

Notiz zu der Harnstoffbestimmungsmethode von K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.

Von

Dr. Eyvind Böttker.

(Der Redaction zugegangen am 14. Juni 1892.)

Eine exacte und schnell ausführbare Methode zur Bestimmung des Harnstoffes hat man schon lange vermissen müssen.

Die bis jetzt angewandten Methoden liefern sämtlich, mit Ausnahme von derjenigen von Bunsen, beinahe oder ganz den totalen Stickstoffgehalt als Harnstoff berechnet, und ausserdem sind sie alle ziemlich umständlich.

Es muss daher als ein grosser Fortschritt der Harnanalyse bezeichnet werden, dass voriges Jahr zwei Forscher, Mörner und Sjöqvist¹⁾, ein Verfahren angegeben haben, das in Bezug auf Genauigkeit und schnelle Ausführbarkeit nichts zu wünschen übrig lässt.

Wir haben in dem letzten Jahre diese Methode in dem hiesigen Institute vielfach angewandt und zwar stets mit befriedigenden Resultaten. — Bevor wir aber dem Verfahren allgemeine Benutzung gewährten, habe ich es auf Veranlassung vom Herrn Prof. Dr. Torup einer Controlle unterworfen, die die Anwendbarkeit desselben völlig bestätigt hat. Es schien mir deshalb empfehlenswerth, die Ergebnisse meiner Untersuchung zu veröffentlichen.

Das Princip der Methode beruht darauf, dass die stickstoffhaltigen organischen Verbindungen des Harns, mit Aus-

¹⁾ Skandinavisches Archiv für Physiologie, Bd. 2, S. 438, 1891.

nahme von dem Harnstoffe, von einer concentrirten Lösung von Chlorbarium und Bariumoxydhydrat zum grössten Theil gefällt werden.

Wird die Fällung mit einem Ueberschusse von Alkohol-Aether versetzt, so gehen nur der Harnstoff und kleine Mengen von Ammonsalzen und Bariumoxydhydrat in Lösung. Beim Einengen der filtrirten alkoholisch-ätherischen Lösung bei niedriger Temperatur werden die Ammonsalze durch das vorhandene Bariumoxydhydrat oder durch Zusatz von Magnesia zerstört; in dem Rückstand wird eine Stickstoffbestimmung nach dem Kjeldahl'schen Verfahren gemacht und der Stickstoff auf Harnstoff umgerechnet.

Mörner und Sjöqvist haben ihrem Verfahren eine sehr grosse Anzahl von Beleganalysen beigefügt. Die Analysen sind in künstlichen, normalen und pathologischen Harnen ausgeführt worden.

Ich habe Versuche theils mit wässerigen Harnstofflösungen, theils mit normalen Harnen, denen Ammonsalze, beziehungsweise stickstoffhaltige Extractivstoffe, wie Kreatinin, Hippursäure und Harnsäure zugesetzt waren, vorgenommen.

Versuch I.

Es stand zuerst zu entscheiden, ob sich aus einer reinen Harnstofflösung die ganze Quantität Harnstoff ermitteln liesse.

Zu diesem Zwecke wurden 5 ccm. einer 2procentigen Harnstofflösung mit 5 ccm. einer gesättigten Chlorbariumlösung, in welcher 5% Bariumoxydhydrat gelöst war, gemischt. Dann wurden 150 ccm. eines Gemisches von 1 Theil Aether und 2 Theilen 90procentigem Alkohol zugesetzt, geschüttelt und bis den nächsten Tag in geschlossenem Gefässe stehen gelassen. Alsdann wurden die Niederschläge abfiltrirt, mit Alkohol-Aethermischung gewaschen und in einer Porcellanschale nach Zusatz von etwa 0,5 gr. Magnesia bei 50—60° eingedampft. Nach dem Erkalten wurde die concentrirte, etwa 15 ccm. betragende Flüssigkeit mit 10 ccm. concentrirter Schwefelsäure versetzt und auf dem siedenden Wasserbade erhitzt, bis sich das Volum nicht mehr minderte.

Dann wurde die Flüssigkeit in den Aufschliesskolben gespült und erhitzt, bis vollständige Aufschliessung erfolgte. Es wurde nunmehr mit überschüssiger Natronlauge destillirt und das Destillat in $\frac{1}{10}$ -n.- H_2SO_4 aufgefangen.

Die Ergebnisse dreier Bestimmungen zeigt folgende Tabelle:

Tabelle I.

Harnstoff- gehalt der Lösungen. %	Ab- gemessenes Volum.	Ent- sprechend cbcm. $\frac{1}{10}$ -n.- NH_4OH .	Ent- sprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Ent- sprechend % wieder- gefundenen Harnstoff.	Differenz des vorhan- denen und des wieder- gefundenen Harnstoffes. %	Zu- gesetztes Mg O. gr.
2,0000	5 cbcm.	32,7	0,9182	1,9650	- 0,0350	0,5
2,0484	3 »	21,1	0,9875	2,1133	+ 0,0649	kein
2,0484	3 »	20,9	0,9781	2,0931	+ 0,0447	kein

Mörner und Sjöqvist erhielten gewöhnlich ein kleines Deficit an Harnstoff, was laut der Tabelle auch bei meiner ersten Bestimmung der Fall war. In den beiden letzten Bestimmungen ergibt sich dagegen ein kleiner Mehrgehalt an Harnstoff. Dieser Umstand wird nicht dadurch erklärt, dass die Ausführung ohne Zusatz von Magnesia geschah; denn die Lösung enthielt ja nur reinen Harnstoff, und der Zusatz von Magnesia war somit überflüssig. Wahrscheinlich ist die Ursache darin zu suchen, dass zu diesen Bestimmungen nur 3 cbcm. Harnstofflösung verwendet wurden, welche einfach mit einer gewöhnlichen Pipette abgemessen wurden. Hierbei wird natürlich der Abmessungsfehler grösser.

Die Anwendung eines kleineren Volumen Harns scheint aus mehreren Gründen empfehlenswerth. Die Aufschliessung mit concentrirter Schwefelsäure, sowie die nachherige Destillation mit Natronlauge würden beispielsweise nicht so lange dauern, und ausserdem würde eine Ersparniss an Alkohol-Aether eintreten. Ich habe deswegen bei einer Mehrzahl der folgenden Versuche nur 2,5—3 cbcm. Harn angewendet, die ich mittelst einer Differentialpipette herausgenommen habe. Der Abmessungsfehler wird hierbei, was meine späteren Versuche zeigen, ziemlich beseitigt.

Versuch II.

Es wurden jetzt Versuche angestellt, um zu entscheiden, in wie weit die Gegenwart von Ammonsalzen die Wiedermittelung des Harnstoffes beeinträchtigt.

Mörner und Sjöqvist verwandten in der Alkohol-Aethermischung einen Alkohol von 96%. Bei Anwendung eines 90procentigen Alkohols würde vielleicht die Löslichkeit des Bariumoxydhydrats ein wenig erhöht und somit der Zusatz von MgO überflüssig werden, was wegen der Aufschliessung mit concentrirter Schwefelsäure wünschenswerth wäre. Die Gegenwart von grossen Mengen Salzen trägt nämlich zum starken Stossen und eventuellen Platzen des Aufschliesskolbens sehr bei.

Zu diesem Zwecke wurden vergleichende Versuche mit und ohne Zusatz von MgO angestellt. Die Ergebnisse zeigt folgende Tabelle:

Tabelle II.

Harnstoffgehalt der Lösung.	Zugesetzte Ammonsalze.	Abgemessenes Volum.	Entsprechend cbcm. ^{1/10-n.} NH ₄ OH.	Entsprechend ^{0/0} N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend ^{0/0} wiedergefundener Harnstoff.	Differenz des vorhandenen und des wiedergefundener Harnstoffes.	Zugesetztes MgO.
^{0/0}	^{0/0}					^{0/0}	gr.
2,0484	NaNH ₄ HPO ₄ : 0,3002 NH ₄ Cl: 0,3084	3 cbcm.	22,4	1,0483	2,2434	+ 0,1950	kein
»	»	3 »	22,3	1,0436	2,2333	+ 0,1849	»
»	»	2,5 »	17,5	0,9828	2,1032	+ 0,0548	0,5
»	»	2,5 »	17,4	0,9772	2,0912	+ 0,0428	0,5

Aus der Tabelle ergibt sich, dass der Zusatz von MgO bei Anwesenheit grosser Mengen von Ammonsalzen nothwendig ist.

Versuch III.

In normalem Harn wurden vor und nach dem Zusatze von einer gewogenen Menge reinen Harnstoffes Harnstoffbestimmungen ausgeführt. Die Ergebnisse zeigt nachstehende Tabelle:

Tabelle III.

Zugesetzter Harnstoff.	Abgemessenes Volum Harn.	Entsprechend cbcm. ¹ / ₁₀ -n. NH ₄ OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Differenz des gefundenen und des zugesetzten Harnstoffes.	Mittel der gefundenen Harnstoffgehalte.	Differenz der Mittel.	Zugesetztes MgO.
°					°	°	°	gr.
kein	5 cbcm.	34,0	0,9547	2,0431	—	2,0401	0,4387	0,5
»	5 »	33,9	0,9519	2,0371	—			
0,4562	5 »	41,2	1,1569	2,4758	2,0196	2,4788		0,5
»	5 »	41,3	1,1597	2,4818	2,0256			0,5

Die Tabelle zeigt, dass das Verfahren bei normalem Harn recht befriedigende Resultate liefert. Wenn die zwei ersten Harnstoffbestimmungen als massgebend angenommen werden, lassen sich die zugesetzten 0,4562% Harnstoff mit einem Deficit von 0,0175% wieder ermitteln. Werden die sämtlichen vier Bestimmungen berücksichtigt, erscheint der Fehler etwa halb so gross.

Versuch IV.

Es wurden nunmehr Harnstoffbestimmungen in einem normalen Harn ausgeführt. Darauf wurden in demselben Harn Ammonsalze gelöst, und der Harnstoff nochmals bestimmt.

Die Resultate werden durch die nachstehende Tabelle dargestellt:

Tabelle IV.

Abgemessenes Volum Harn.	Entsprechend cbcm. ¹ / ₁₀ -n. NH ₄ OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Differenz zwischen den vor u. nach d. Zusatz v. Ammonsalzen gefund. Harnstoffmengen.	Zugesetztes Ammonsalz.	Zugesetztes MgO.
				°	°	gr.
2,5 cbcm.	18,00	1,0109	2,1633	—	kein	kein
2,5 »	18,00	1,0109	2,1633	.	kein	0,5
2,5 »	19,00	1,0670	2,2834	+ 0,1201	NaNH ₄ HPO ₄ : 0,5600 gr.	kein
					NH ₄ Cl: 0,4934 gr.	
2,5 »	18,4	1,0333	2,2113	+ 0,0480	»	kein
2,5 »	17,4	0,9772	2,0912	÷ 0,0721	»	0,5
2,5 »	17,5	0,9828	2,1032	÷ 0,0601	»	0,5

Die Uebereinstimmungen sind somit immer noch sehr befriedigend.

Die zwei letzten Bestimmungen erweisen ausnahmsweise ein kleines Deficit an Harnstoff. Der Zusatz von MgO erscheint demnach nicht gerade unbedingt rathsam, um so weniger, weil die Harnstoffbestimmungen in normalem Harn ohne Zusatz von MgO vollständig befriedigende Resultate liefern.

Versuch V.

In einer Probe normalen Harns wurde zunächst der Gesamtstickstoff und dann der Harnstoff bestimmt. Darauf wurde in dem Harn etwas Harnsäure, Kreatinin, Hippursäure und Ammonsalz gelöst, und alsdann der Gesamtstickstoff sowie der Harnstoff nochmals bestimmt.

Die Ergebnisse zeigt die nachfolgende Tabelle:

Tabelle V.

Abgemessenes Volum Harn.	Entsprech. cbcm. $\frac{1}{10}$ -n.-NH ₄ OH (als Totalstick- stoff vorhanden).	Entsprech. cbcm. $\frac{1}{10}$ -n.-NH ₄ OH (als Harnstoff vorhanden).	Entsprechend % Gesamt- stickstoff.	Entsprechend % N als Harn- stoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Zugesetzte N-Stoffe. %	Differenz zwischen den vor u. nach dem Zusatze von N-Stoff gefundenen Harnstoff- mengen. % (im Mittel).		Zuge- setztes MgO. gr.
5 cbcm.	45,7	43,3	1,2833	1,2159	2,6020	keine	Mittel : 2,6245	Differenz : - 0,0255	0,5
5 »	45,9	43,0	1,2889	1,2074	2,5838	keine			0,5
2,5 »	»	22,0	»	1,2355	2,6439	keine			kein
2,5 »	»	22,2	»	1,2468	2,6682	keine			kein
2,5 »	24,7	22,1	1,3872	1,2411	2,6560	Harnsäure: 0,0728 gr. Kreatinin: 0,0698 gr. Hippursäure: 0,0484 gr. NH ₄ SO ₄ : 0,0783 gr.			kein
2,5 »	»	22,2	»	1,2468	2,6680	»	2,6500	+ 0,0255	kein
5 »	»	43,8	»	1,2299	2,6320	»			0,5
5 »	»	44,0	»	1,2355	2,6440	»			0,5

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass das Verfahren selbst bei Gegenwart von erheblichen Mengen stickstoffhaltiger Körper genaue Uebereinstimmungen erzielen lässt.

Die grosse Anwendbarkeit der Methode darf somit als endgiltig bewiesen betrachtet werden.

Für die Ausführung der Methode empfehle ich im Einzelnen folgendes Verfahren, das natürlich im Wesentlichen mit der Vorschrift von Mörner und Sjöqvist übereinstimmt:

2,5 ccm. Harn werden in einem Kölbchen mit 2,5 ccm. einer Barytlösung versetzt, welche in einem Liter 50 gr. Bariumoxydhydrat und 350 gr. Bariumchlorid enthält. Der Mischung werden 75 ccm. eines Gemisches von 1 Theil Aether und 2 Theilen Alkohol (90%) zugesetzt. Das Gefäss wird verschlossen, geschüttelt und bis zum folgenden Tage hingestellt. Alsdann wird in eine Porcellanschaale filtrirt und der Niederschlag mit etwa 50 ccm. der Alkohol-Aethermischung gewaschen. Der Alkohol-Aether wird jetzt auf dem Wasserbade bei einer Temperatur von 50—60°, bis das Volum etwa 20 ccm. beträgt, verjagt. Besass der ursprüngliche Harn ein hohes specifisches Gewicht, ist während des Einengens ein Zusatz von etwa einem halben gr. MgO rathsam.

Die eingedampfte Flüssigkeit wird jetzt mit 10 ccm. concentrirter Schwefelsäure vorsichtig versetzt und das Wasserbad bis zum Sieden erhitzt. Wenn das Volum nicht mehr abnimmt, wird die Flüssigkeit in den Aufschliesskolben gegossen und die Schaale mit destillirtem Wasser nachgespült.

Das Aufschliessen gelingt durch Erhitzen auf einem Drahtnetz ohne Zusatz von Quecksilber und ohne gewaltsames Stossen in ein paar Stunden.

Schliesslich wird in bekannter Weise mit überschüssiger Natronlauge destillirt und das gefundene Ammoniak auf Stickstoff umgerechnet.

Die gefundenen Procente Stickstoff mit 2,14 multiplicirt geben dann den Harnstoff in Procenten an.

Christiania, Juni 1892.

Physiologisches Institut der Universität.