

Eine neue Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn.

Von

Martin Krüger.

(Der Redaction zugegangen am 25. November 1895.)

Die in Folgendem beschriebene Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn ist eine noch nicht völlig ausgearbeitete. Die Versuche, welche schon am Anfang des Jahres 1894 begonnen waren, konnten inzwischen noch nicht fortgesetzt werden; die weitere Ausarbeitung der Methode muss bis auf geeignetere Zeit verschoben werden. Die Mittheilung ist daher nur als eine vorläufige anzusehen und nur aus dem Grunde veröffentlicht worden, weil sie vielleicht einige für Kliniker nicht unwichtige Resultate enthält.

Die Auffindung einer neuen Methode zur Harnsäurebestimmung schien deshalb lohnend zu sein, als die einzige bisher bekannte Methode, die zuverlässige Resultate liefert, nämlich die Salkowski-Ludwig'sche, für Kliniker zu unständig und zeitraubend ist.

Die neue Methode basirt auf der Fällbarkeit der Harnsäure und Alloxurbasen durch das von mir angegebene Reagens, Kupfersulfat in Verbindung mit Natriumbisulfit, und schliesst sich eng an die von C. Wulff und mir veröffentlichte Methode zur Bestimmung der Alloxurbasen plus Harnsäure im Harn an.

Soll die Harnsäure allein mit Hilfe des Kupferreagens bestimmt werden, so ist es nur nöthig, den in der Wärme erzeugten Kupferoxydul-Niederschlag in derselben Weise, wie bei der Salkowski-Ludwig'schen Methode, durch Natriumsulfid zu zerlegen, das Filtrat nach dem Ansäuern mit Salz-

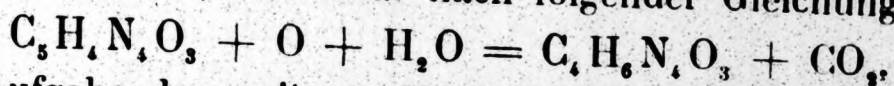
säure einzudampfen, den Niederschlag nach mehrstündigem Stehen abzufiltriren, endlich müsste die Harnsäure nach Salkowski auf gewogenem Filter bestimmt werden, oder aber es müsste, wie ich es ausgeführt habe und wie es für klinische Zwecke zweifellos vortheilhafter ist, die Harnsäure aus dem nach der Kjeldahl'schen Methode bestimmten Stickstoff berechnet werden. Dass die Harnsäure in dieser Weise bestimmt werden kann, habe ich in einer meiner früheren Abhandlungen gezeigt; es wurden nach diesem Verfahren Resultate erhalten, welche von den nach der Salkowski-Ludwigs'schen Methode erhaltenen nur um wenige Zehntel von Milligrammen abweichen.

Eine Ermittlung der Harnsäure auf diesem Wege würde jedoch vor der üblichen Methode nur geringe Vortheile bieten, welche darin bestehen, dass die Kupferoxydul-Verbindungen der Harnsäure und Alloxurbasen sich besser abfiltriren und besser auswaschen lassen als die Silberverbindungen.

Die Anwendung der Methode empfiehlt sich aber in den Fällen, wo die Salkowski-Ludwig'sche nicht ausreicht, z. B. bei Harnen von Diabetikern; ich werde auf diesen Punkt später zurückkommen und nachweisen, dass die Anwesenheit selbst von grossen Mengen Zuckers die Fällung der Harnsäure durch das Kupferreagens nicht beeinflusst.

Die geringe Widerstandsfähigkeit, welche Harnsäure im Gegensatz zu anderen Alloxurkörpern oxydirenden Agentien gegenüber zeigt, brachte mich auf die Idee, die Harnsäure auf einem bedeutend einfacheren Wege zu bestimmen, indem man die Harnsäure im Harne mit oxydirenden Mitteln behandelt und er solche Derivate überführt, die sich indifferent dem Kupferreagens gegenüber verhalten. Hat man die Summe des Harnsäure- und Alloxurbasen-Stickstoffs ermittelt, so hat man nur noch nöthig, in einem zweiten Theile des Harnes nach vorhergehender Oxydation der Harnsäure die nicht oxydirten Basen gleichfalls mittelst Kupfersulfat und Natriumbisulfid zu fällen und den N-Gehalt des Niederschlages nach der Kjeldahl'schen Methode zu bestimmen. Die Differenz der Stickstoffmengen gibt den Harnsäure-Stickstoff an.

Allantoïn ist ein Derivat der Harnsäure, welches durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit nicht mehr gefällt wird. Die Ueberführung der Harnsäure in Allantoïn wird schon durch schwach oxydirende Mittel, wie Bleisuperoxyd, Braunstein, Ferricyankalium, ferner durch Baryum- und Natriumsuperoxyd etc. bewirkt und zwar nach folgender Gleichung:



Aufgabe der weiteren Untersuchung wäre es, zunächst festzustellen, ob die erwähnten Oxydationsmittel, welche Harnsäure für sich glatt und schnell in Allantoïn verwandeln, auch im Harn ungeachtet des Vorhandenseins anderer oxydabler Stoffe die Harnsäure vollständig zerstören, ferner ob nur die Harnsäure allein oxydirt wird oder auch ein Theil der Alloxurbasen des Harnes der Oxydation anheimfällt.

Da unsere Kenntniss über die Alloxurbasen des Harnes zweifellos noch eine unvollständige ist und da ausserdem die Beschaffung der Basen mit grossen Schwierigkeiten und viel Zeitaufwand verbunden ist, so blieb zur Controlle für die neue Harnsäurebestimmungsmethode nur die bewährte Salkowski-Ludwig'sche Methode übrig.

Von den oben erwähnten Oxydationsmitteln wurden in Bezug auf ihre Wirkung auf Harnsäure bisher nur Bleisuperoxyd und Braunstein untersucht. Es zeigte sich sehr bald, dass die Anwendung von Bleisuperoxyd zur Zerstörung der Harnsäure im Harne nicht geeignet ist; die Reaction verläuft zu langsam und ist meistens innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde noch nicht beendigt. Braunstein erwies sich dagegen als ein geeignetes Oxydationsmittel; es wurde auf nassem Wege durch Reduction einer heissen Permanganatlösung mit Alkohol dargestellt. Der Niederschlag wurde zunächst durch Dekantiren, dann auf dem Filter mit heissem Wasser ausgewaschen und bei 100° getrocknet. In 0,5 gr. trockenen Braunsteins erwiesen sich für die Oxydation der Harnsäure in 200 ccm. Harn als hinreichend.

Die Bestimmung der Harnsäure nach der neuen Methode ist folgendermaassen auszuführen:

1. In 100 ccm. (resp. 200 ccm.) des Harns wird zunächst der Harnsäure- plus Alloxurbasen-Stickstoff nach der

von C. Wulff und mir in dieser Zeitschrift beschriebenen Methode bestimmt, d. h. es werden 100 ccm. Harn zum Sieden erhitzt, mit 10 ccm NaHSO_3 -Lösung und 10 ccm. Kupfersulfatlösung (13%) versetzt; dann gibt man noch 5 ccm. einer 10 proc. BaCl_2 -Lösung hinzu, hält die Mischung noch 3 Minuten im Sieden und lässt sie 2 Stunden lang stehen. Alsdann filtrirt man die Flüssigkeit durch ein Faltenfilter, wäscht den Niederschlag mit heissem Wasser gründlich aus und bestimmt den N-Gehalt desselben nach der Kjeldahl'schen Methode.

2. 200 ccm. des Harnes werden mit Natriumcarbonat bis zum Entstehen eines flockigen Niederschlages, dann mit 5 ccm. 10 proc. Essigsäure versetzt, um die Harnsäure frei zu machen. Hierauf gibt man 0,5 gr. von dem auf nassem Wege bereiteten Braunstein hinzu und erhält die Flüssigkeit $\frac{1}{2}$ Stunde lang unter stetem Umrühren in schwachem Sieden. Nach dem Neutralisiren mit Natriumcarbonat digerirt man den Harn mit 10 ccm. der Natriumbisulfatlösung, bis die Hauptmenge des Braunsteins als Mangansulfat gelöst ist, fügt 10 ccm. der Kupfersulfatlösung, 5 ccm. der Baryumchloridlösung hinzu, erhält die Flüssigkeit 3 Minuten im Kochen und lässt sie 2 Stunden stehen. Während dieser Zeit setzt sich neben dem Kupferoxydulniederschlag der Basen noch ein beträchtlicher Niederschlag wahrscheinlich am Mangansulfid ab, der sich aber gut filtriren und auswaschen lässt. Der Niederschlag wird in derselben Weise, wie unter 1. angegeben, behandelt. Man erhält den Alloxurbasen-Stickstoff: die Differenz zwischen 1. und 2. soll den Harnsäure-Stickstoff angeben.

Die ersten 10 in der folgenden Tabelle mitgetheilten Analysen sind bei normalen Harnen erhalten, die letzten 8 beziehen sich auf den Fall von Leukämie, welcher von P. Jacob und mir vor einem Jahre in einem kurzen Berichte veröffentlicht ist (Verh. der physiol. Ges. zu Berlin, 1894, 20. April). Die Zahlen in den senkrechten Reihen bedeuten die Anzahl der zur Neutralisation des überdestillirten Ammoniaks verbrauchten ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure; sie sind sämmtlich auf 200 ccm. des Harnes umgerechnet. Die erste Columne gibt

die specifischen Gewichte der Harnsäure an, die zweite den Harnsäure- plus Basen-Stickstoff, die dritte den Basen-Stickstoff allein; die 4. Columne gibt die Differenzen zwischen den Zahlen der 2. und 3. Reihe, also den Harnsäure-Stickstoff an, die 5. den nach der Salkowski-Ludwig'schen Methode ermittelten Harnsäure-Stickstoff. Die letzte Columne endlich enthält die Differenzen der nach beiden Methoden erhaltenen Harnsäure-Stickstoffmengen.

Normaler Harn.

Spec. Gew.	(H + B)N.	Bas. N.	Harns. N (nach meiner Methode).	Harns. N (nach Salk.-Ludwig).	Differenz.	
1.	1,014	21,40 cbcm.	5,53 cbcm.	15,82 cbcm.	14,50 cbcm.	+ 1,32 cbcm.
2.	1,017	26,12 »	6,42 »	19,76 »	18,64 »	+ 1,12 »
3.	1,025	30,84 »	5,62 »	25,22 »	24,24 »	+ 0,98 »
4.	1,018	28,04 »	5,17 »	22,87 »	22,04 »	+ 0,83 »
5.	1,018	25,99 »	4,94 »	21,05 »	21,00 »	+ 0,05 »
6.	1,021	33,81 »	6,30 »	27,51 »	25,55 »	+ 1,96 »
7.	1,009	15,28 »	5,20 »	10,08 »	9,97 »	+ 0,11 »
8.	1,018	26,65 »	5,37 »	21,28 »	21,55 »	- 0,27 »
9.	1,022	32,54 »	6,46 »	26,08 »	25,98 »	+ 0,10 »
10.	1,016	29,02 »	4,14 »	24,88 »	24,74 »	+ 0,14 »

Leukämischer Harn.

	(H + B)N.	Bas. N.	Harns. N (nach meiner Methode).	Harns. N (nach Salk.-Ludwig).	Differenz.
1.	48,54 cbcm.	10,65 cbcm.	37,89 cbcm.	38,11 cbcm.	- 0,22 cbcm.
2.	26,38 »	3,19 »	23,19 »	23,14 »	+ 0,05 »
3.	38,74 »	9,76 »	28,98 »	27,80 »	+ 1,18 »
4.	32,50 »	7,36 »	25,14 »	25,58 »	- 0,44 »
5.	32,80 »	8,00 »	24,80 »	23,46 »	+ 1,34 »
6.	39,04 »	11,40 »	27,64 »	26,54 »	+ 1,1 »
7.	47,70 »	12,62 »	35,08 »	33,86 »	+ 1,22 »
8.	23,48 »	5,32 »	18,16 »	18,42 »	- 0,26 »

Um die Differenzen zwischen den beiden Methoden schärfer hervortreten zu lassen, ist es zweckmässig, die den Oxalsäure-Mengen entsprechenden Quantitäten Harnsäure anzugeben. Dies ist in der folgenden Tabelle geschehen.

Normaler Harn.

	Harns. in gr. (nach der neuen Methode).	Harns. in gr. (nach Salkowski- Ludwig).	Differenz in mgr.	= ? ‰.
1.	0,0663 gr.	0,0608 gr.	5,5 mgr.	+ 9 ‰
2.	0,0830 »	0,0783 »	4,7 »	+ 6 »
3.	0,1059 »	0,1018 »	4,1 »	+ 4 »
4.	0,0961 »	0,0926 »	3,5 »	+ 3,8 »
5.	0,0884 »	0,0882 »	0,2 »	+ 0,3 »
6.	0,1155 »	0,1073 »	8,2 »	+ 8 »
7.	0,0423 »	0,0419 »	0,4 »	+ 1 »
8.	0,0894 »	0,0905 »	- 0,9 »	- 1,2 »
9.	0,1095 »	0,1091 »	0,4 »	+ 0,4 »
10.	0,1045 »	0,1039 »	0,6 »	+ 0,6 »

Leukämischer Harn.

	Harns. in gr. (nach der neuen Methode).	Harns. in gr. (nach Salkowski- Ludwig).	Differenz in mgr.	= ? ‰.
1.	0,1591 gr.	0,1601 gr.	- 1 mgr.	- 0,6 ‰
2.	0,0974 »	0,0972 »	+ 0,2 »	+ 0,2 »
3.	0,1217 »	0,1168 »	+ 4,9 »	+ 4 »
4.	0,1056 »	0,1074 »	- 1,8 »	- 1,7 »
5.	0,1042 »	0,0985 »	+ 5,7 »	+ 5,8 »
6.	0,1161 »	0,1115 »	+ 4,6 »	+ 4 »
7.	0,1473 »	0,1422 »	+ 5,1 »	+ 4 »
8.	0,0763 »	0,0774 »	- 1,1 »	- 1,4 »

Die Differenzen zwischen der Salkowski'schen und der neuen Methode schwanken innerhalb beträchtlicher Grenzen; sie sind noch zu gross, um das neue Verfahren als ein auch nur für klinische Zwecke geeignetes erscheinen zu lassen. Andererseits scheinen mir aber diejenigen Analysen, bei denen nach beiden Methoden fast gleiche Zahlen erhalten wurden, zu beweisen, dass die neue Methode der Verbesserung fähig ist.

Wenn nach der letzteren in der Regel höhere Werthe für Harnsäure gefunden werden, als nach der Methode von Salkowski-Ludwig — nur in einzelnen Fällen sind um ein Geringes niedrigere Zahlen erhalten —, so lassen sich dafür zweierlei Ursachen angeben: entweder Braunstein oxydirt neben Harnsäure noch einen Theil der Alloxurbasen, oder

aber die Basen werden bei Gegenwart von Harnsäure vollständig ausgefällt, was wahrscheinlich ist. Beide Fehlerquellen würden sich durch geeignete Modificationen der Methode beseitigen lassen können; die erste durch Anwendung schwächerer Oxydationsmittel wie Braunstein, etwa von Ferridcyankalium, die 2., wenn man nach der Zerstörung der Harnsäure zur besseren Ausfällung der Basen wiederum eine bestimmte Menge von Harnsäure oder einer durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit vollständig ausfällbaren Alloxurbase hinzusetzt. Nach beiden Richtungen hin sollen die Versuche demnächst fortgesetzt werden.

Zum Schluss mögen noch einige Versuche Erwähnung finden, welche das Verhalten von Harnsäure und Alloxurbasen, wie Adenin, zum Kupferreagens bei Gegenwart grosser Mengen von Traubenzucker zeigen sollen. Die Versuche sind im Hinblick auf die Bestimmung der Harnsäure in diabetischen Harnen von praktischer Bedeutung. Es zeigt sich zunächst, dass die Fällung von Harnsäure und Adenin, in der Weise ausgeführt, wie es für die Bestimmung des Harnsäure- plus Basen-Stickstoffes angegeben ist, durch die Anwesenheit von selbst der 70—80fachen Menge an Zucker absolut keine Störung erfährt.

	A n g e w e n d e t .			G e f u n d e n .
	Harnsäure.	Adenin.	Zucker.	
1.	0,1070 gr.	—	9 gr.	0,1068 gr.
2.	0,1423 »	—	9 »	0,1418 »
3.	—	0,0900 gr.	16 »	0,0894 »

Auch die Oxydation der Harnsäure durch Braunstein, ausgeführt, wie es oben für die Bestimmung des Basenstickstoffes allein angegeben ist, wird durch Zucker nicht verhindert. Als 0,1037 gr. plus 8 gr. Zucker und ein anderes Mal 0,1281 gr. plus 16 gr. Zucker mit 0,5 gr. Braunstein und 5 cbcm. 10 proc. Essigsäure $\frac{1}{4}$ Stunde lang in 200 cbcm. H_2O im Sieden erhalten wurden, war keine Harnsäure mehr nachzuweisen. Adenin dagegen zeigte sich, wie bei seiner grossen Widerstandsfähigkeit gegen Oxydationsmittel zu erwarten war,

gegen Braunstein vollkommen beständig. Von 0,0875 gr. Adenin, die gemeinsam mit 16 gr. Zucker gelöst mit Braunstein behandelt waren, wurden 0,0871 wiedergefunden. Aus einem Gemenge von Harnsäure, Adenin und Zucker zerstörte Braunstein nur die Harnsäure; Harnsäure wurde quantitativ wiedergefunden. Angewendet 0,1321 gr. Harnsäure, 0,0817 gr. Adenin und 8 gr. Zucker; gefunden nach Fällung mit dem Kupferreagens 0,0820 gr. Adenin.

Da, wie gezeigt, die Fällung der Harnsäure und Alloxur-basen auch bei Anwesenheit von Zucker nicht gestört wird, so muss die Methode zur Ermittlung des Harnsäure- plus Basen-Stickstoffes auch bei diabetischen Harnen anwendbar sein. Will man die Harnsäure allein bestimmen, so empfiehlt es sich, da die oben beschriebene Methode zur indirecten Bestimmung der Harnsäure noch nicht einwandfreie Resultate geliefert hat, den aus einer bestimmten Menge des diabetischen Harnes erhaltenen Kupferoxydul-Niederschlag von Harnsäure und Basen in derselben Weise, wie den nach der Salkowski-Ludwig'schen Methode erhaltenen Silberniederschlag zu behandeln.

Der experimentelle Theil der vorliegenden Untersuchung wurde im Anfange des Jahres 1894 in der chemischen Abtheilung des physiolog. Instituts zu Berlin ausgeführt.

Crefeld, Königl. Färberei- und Appreturschule,
im November 1895.
