

Eine Methode zur maassanalytischen Bestimmung der Harnsäure im Harne.

Von

Dr. Friedrich Czapek, k. k. Stabsarzt d. R.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität zu Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Die Bestimmungsweise, welche ich im Folgenden beschreibe, ist, wie die von Haycraft, eine indirecte. Sie giebt, wie die Haycraft'sche Methode, gegenüber der directen Harnsäurebestimmung nach Ludwig etwas zu hohe Werthe, ungefähr um ebenso viel zu hohe, wie die Haycraft'sche. Sie unterscheidet sich aber von dieser dadurch, dass im Gegensatz zu Haycraft, welcher die Menge des im Silberniederschlage des ammoniakalisch gemachten Harnes enthaltenen Silbers titirt, ich den in Lösung verbliebenen Rest einer zum Füllen der Harnsäure verwendeten bekannten Silbermenge maassanalytisch bestimme.

Vor dem Haycraft'schen Verfahren hat das meine den Vorzug grösserer Einfachheit in der Ausführung, insofern, als ohne Mithilfe der Saugpumpe filtrirt und der Niederschlag nicht ausgewaschen wird.

An Reagentien braucht man:

1. Eine Zehntel-Normal-Silberlösung. Dieselbe wird bereitet durch Auflösen von 17 gr. reinen, geschmolzenen Silbernitrats zum Liter; oder durch Titriren auf eine Zehntel-Normal-Chlornatriumlösung. Letztere erhält man, wenn man

10,1 ccm. kalt gesättigter Steinsalzlösung auf 550 ccm. verdünnt. Man titirt mit der Silberlösung in die Salzlösung.

2. Magnesia-Mischung von der Concentration, wie sie Ludwig für seine Methode der Harnsäurebestimmung vorschreibt. (Mit 100 gr. Chlormagnesium im Liter.)

3. Schwefelkalium-(oder Schwefelnatrium-) Lösung, welche aus der Ludwig'schen Lösung durch Verdünnen auf's zehnfache Volum hergestellt werden kann. Die Ludwig'sche Lösung enthält im Liter eine 15 gr. Kaliumhydrat oder 10 gr. Natriumhydrat entsprechende Menge Sulhydrat. Diese Lösung dient zum Zurücktitriren des Silbers. Da sie sich in Berührung mit Luft zersetzt, ihr Titre daher leicht zurückgeht, so bewahrt man sie in ganz vollen, mit Kautschukpfropfen gut verschlossenen Fläschchen auf; die unverdünnte Lösung in Fläschchen zu 100 ccm., die verdünnte in solchen zu 200 ccm. oder grösseren. Es ist nicht vortheilhaft, den Rest einer angebrochenen Flasche nach Tagen noch zu benützen.

4. Bleipapier. Weisses Filtrirpapier wird mit einer Bleiacetatlösung getränkt, an der Luft getrocknet und in Streifen geschnitten unter Verschluss aufbewahrt.

Das Verfahren wird in folgender Weise ausgeführt:

Man misst zunächst in einem Maass-Cylinder von wenigstens 300 ccm. Fassungsraum 150 ccm. Harn ab.

Enthält der Harn ein Uratsediment, so ist dieses vorher zur Lösung zu bringen, entweder durch schwaches Erwärmen der ganzen zur Verfügung stehenden Harnmenge, oder durch Zusatz von etwas Natronlauge. Ist im letzteren Falle ein Phosphatsediment entstanden, so säuert man den Harn, nachdem sich die Harnsäure gelöst hat, wieder mit Salzsäure schwach an.

Eiweisshaltigen Harn hat man vom Eiweiss zu befreien. Man säuert eine grössere Menge Harn passend an, kocht auf, stellt nach dem Erkalten das ursprüngliche Gewicht oder Volumen durch Zusatz von Wasser wieder her, filtrirt und misst vom Filtrate 150 ccm. ab.

Man lässt sodann aus einer Burette genau 18 ccm. der Zehntel-Normal-Silberlösung in ein kleines Becherglas fliessen,

setzt 30 cbem. eines 20procentigen Ammoniaks, oder die entsprechende Menge eines verdünnteren, und 15 cbem. Magnesia-mischung zu und mischt durch Umrühren. Obwohl man auch mit weniger, unter Umständen sogar mit der halben Menge Ammoniak auskäme, so ist dennoch die Menge auf 30 cbem. festgesetzt worden, um auf jeden Fall sicher zu sein, dass sich alle in Ammoniak löslichen Silberverbindungen auch wirklich in Lösung befinden.

Enthält die Magnesiamischung zu wenig Salmiak, so entsteht dabei ein flockiger Niederschlag von Magnesiumhydrat, durch den man sich nicht weiter beirren lässt.

Die Silberlösung wird hierauf ohne Verlust zu dem Harn in den Cylinder gegossen, das Becherglas mehrere Male mit Wasser nachgespült und das gesammte Volum auf 300 cbem. gebracht. Man schüttelt um und filtrirt durch ein grosses Faltenfilter bei bedeckt gehaltenem Trichter in einen Kolben.

Im Filtrate hat man nun das noch in Lösung befindliche Silber durch die Sulfhydratlösung zu titriren und den Titre der Schwefelalkalilösung auf die Silberlösung festzustellen. Es ist also so lange von der Sulfhydratlösung hinzuzufügen, bis sich die ersten Spuren des Ueberschusses nachweisen lassen.

Mit dem Tüpfelverfahren, das ich zuerst versuchte, kommt man dabei nicht zu Stande, namentlich deshalb nicht, weil sich der Schwefelsilberniederschlag in der Kälte schlecht absetzt. Dagegen habe ich mit Vortheil eine Methode benützt, welche mir von Herrn Professor Huppert vorgeschlagen wurde. Das überschüssige Schwefelalkali muss sich nämlich mit dem Ammoniak zu Schwefelammonium umsetzen, und dieses lässt sich im Dampfe der siedenden Flüssigkeit nachweisen.

Bei der Titrirung des Silber-Restes im Harnfiltrate wurde daher in folgender Weise vorgegangen:

In ein Kölbchen von 100—150 cbem. Fassungsraum wurden mit der Pipette 50 cbem. des Harnfiltrats abgemessen, Schwefelalkalilösung aus einer Burette zufließen gelassen, das Kölbchen mit einem Kork verschlossen, in dessen Bohrung

ein kurzes, ungefähr 5 mm. weites Glasrohr eingesetzt war, und die Flüssigkeit zum gelinden Sieden erhitzt, wobei das Kölbchen schräg gelagert wurde. Einen Ueberschuss an Sulphydrat erkennt man an der Bräunung des befeuchteten, in den Dampfstrom gehaltenen Bleipapiers; ist nur wenig Sulphydrat überschüssig, so wird die Bräunung nur allmählig sichtbar.

Die Bräunung des Bleipapiers ist auch bei künstlicher Beleuchtung gut zu erkennen, so dass sich die Bestimmung auch abends anstandslos ausführen lässt. Man nimmt die Bräunung am besten wahr, wenn man den Streifen auf ein Blatt weisses Papier legt.

Kocht man das Harnfiltrat einige Zeit für sich, so fällt ein schwarzer Silberniederschlag aus¹⁾; daraus folgt, dass sich beim längeren Kochen während des Titirens ein Theil des Silberrestes der Bestimmung entzieht, und dass nur diejenige Titirung richtig ist, bei welcher die zum Ausfällen des Silbers erforderliche Menge des Sulphydrats sogleich, bei einmaligem Zusatz, wenigstens bis auf ein paar Zehntel-Cubikcentimeter getroffen ist.

Die erste Titirung kann also nur eine approximative sein.

Es hat sich als praktisch ergeben, dass man zuerst 5 ccm. der Sulphydratlösung zusetzt und dann immer 0,5 ccm. auf einmal, bis die Endreaction deutlich eintritt. Dann wiederholt man den Versuch, indem man sogleich diejenige maximale Menge des Reagens zusetzt, bei der die Reaction noch nicht erfolgte, und dann mit Zehntel-Cubikcentimetern aus-titirt. Endlich verwendet man bei einem dritten Versuche gerade soviel der Lösung, bei welcher zuletzt die Endreaction eintrat. Es stimmen dann die beiden letzten Titirungen entweder genau überein, oder es fehlen bei der letzten noch 0,1, höchstens 0,2 ccm. Selbstverständlich kann man die Be-

¹⁾ Der Niederschlag besteht, nach seinem Verhalten gegen Cyan-kalium, aus metallischem Silber, dem etwas Schwefelsilber beigegeben ist. — Selbst bei mehrstündigem Stehen des Filtrats bei Zimmertemperatur bleibt alles Silber in Lösung und man findet beim Titiren nach mehreren Stunden dieselbe Menge Harnsäure, wie sofort nach dem Filtriren.

stimmung durch nochmalige Wiederholung controliren; das Filtrat reicht für fünf Titrirungen aus.

Die Endreaction soll selbstverständlich nur schwach, jedoch immerhin deutlich erkennbar sein. Man hat vor Allem darauf zu achten, dass die Wand des Kölbchens nicht im Geringsten mit der Sulphydratlösung benetzt sei. Schon wenn von einem direct in die Flüssigkeit fallenden Tropfen des Reagens ein Theil durch Zurückschleudern an die Wand des Gefäßes gespritzt ist, tritt sofort eine starke Endreaction ein. Gläubt man die Endreaction erreicht zu haben, so spült man die Wand des Kölbchens, die Innenseite des Stöpsels und das Glasrohr noch einmal mit Wasser ab und kocht nochmals auf. Häufig bräunt sich dann, wenn wirklich zu Ende titirt war, das Bleipapier nochmals, sicher aber, wenn man noch einen Tropfen Reagens zusetzt.

Ebenso verfährt man bei der Titerstellung. Man misst genau 10 cbem. der Zehntel-Normal-Silberlösung in das Kölbchen, übersättigt stark mit Ammoniak und titirt mit der Sulphydratlösung bis zur Endreaction. Nur der Unterschied findet statt, dass die Silberlösung auch bei längerem Kochen von selbst kein Silber abscheidet, wie dies beim Harnfiltrate der Fall ist. Von einer nach der oben gegebenen Vorschrift bereiteten Schwefelkaliumlösung, welche sich durch Zutritt von Luft noch nicht zersetzt hat, braucht man ungefähr 30 cbem., etwas mehr oder weniger, bis zur Endreaction. Man kann also mit 29,0 oder 29,5 cbem. beginnen. Selbstverständlich controlirt man die erste Bestimmung. Die Anzahl der verbrauchten cbem. der Sulphydratlösung ist der Titre derselben.

Hat man den Titre einmal festgestellt, so lässt sich mit derselben Sulphydratlösung eine ganze Reihe Harnsäure-Bestimmungen hinter einander in kurzer Zeit ausführen.

Die Berechnung der Analyse gestaltet sich einfach. Wenn man den Harnsäuregehalt für 100 cbem. Harn erfahren will, so berechnet man sich mit dem ermittelten Titre der Sulphydratlösung — er sei hier 35,0 cbem. —, wie viel cbem.

Sulfhydrat zur Fällung von 12 cbem. der Zehntel-Normal-Silberlösung erforderlich wären; denn auf 150 cbem. Harn sind 18, auf 100 cbem. Harn demnach 12 cbem. Silberlösung zugesetzt worden. Im vorliegenden Fall würden auf 12 cbem. Silberlösung also 42 cbem. Sulfhydratlösung kommen.

Man hat ferner eine bestimmte Anzahl cbem. der Sulfhydratlösung verbraucht zum Ausfällen des in 50 cbem. Harnfiltrats noch enthaltenen Silberrestes — es seien dies hier 8,9 cbem. gewesen. In 50 cbem. Harnfiltrat sind aber 25 cbem. Harn enthalten. Man erfährt also die Sulfhydratmenge, welche zum Fällen des Silbers in 100 cbem. Harn erforderlich ist, durch Multipliciren der für 50 cbem. Filtrat verbrauchten Menge mit 4. Zieht man dies Product — hier $4 \times 8,9 = 35,6$ — von der für 12 cbem. Silberlösung erforderliche Sulfhydratmenge — 42,0 — ab, so bekommt man die Anzahl cbem. Sulfhydratlösung, welche die im Niederschlage enthaltene Silbermenge binden würde: $42,0 - 35,6 = 6,4$ cbem.

Der Titre der Sulfhydratlösung ist auf 10 cbem. Zehntel-Normal-Silberlösung gestellt worden. Es sind aber 10 cbem. Zehntel-Normallösung so viel wie 1 cbem. Normallösung. Da nun das ausfallende Urat nur Ein Atom Silber enthält und das Molekulargewicht der Harnsäure 168 ist, so entsprechen die 10 cbem. der Zehntel-Normallösung, oder was dasselbe ist, der Titre der Sulfhydratlösung entspricht 168 mgr. Harnsäure. In unserem Falle würde ein Verbrauch von 35 cbem. der Sulfhydratlösung 168 mgr. Harnsäure anzeigen. Man hat nun noch zu berechnen, wie viel 1 cbem. der Sulfhydratlösung mgr. Harnsäure entspricht, indem man mit dem Titre der Lösung in 168 dividirt und mit diesem Quotienten die Anzahl cbem. der Sulfhydratlösung multiplicirt, die für das Rücktitriren des in 100 cbem. Harnfiltrat enthaltenen Silberrestes erforderlich waren. Für das gewählte Beispiel also:

$$6,4 \times \frac{168}{35} = 30,72. \text{ Es sind somit in 100 cbem. } 30,7 \text{ mgr.}$$

Harnsäure gefunden worden.

Bezeichnet man mit N den Titre der Sulfhydratlösung (für 10 cbem. Zehntel-Normal-Silberlösung) und mit n die Zahl der cbem. Sulfhydrat-

lösung, welche für 50 ccm. Harnfiltrat weniger verbraucht wurden, als die darin enthaltenen 3 ccm. Silberlösung für sich verbraucht hätten, so gelangt man mittelst der Formel

$$\frac{4 \times 0,168 \cdot n}{N} = \frac{0,672 \cdot n}{N}$$

zum gleichen Resultate.

Die Methode wurde zunächst mit Harnsäure-Lösungen geprüft.

1. Es wurde käufliche, durch Lösen in Schwefelsäure und Fällen durch Wasser einigermaßen gereinigte Harnsäure in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Natriumphosphat versetzt und in abgemessenen Mengen die Harnsäure einerseits nach Ludwig bestimmt, andererseits titirt.

Zwei Bestimmungen nach Ludwig ergaben im Mittel für 100 ccm. 121,45 mgr., durch Titiren wurde 120,45 mgr. gefunden. Ferner ergab in einer anderen Lösung die gewichtsanalytische Bestimmung im Mittel 36,2 mgr. für 100 ccm., die Titirung 36,14 mgr. Bei der Titirung wurde ein Tropfen (0,05 ccm.) Sulphydratlösung, als für die Endreaction verbraucht, in Abzug gebracht.

2. Ein anderer Versuch wurde mit Harnsäure vorgenommen, die durch Umkrystalliren als Sulfat rein erhalten worden war. Die Harnsäure wurde durch Wasser abgeschieden und säurefrei gewaschen.

Von dem bei 100° getrockneten Präparate wurde eine Lösung von bekanntem Gehalt mittelst Natronlauge unter Zusatz von Natriumphosphat hergestellt. Von 100 mgr. in Lösung befindlicher Harnsäure wurden wieder gefunden nach Ludwig 99,0, durch Titiren 98,9; ferner statt 30 mgr. nach Ludwig 29,95, durch Titiren 30,15 mgr.

Diese Versuche beweisen, dass die Methode auf Harnsäure allein angewandt, so gute Resultate liefert, als die directe Bestimmung nach Ludwig.

Anders sind die vergleichenden Bestimmungen beim Harne ausgefallen, wie die nachfolgende Tabelle zeigt:

No.	In 100 ccm. Harn mgr. Harnsäure		Differenz	
	gewogen.	titirt.	mgr.	Procente.
a 1	7,1	9,2	+ 2,1	29,6
a 2	15,2	18,8	+ 3,6	23,6
b 3	16,2	18,5	+ 2,3	14,2
c 4	18,8	15,5	- 3,3	—
d 5	22,2	21,7	- 0,5	—
e 6	31,4	35,2	+ 3,8	12,1
b 7	33,2	37,9	+ 4,7	14,2
c 8	36,9	38,5	+ 1,6	4,3
9	37,8	42,1	+ 4,3	11,4
10	40,8	40,2	- 0,6	—
11	41,0	45,2	+ 4,2	10,2
12	44,2	48,3	+ 4,1	9,3
13	45,4	51,8	+ 6,4	14,1
14	92,0	109,8	+ 17,8	19,3
d 15	103,3	126,4	+ 23,1	22,4
16	109,3	122,2	+ 12,9	11,8
e 17	112,4	116,2	+ 3,8	3,4

Mit Ausnahme von No. 15 und 16 waren alle Harn normale Harn; diese zwei jedoch Fieberharn mit einer Spur von Eiweiss. Von den mit gleichen Buchstaben bezeichneten Harnen ist der verdünntere aus dem concentrirteren durch Zusatz von Wasser hergestellt worden. Die Bestimmungen nach Ludwig sind paarweise ausgeführt worden; die Tabelle giebt das Mittel beider.

In den meisten Fällen, in 14 von 17, wurde durch die Titrirung mehr Harnsäure gefunden, als durch die Wägung. Letztere ergab im Mittel aller Bestimmungen 47,5 mgr., die Titrirung 52,8 mgr.; also 5,3 mgr. oder 10% der gewogenen Harnsäure mehr. Bei den ersten 13 dünneren Harnen betragen die Mittel 30,0 und 32,5 mgr., der Ueberschuss beläuft sich hier nur auf 2,5 mgr. oder 8,3%; bei den letzten 4 concentrirten Harnen machen die Mittel 104,2 und 118,6 mgr. aus; die Differenz 14,4 mgr. oder 14,2%.

Lässt man bei den dünneren Harnen die drei Fälle weg, bei welchen durch Titrirung weniger Harnsäure gefunden wurde, als durch Wägung, so ist der Ueberschuss in Procenten ebenso gross wie bei den concentrirten Harnen.

Die Differenzen zwischen Titrirung und Wägung lassen sich auf mehrere Ursachen zurückführen.

Nach Ludwig's eigener Angabe entgehen von abgewogenen Mengen Harnsäure ungefähr 2% der Bestimmung nach seiner Methode. Dieser Verlust findet nur zum Theil bei der Verarbeitung des Harnsäure-Niederschlags statt und würde bei der Titrirung als Ueberschuss erscheinen.

Ein anderer Fehler liegt darin, dass der Urat- und Phosphat-Niederschlag beim Messen der Flüssigkeiten unberücksichtigt geblieben ist, während doch das Volum der Gesamtlüssigkeit um das Volumen des Niederschlags kleiner war. Der Fehler ist aber gleichfalls nur geringfügig. Die titrirten 32,5 mgr. Harnsäure hätten in 92,3 ccm., statt, wie gerechnet wurde, in 100 ccm. enthalten sein müssen, wenn der Wägung entsprechend nur 30,0 mgr. hätten gefunden werden sollen. Der gesammte Niederschlag hätte also ein Volum von 7,7 ccm. ausmachen müssen. Setzt man die Dichte des Niederschlags bloss = 1, was entschieden zu niedrig ist, so hätte der Niederschlag aus 100 ccm. Harn 7,7 gr. gewogen. Aber erst die Tagesmenge des Harns liefert bei 2 gr. P_2O_5 7 gr. an Tripelphosphat.

Weit bedeutender sind die in der Ausführung der Methode selber gelegenen Fehler; sie sind dreierlei Art: solche, welche begangen wurden beim Abmessen der Flüssigkeiten im Cylinder und beim Abmessen der Silberlösung, ferner bei der Bestimmung der Harnsäure nach Ludwig und der maassanalytischen Bestimmung. Welche Höhe sie in Summa erreichten, ergibt sich aus der Vergleichung der Befunde bei je zwei gleichartigen Harnen, von denen der eine aus dem andern durch Verdünnen hergestellt wird. Nur einmal (bei Fall b) war der Unterschied zwischen Wägung und Titrirung gleich (14,2%), einmal (Fall a) lagen die Differenzen noch nahe bei einander (29,6 und 23,6%), in den anderen Fällen waren sie jedoch bedeutend.

Wie viel von dem Gesamtfehler auf jede einzelne Operation entfällt, lässt sich nicht sicher nachweisen. Die Wägungs-Paare differirten in der Regel zwischen 0,1 und 0,5 mgr.; es traten aber auch ausnahmsweise Abweichungen bis zu 2,6 mgr. auf. Noch weit mehr kann bei der Titrirung gefehlt werden. Beträgt der Titre der Silberlösung 30, so zeigt 0,1 ccm. 0,56 mgr. Harnsäure an. Der Fehler, den man bei der Titrirung des Filtrats macht, wird mit 4 multiplicirt in Rechnung gebracht. Irrt man sich um 0,1 ccm. der Sulphydratlösung, so begeht man in der Harnsäure-Bestimmung einen Fehler von $4 \times 0,56 = 2,24$ mgr. Harnsäure.

Bei der Titrirung wird man nun allerdings viel eher zu viel von der Sulphydratlösung verbrauchen, als zu wenig; der Silberrest wird grösser und die Mengen der gefällten Harnsäure kleiner erscheinen, als

sie sind. Nun liegen aber die Differenzen zumeist auf der positiven Seite und daraus ist ersichtlich, dass alle die aufgezählten Fehler nicht ausreichen, um das Plus der Titrirung zu erklären. Ja, da sich auch bei der Haycraft'schen Methode der Niederschlag silberreicher erweist, als der gefällten Harnsäure entspricht, so ist die Abweichung noch in anderen unbekanntem Umständen begründet, die sich hier sowohl als bei der Haycraft'schen Methode in gleicher Weise geltend machen.

Am nächsten liegt es, daran zu denken, dass durch die ammoniakalische Silberlösung ausser der Harnsäure noch andere Substanzen gefällt werden, deren Silberverbindungen, so wie die der Xanthinkörper, in Ammoniak unlöslich sind. Welche das sind, lässt sich nicht sofort erkennen. Die Xanthinkörper sind sicher dabei theilhaftig; sie treten aber im Harne in so geringen Mengen auf, dass sich aus ihrer Gegenwart allein eine mittlere Differenz von 10% nicht wohl erklären lässt. Es scheinen noch andere, unbekanntere Verbindungen hiebei mitbetheiligt zu sein.

Ausser dieser Möglichkeit läge aber noch eine andere vor, den stärkeren Silbergehalt des Niederschlages zu erklären. Es könnte ja sein, dass die Harnsäure mehr als 1 Atom Silber bände. Wenn sich diese Vermuthung auch chemischer Seits rechtfertigen liesse, so ist sie doch darum zurückzuweisen, weil die Titrirung der reinen Harnsäure zu richtigen Werthen geführt hat. Die Ursache der Differenz ist also nicht in der Harnsäure, sondern im Harne zu suchen.

Wenn es auch nicht gelungen ist, die Ursache der Differenz aufzuklären, so bleibt dennoch die beschriebene Methode eine für klinische Zwecke ganz brauchbare und verdient wegen der Einfachheit ihrer Handhabung und der geringen Ansprüche, die sie an den technischen Apparat stellt, den Vorzug vor der Methode von Haycraft, der sie an Genauigkeit gleichkommt.

Herrn Professor Huppert spreche ich für seine überaus gültige Beihilfe bei der Feststellung der Methode meinen innigsten Dank aus.