandt. Ich bezeichne sie in der folgenden Tabelle mit *a, b, c, d* (Spuren von Eiweiss). Tanninlösung I (1,7826 procentig).

Nr.	Wel- cher Harn.	Serum in Cc.	Harn in Cc.	Destill. Wasser in Cc.	Tannin- lösung in Cc.	Wie viel trock. Alb. demn. 1 Cc. Tannin- lösung entspricht.	Im Mittel.
1	} a	5	100	—	8,85	0,0414	} 0,0368
2		10	100	—	18,2	0,0403	
3	b	5	50	—	10,8	0,0339	
4	c	5	25	25	10,2	0,0359	
5	} d	5	50	—	10,6	0,0346	
6		5	25	25	10,5	0,0349	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 2,0790 Grm. trock. Alb.

Die Resultate würden sich bei diesen 6 Versuchen wohl noch mehr den früher gewonnenen nähern, wenn im vorliegenden Fall die Aschenbestimmung der Alkohol fällung gemacht worden wäre. Trotzdem dass in Folge dessen die Berechnung hier keine ganz genaue ist, hielt ich es doch nicht für überflüssig, diese Versuchsreihe hier anzuführen. — Ich muss hierbei ferner bemerken, dass die durch Tanninlösung erhaltenen Niederschläge von *a, b* und *c* röhlich waren und bei einigem Ste-

hen an der Luft eine noch dunkler rothe Färbung annahmen, während der Niederschlag von *d* grau-grünlich war. Die Filtrate von *a*, *b* und *d* waren zwar bedeutend heller gefärbt, als die entsprechenden Versuchsflüssigkeiten, aber doch nicht ganz farblos, während das Filtrat von *c* vollkommene Entfärbung zeigte. Es ist dieses wohl auf eine theilweise Mitfällung der Harnfarbstoffe zu beziehen.

C. Kalbsblutserum in Verbindung mit 6 verschiedenen Harnen. Der Harn *a* war albuminfrei, die Harnen *b*, *c*, *d*, *e*, *f* enthielten dagegen Spuren von Eiweiss (Tanninlösung gab mit allen eine leichte Trübung). *a*, *b*, *d*, *e*, *f* reagirten mehr oder weniger sauer, dagegen *c* schwach alkalisch und war ausserdem leicht getrübt. 5 Cc. des Serums enthielten **0,2805** Grm. Albumin. Tanninlösung I (1,7826 procentig).

Nr.	Welcher Harn.	Serum in Cc.	Harn in Cc.	Aq. destill. in Cc.	Kochsalz. in Cc.	Tanninlösung in Cc.	Wieviel tr. Alb. d. 1 Cc. d. Tanninl. entspricht.	Im Mittel.
1	—	5	—	25	5	9,5	0,0295	} 0,0295
2	a	5	25	—	5	9,7	0,0289	
3	b	5	25	—	5	9,2	0,0305	
4	c	5	25	—	5	9,6	0,0292	
5	d	5	25	—	5	9,7	0,0289	
6	e	5	25	—	5	9,5	0,0295	
7	f	5	25	—	5	9,2	0,0305	

Demnach 1 Grm. trock. Tannin = 1,6563 Grm. trock. Alb.

Der Niederschlag von *a* war grünlichgrau, das Filtrat farblos.
b war ebenso, das Filtrat blassgelb.
c war schmutzig-röthlich, das Filtrat ebenso
d war rein röthlich, das Filtrat farblos.
e war grünlichgrau, das Filtrat fast farblos.
f war grünlichgrau, das Filtrat hellgelbl.

Aus dieser Versuchsreihe geht gleichfalls hervor, dass mit dem Eiweiss zugleich Harnfarbstoffe gefällt werden; man wird aber zugleich wahrnehmen, dass die letzteren nur in so ge-

ringem Maasse niedergeschlagen werden, dass die Resultate dadurch keine Modificationen erleiden.

D. Kalbsblutserum von der vorigen Versuchsreihe in Verbindung mit Harnen von fünf verschiedenen Personen:

- a) Normaler, etwas trüber Harn } 18 Stunden alt.
 b) Derselbe filtrirt }
 c) Harn f. aus der vorigen Versuchsreihe (enthält Spuren von Eiweiss), 36 Stunden alt,
 d) Harn c. aus der vorigen Versuchsreihe (enthält Spuren von Eiweiss), 36 Stunden alt.
 e) Sehr diluirter Harn (nach vorhergehendem Genuss von Bier, eiweissfrei), frisch gelassen.
 f) Harn e. aus der vorigen Versuchsreihe (enthält Spuren von Eiweiss), 36 Stunden alt.
 g) Frisch glassener Harn von demselben Patienten (Spuren von Eiweiss).
 h) Frisch gelassener Harn von demselben Patienten, von dem Harn d. stammt (Spuren von Eiweiss).

5 Cc. des Serum enthalten **0,2805** Grm. Eiweiss. Tanninlösung I. (1,7826procentig.)

Welcher Harn.	Nr.	Serum in Cc.	Harn in Cc.	Kochsalz-lösung in Cc.	Tanninlösung in Cc.	Wie viel trock. Alb. demn. 1 Cc. d. Tanninlösung entspr.	Im Mittel.
a	1	5	50	—	9,1	0,0308	} 0,0288
	2	5	50	—	9,1	0,0308	
a filtrirt.	3	5	50	—	9,1	0,0308	
	4	5	50	—	9,1	0,0308	
b	5	5	50	5	9,9	0,0283	
	6	5	50	5	9,9	0,0283	
c	7	5	50	5	10,0	0,0280	
	8	5	50	5	10,0	0,0280	
d	9	5	50	5	10,1	0,0277	
	10	5	50	5	10,1	0,0277	
e	11	5	50	5	9,8	0,0286	
	12	5	50	5	9,7	0,0289	
f	13	5	50	5	10,0	0,0280	
	14	5	50	5	10,0	0,0280	
g	15	5	50	5	10,1	0,0277	
	16	5	50	5	9,8	0,0286	

Demnach 1 Grm. Tannin = 1,6155 trock. Albumin.

Der Niederschlag von a. und b. sind blassroth, die Filtrate fast farblos.

- " " c. ist blassröthlich, die Filtrate ebenso.
 " " d. „ grau, die Filtrate blassgelblich.
 " " e. „ gräulichweiss, die Filtrate farblos.
 " " f. „ grauröthlich, d. Filtrate fast farblos.
 " " g. „ gelblichgrau do. do.
 " " h. „ grau, die Filtrate gelblich.

Gestützt auf die Ergebnisse dieser Versuchsreihe kann man wohl annehmen, dass die normalen Harnbestandtheile keinen modificirenden Einfluss auf die Art und Weise der Fällung des Eiweisses durch Tannin ausüben.

Versuchsreihe XI.

Eignet sich die oft erwähnte Tanninlösung zur quantitativen Bestimmung des Eiweisses in pathologischem Harn auf dem Wege des Titrirens?

Ich habe leider nur Gelegenheit gehabt, von 5 Patienten eiweisshaltigen Harn zu untersuchen, den Harn eines derselben freilich zweimal. Die Resultate bei diesen Versuchen sind so sehr verschieden, dass sie ein Beweis dafür sind, dass bei pathologischem Harn noch andere Faktoren in Betracht kommen können, welche sich vorläufig noch unserer Beurtheilung entziehen.

Ich setze im Folgenden die einzelnen Versuche der Reihe nach her, wie sie gemacht wurden, ohne sie in tabellarische Form zu bringen.

A. Trüber, saurer, bernsteingelber Harn, ziemlich reichlich Schleimwolken enthaltend; spec. Gewicht 1010. (Der Harn ist von einer Patientin gelassen, welche sehr anämisch war, und ausser einigen subjektiven Beschwerden nichts Bemerkenswerthes darbot.) Der Harn wird in zwei Portionen a und b getheilt, von welchen die zweite filtrirt wird.

a. Eiweissgehalt **0,0836** %. Tanninl. II (1,7326 procentig).

{ 100 Cc. + 20 Cc. Kochsalzl. verbrauchen 13,8 Cc. Tanninl.
 { 100 „ + 20 „ „ „ 13,5 „ „
 Demnach entspr. 1 Cc. Tanninl. 0,0061 Grm. trock. Alb. und ferner 1 Grm. trock. Tannin = 0,2924 Grm. tr. Alb.

b. Eiweissgehalt **0,0884** %.

{ 100 Cc. + 20 Cc. Kochsalzl. verbrauchen 13,0 Cc. Tanninl.
 { 100 „ + 20 „ „ „ 13,0 „ „
 Demnach entspr. 1 Cc. Tanninl. 0,0068 Grm. trock. Alb. und ferner 1 Grm. tr. Tannin = 0,3955 Grm. tr. Alb.

B. Harn von derselben Patientin. Beschaffenheit im Allgemeinen dieselbe. Spec. Gew. 1,008. Der Harn wird in zwei Portionen a und b getheilt, und b filtrirt.

a. Eiweissgehalt **0,1084** %. Tanninlösung II (1,7326 %ig.)

{ 100 Cc. Harn + 20 Cc. Kochsalzl. verbr. 13,5 Cc. Tanninl.
 { „ „ „ „ 13,6 „ „
 Demnach entspr. 1 Cc. Tanninl. 0,0080 trock. Alb. und ferner 1 Grm. tr. Tannin = 0,4617 Grm. tr. Alb.

b. Eiweissgehalt **0,1086** %. Tanninlösung II (1,7326 %ig).
 100 Cc. Harn + 20 Cc. Kochsalzl. verbr. 12,3 Cc. Tanninl.
 Demnach entspr. 1 Cc. Tanninl. 0,0088 tr. Alb. und ferner 1 Grm. tr. Alb. = 0,5096 tr. Alb.

C. Braunrother, trüber, stark saurer Harn von einem an Stricturea oesophagi (Carcinoma?) leidenden Patienten. Spec. Gew. 1026. Der Harn wurde filtrirt. Eiweissgehalt **0,4876** %. Tanninlösung II (1,7326 procentig).

{ 50 Cc. Harn + 5 Cc. Kochsalzl. verbr. 5,3 Cc. Tanninlösung.
 { 50 „ „ „ 5,0 „ „
 Demnach entspr. 1 Cc. Tanninl. 0,0473 Grm. tr. Alb. u. ferner 1 Grm. tr. Tannin 2,7754 Grm. tr. Alb.

D. Strohgelber etwas trüber, saurer Harn von einem an morbus Brightii leidenden Patienten. Spec. Gew. 1,035. Der Harn wird in zwei Portionen a und b getheilt, und b filtrirt. Tanninlösung II (1,7326 procentig).

a) Eiweissgehalt **0,0848** %.

{ 100 CC. + 20 CC. Kochsalzlösung verbrauchen 4,2 CC. Tanninl.
 { " " " " " 3,9 "

Demnach entspricht 1 CC. Tanninl. 0,0207 CC. trockenen Albumins und ferner 1 Grm. tr. Tannin 1,1970 Grm. tr. Alb.

b) Eiweissgehalt **0,1044** %.

{ 100 CC. Harn + 20 CC. Kochsalzlösung verbrauchen 4,0 CC. TL.
 { " " " " " 4,2 "

Demnach entspricht 1 CC. Tanninlösung 0,0254 Grm. tr. Albumin und ferner 1 Grm. tr. Tannin 1,4696 Grm. tr. Alb.

E. Braunrother, klarer, stark saurer Harn von einem an Morb. Brightii leidenden Patienten. Spec. Gewicht 1,014. Eiweissgehalt **0,1619** %. Tanninlösung II. (1,7326procentig.)

{ 50 CC. Harn + 10 CC. Kochsalzlösung verbrauchen 7,4 CC. TL.
 { 25 " " " " " 3,5 "

Demnach entspricht 1 CC. Tanninl. 0,0112 Grm. trocken. Alb. und ferner 1 Grm. tr. Tannin 0,6488 Grm. tr. Albumin.

F. Bernsteinengelber, saurer, etwas trüber Harn von einem an Morb. Brightii leidenden Patienten. Spec. Gewicht 1,024. Eiweissgehalt **0,0616** %. Dieselbe Tanninlösung.

{ 100 CC. Harn + 20 CC. Kochsalzlösung verbrauch. 3,2 CC. TL.
 { 50 " " " " " 1,7 "

Demnach entspricht 1 CC. Tanninl. 0,0187 Grm. tr. Alb. und ferner 1 Grm. tr. Tannin 1,0773 Grm. tr. Alb.

Aus dieser Versuchsreihe ergibt sich, dass vorläufig Tanninlösungen zum Titriren der im Harn vorkommenden eiweissartigen Körper nicht geeignet sind.

Den Grund dafür, dass die Wirkungsweise in verschiedenen eiweisshaltigen Harnen eine so verschiedene ist, zu ermitteln, ist mir, wie schon in der Einleitung bemerkt, durch äussere Verhältnisse, welche mich zwangen, meine Arbeiten zu beendigen, nicht möglich geworden. Ich vermuthe aber, dass das Serumeiweiss beim Uebergange in den Harn seine Eigenschaften zum Theil wenigstens verändert, und in Folge dessen vielleicht

auch das Verhältniss, in welchem es sich mit dem Tannin verbindet ein wesentlich anderes wird; ich erlaube mir bei dieser Gelegenheit daran zu erinnern, dass die Gegenwart normaler Harnbestandtheile das Verhältniss, in welchem sich Serumeiweiss mit Tannin verbindet, nicht erheblich modificirt.

Versuchsreihe XII.

Lässt sich aus dem Gewicht der bei einer Reihe von Parallelversuchen erhaltenen Niederschläge ein constantes Verhältniss nachweisen, aus welchem man auf die Zusammensetzung des Niederschlages schliessen könnte?

Um mir in dieser Hinsicht Aufschluss zu verschaffen, stellte ich 21 Versuche in folgender Weise an: nachdem durch einen Titirversuch sich ergeben hatte, wie viel Tanninlösung erforderlich war, um alles Eiweiss in einer bestimmten Menge Versuchsflüssigkeit zu fällen, so fügte ich zu einer anderen gleich grossen Menge von Versuchsflüssigkeit die ermittelte Quantität Tanninlösung, liess das Gemisch 3—4 St. stehen und filtrirte dann (in einem Fall nahm ich die Filtration gleich nach geschehener Fällung vor; das Wägungsergebniss war aber bedeutend niedriger, und die Filtration ging viel langsamer von Statuten, als bei den übrigen Versuchen). Die Filtration ging Anfangs in der Regel sehr schnell vor sich, wurde aber etwas langsamer, wenn das Auswaschen des Niederschlags begann. Ich bediente mich zum Auswaschen einer Mischung von 85 procentigem Alkohol mit destillirtem Wasser (1 : 3). In den meisten Fällen trübte sich das Filtrat, sobald die Waschflüssigkeit durchzulaufen begann, und wenn diese Trübung so stark wurde, dass sich im Filtrat abermals ein Niederschlag bildete, so unterwarf ich dasselbe einer zweiten Filtration und summirte die beiden Rückstände. — Ausserdem muss ich bemerken, dass während des Auswaschens bei längerer Einwirkung der atmosphärischen Luft die Anfangs nur schwach gefärbten Niederschläge allmählig dunkler wurden, mitunter sogar eine ziemlich dunkelbräunlich-violette Färbung annahmen.

Ich verglich dann die auf dem Wege der Rechnung gefundene Zahl (in der Versuchsflüssigkeit enthaltenes Eiweiss + dem in der verbrauchten Titirflüssigkeit enthaltenen trockenen Tannin) mit dem durch Wägung erhaltenen Resultat, ohne ein einziges Mal eine Uebereinstimmung zu finden. Auch ein einigermassen constantes Verhältniss stellte sich auf diesem Wege nicht heraus.

Beispielsweise führe ich einige dieser Ergebnisse an :

Durch Rechnung:	Durch Wägung:	Eiweissgehalt des Niederschlags:
1,0639 Grm.	0,5936 Grm.	0,5898 Grm.
0,2116	0,1606	0,1332
0,3117	0,1964	0,1974
0,5380	0,4473	0,3509
0,4892	0,3499	0,3333

Durch Wägung erhielt ich ohne Ausnahme mehr oder weniger niedrigere Resultate, als durch Rechnung, und glaube ich, das dem Umstande zuschreiben zu müssen, dass durch das Waschwasser ein Theil des Niederschlags wiederum gelöst wurde; dieser wieder in Lösung übergehende Theil ist, nach den Zahlen der dritten Columne zu urtheilen, wohl hauptsächlich auf Tannin zu beziehen.

Da mir die Zeit es nicht gestattete, die Constitution und Eigenschaften der erwähnten Niederschläge einer genaueren Untersuchung zu unterwerfen, so muss ich in dieser Beziehung mit der Erfahrung mich begnügen, dass die Verbindung, welche das Tannin mit dem Eiweiss eingeht, eine in alkoholischem Wasser theilweise lösliche und im Uebrigen ziemlich unbeständige ist, wie die Veränderung an der Luft beweist.

Wenn ich die Resultate meiner Arbeiten in gedrängtester Kürze zusammenfasse, so sind es etwa folgende:

1. Sowohl die Scherer'sche als auch die Berzelius'sche Methode geben zu niedrige Resultate, und zwar hauptsächlich

aus dem Grunde, weil bei ihnen gewisse Eiweissmodifikationen sich der Bestimmung entziehen können.

2. Gegenwart von Salzen und gewissen Säuren, (in Bezug auf ihre Quantität innerhalb bestimmter und zwar nicht sehr enger Grenzen) hindert die Fällung des durch Kochen überhaupt fällbaren Eiweisses in keiner Weise, sondern ist sogar nothwendige Bedingung zum Zustandekommen einer möglichst vollständigen Fällung.

3. Die Methode der Fällung durch Alkohol giebt gegenwärtig noch die genauesten Resultate.

4. Die Haebler'sche Methode ist ihrer zu grossen Ungenauigkeit wegen nicht brauchbar.

5. Die Hoppe - Seyler'sche Methode der Bestimmung mittelst des Polarisationsapparats, ist gleichfalls nicht wohl anwendbar, weil einmal der spezifische Drehungswinkel für Eiweiss nach Controlversuchen der Scherer'schen und Berzelius'schen Methoden berechnet ist; und weil andererseits es höchst wahrscheinlich ist, dass im Harn verschiedene Eiweissmodifikationen mit verschiedenem spezifischem Drehungsvermögen neben einander vorkommen können.

6. Die Anwendung der Méhuschen Methode ist zu verwerfen, weil die Filtration bei ihr zu lange dauert, und schliesslich die Resultate doch viel zu grosse Fehler zeigen.

7. Das reine Serumalbumin, wie es aus dem Blut gewonnen wird, ferner das Casein der Milch und das Hühnereiweiss, scheinen mit dem Tannin unter einem bestimmten Verhältniss eine Verbindung einzugehen; bei diesen Eiweissformen ist es möglich durch Titriren mit Tanninlösung den Eiweissgehalt nahezu richtig zu bestimmen. Die Gründe, welche die Anwendung dieser Titrimethode auf eiweisshaltigen Harn vorläufig noch unmöglich machen, basiren auf noch unbekanntem Thatsachen.

Thesen.

1. So lange kein helleres Licht auf die Constitution der Eiweisskörper und -verbindungen fällt, ist auf keine Methode der quantitativen Eiweissbestimmung zu hoffen, welche allen Ansprüchen genügen könnte.
2. Eiweisskörper kommen physiologisch im Harn vor.
3. Um Neigungen und Beugungen des Uterus zu diagnosticiren, bedarf es keiner Sondenuntersuchung.
4. Die Verordnung von Arzneimitteln, ut aliquid habeat, ist einerseits an und für sich nicht zu billigen, andererseits aber auch nicht zweckentsprechend.
5. Gegen die bei Schussverletzungen in späteren Stadien häufig auftretenden Phlegmonen sind nasse Einwickelungen mit Erfolg anzuwenden.
6. Häufiger Genuss von Alkohol in kleinen Dosen und in der gehörigen Verdünnung ist der Gesundheit nicht nachtheilig.

Sinnstörende Druckfehler.

Seite 25, Zeile 3 von unten: 0,9208 st. 9,9208.

„ 45, „ 19 von oben: III zu II steht, wenn II st.
IV zu III steht, wenn III.