

## Ueber den Nachweis der Carbaminsäure.

Von

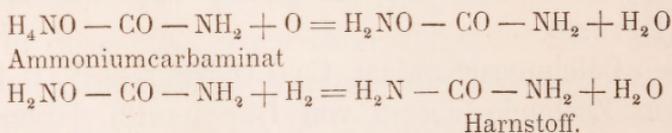
Dr. Pierre Nolf.

Mit einem Holzschnitt.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 15. Juni 1897.)

Eine jetzt von den meisten Physiologen, wenn nicht als sicher, so doch mindestens als sehr wahrscheinlich angenommene Thatsache ist das Vorhandensein der Carbaminsäuresalze in verschiedenen physiologischen Flüssigkeiten. Drechsel ist der erste, welcher auf die Bedeutung der Carbaminsäure mit Nachdruck hingewiesen hat und seine Arbeiten sind die wichtigsten, welche wir über diese Frage besitzen. Drechsel hat die Entstehung von carbaminsaurem Ammon durch Oxydation der Amidosäuren in alkalischer Flüssigkeit festgestellt,<sup>1)</sup> ferner hat er das Vorhandensein desselben Salzes in dem Blutserum des Hundes<sup>2)</sup> und in dem alkalischen Harn des Pferdes<sup>3)</sup> nachgewiesen; durch elektrische Wechselströme ist es ihm endlich gelungen, aus Ammoniumcarbaminat Harnstoff darzustellen.<sup>4)</sup> Diese Thatsachen fasst er zusammen, indem er annimmt, dass das Ammonsalz der Carbaminsäure eine Zwischenstufe ist bei der physiologischen Harnstoffbildung. Das durch Oxydation des Eiweisses und seiner Derivate gebildete carbaminsaure Ammon soll durch abwechselnde Oxydation und Reduction in Harnstoff übergehen. Für diesen Vorgang stellt Drechsel folgende Formel auf:



1) Journal für prakt. Chemie (NF.) Bd. 12, S. 417.

2) Ibidem.

3) Du Bois-Reymond's Archiv, Jahrg. 1891.

4) Journal für prakt. Chemie (NF.) Bd. 22.

Nachher haben Abel und Muirhead<sup>1)</sup> ein reichliches Auftreten der Carbaminsäure im Harn von Menschen und Thieren nach Kalkfütterung beobachtet. Endlich haben Nencki und Hahn<sup>2)</sup> die heftigen Vergiftungssymptome, welche bei Hunden nach Anlegung einer Eck'schen Fistel auftreten, von der Nichtumwandlung des Ammoniumcarbaminats in Harnstoff in Folge der verhinderten Lebercirculation hergeleitet. Bei diesen Hunden soll im Harn die Carbaminsäure in grösserer Menge auftreten als im normalen Zustand. Diese Forscher nehmen das Vorkommen der Carbaminsäure in normalem sauer reagirenden Harn vom Rinde und Menschen an.

Unter den Salzen der Carbaminsäure sind das Ammonium- und das Calciumcarbaminat die wichtigsten.

Das erste  $H_4N - CO_2 - H_2N$  entsteht bekanntlich, wenn Kohlensäure und Ammoniak in trockenem Zustande sich im Verhältniss von 1:2 Vol. vereinigen (Rose). In Lösung kann man es darstellen, indem man Kohlensäure in starkes Ammoniak hineinleitet (Kolbe). Dabei bekommt man eine ammoniakalische Lösung von Ammoniumcarbaminat, welche Kalkhydroxyd auflöst, ohne sich zu trüben, unter Bildung von Kalkcarbaminat.

Eine frisch dargestellte wässrige Lösung von Ammoniumcarbaminat trübt sich durch Zusatz von Calciumchlorid anfangs nicht, wohl aber nach kurzer Zeit. Lässt man sie dagegen einige Minuten stehen und fügt nun erst das Calciumchlorid hinzu, so entsteht sofort ein Niederschlag von Calciumcarbonat, weil das Ammoniumcarbaminat durch Aufnahme eines Moleküls Wasser schon theilweise in neutrales Carbonat umgewandelt worden ist. In stark ammoniakalischer Lösung ist das Ammoniumcarbaminat gut beständig. Man kann sogar durch starkes Ammoniak beide Ammoniumcarbonate in Carbaminat überführen (Divers).

Das Calciumcarbaminat  $Ca(CO_2NH_2)_2 + \frac{1}{2}H_2O$  wurde in reinem Zustande zuerst von Drechsel<sup>3)</sup> dargestellt und

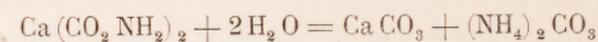
1) Archiv für experiment. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 31, S. 15.

2) Dasselbe, Bd. 32, S. 161.

3) Journal für prakt. Chemie (NF.) Bd. 16, S. 180.

zwar nach folgender Methode: Kohlensäure wird in starke Ammoniaklösung hineingeleitet, wobei Ammoniumcarbaminat entsteht. Von Zeit zu Zeit setzt man etwas frische Kalkmilch hinzu, solange man Auflösung wahrnimmt. Alsdann lässt man etwas absitzen und filtrirt direkt in das gleiche Volumen auf 0° abgekühlten absoluten Alkohols. Es entsteht sofort ein dicker Niederschlag, welcher mit Alkoholäther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet wird.

Das Calciumcarbaminat löst sich in kaltem Wasser zu einer zunächst klaren Lösung, welche sich schon nach einigen Secunden trübt und reichliche Mengen von kohlensaurem Kalk abscheidet.



In ammoniakalischer Lösung ist es viel beständiger und erst beim Erhitzen tritt Zersetzung ein. Doch kann eine solche ammoniakalische Lösung nur einige Tage in der Kälte aufbewahrt werden, da sie sich allmählich unter Bildung von krystallinischem kohlensaurem Kalk zersetzt. Die Unlöslichkeit des Calciumsalzes in Alkohol, seine Löslichkeit in Wasser zu einer klaren Flüssigkeit, woraus beim Erwärmen sich das leicht erkennbare Calciumcarbonat abscheidet, während Ammoniak entweicht, macht dies Salz zum Nachweis der Carbaminsäure sehr geeignet.

Drechsel hat zwei Methoden für diesen Nachweis gegeben, welche beide auf den Eigenschaften des Calciumsalzes beruhen. Die erste, nach welcher er die Carbaminsäure im Blute des Hundes nachgewiesen hat, ist eine unvollkommene und theilweise mit Recht durch Hofmeister<sup>1)</sup> angegriffen worden. Die zweite ist in seinen späteren Arbeiten, und ebenso von Abel, Nencki u. A. angewandt worden.

In ihren Hauptzügen ist sie folgende: Die Flüssigkeit wird mit einem Ueberschuss von Kalkmilch längere Zeit geschüttelt. Auf diese Weise werden die Carbamate in Calciumcarbaminat verwandelt. Dann wird noch Calciumchlorid und etwas krystallinisches Calciumcarbonat hinzugegeben und wieder ge-

---

1) Pflüger's Archiv, Bd. XII, S. 337.

schüttelt, um den Uebergang des kohlensauren Kalks in die krystallinische Form zu befördern. Man lässt einige Zeit auf Eis stehen und filtrirt in auf  $0^{\circ}$  abgekühlten Alkohol. Der Niederschlag wird später wiederholt in Ammoniak aufgelöst, durch kalten Alkohol gefällt und an seinen oben angeführten Eigenschaften erkannt. Wenn dies Verfahren auch für den qualitativen Nachweis hinreicht, so ist es doch in quantitativer Beziehung nicht brauchbar. Man erhält auch schon infolge der Zersetzlichkeit des Calciumsalzes die Zersetzungsprodukte, Kohlensäure und Ammoniak, gewöhnlich nicht in den der Theorie entsprechenden Mengen.

Dies zweite Verfahren von Drechsel stützt sich auf vier Hauptexperimente, welche ich hier ihrer Wichtigkeit wegen erwähnen möchte.

«Versuch I. 5 ccm. einer Salmiaklösung wurden mit 4 Tropfen einer reinen, frisch bereiteten Kalkmilch versetzt, nach Auflösung des Kalks mit 5 ccm.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 ccm. = 0,05301  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) vermischt, geschüttelt, bis der Niederschlag krystallinisch geworden, sofort mit 5 ccm.  $\text{CaCl}_2$  (1 ccm. = 0,0555  $\text{CaCl}_2$ ) versetzt und 15 Minuten geschüttelt. Der vollkommen krystallinische Niederschlag wurde abfiltrirt, eine Probe des völlig klaren Filtrats in eine auf beiden Seiten dünn ausgezogene Glasröhre aufgesogen und eingeschmolzen. Beim nun folgenden mehrstündigen Erhitzen im Wasserbad blieb die Flüssigkeit völlig klar.

Versuch II. 5 ccm. derselben Salmiaklösung wie in I wurden mit 5 ccm. der nämlichen Sodalösung versetzt und etwa  $1\frac{1}{2}$  Stunden bei gewöhnlicher Temperatur in gut verschlossenem Gefässe stehen gelassen. Erst nach Ablauf dieser Zeit wurden 4 Tropfen derselben Kalkmilch hinzugefügt, geschüttelt, bis der Niederschlag krystallinisch geworden, 5 ccm. derselben Chlorcalciumlösung hinzugegeben und 15 Minuten geschüttelt. Hierauf wurde die Flüssigkeit von dem völlig krystallinischem Niederschlage abfiltrirt, wie oben, in eine Glasröhre eingeschmolzen und in demselben Wasserbade erhitzt. Sie trübte sich schnell und ziemlich stark.

In den beiden folgenden Versuchen diente eine Lösung von kohlen-saurem Ammon, dargestellt aus kohlen-saurem Silberoxyd und Jodammo-nium, welche seit etwa 10 Wochen in einem wohlverschlossenen Gefässe gestanden hatte.

Versuch III. Die eine Hälfte der noch vorhandenen Lösung wurde mit 3 Tropfen Chlorcalciumlösung versetzt, geschüttelt, bis der Niederschlag krystallinisch geworden, mit 5 ccm. Chlorcalciumlösung gefällt und 15 Minuten lang geschüttelt. Hierauf wurde die Flüssigkeit von dem

völlig krystallinisch gewordenen Niederschläge abfiltrirt und, wie oben angegeben, behandelt; sie blieb völlig klar beim Erhitzen.

Versuch IV. Die andere Hälfte der erwähnten Lösung wurde mit 3 Tropfen Kalkmilch versetzt, geschüttelt, bis der Niederschlag krystallinisch geworden, 5 ccm. Chlorcalciumlösung hinzugefügt und ganz so verfahren, wie in III; die Flüssigkeit trübte sich schnell und ziemlich stark.

Aus diesen 4 Versuchen (welche übrigens zu verschiedenen Zeiten mit demselben Erfolge wiederholt wurden) ergibt sich nun Folgendes:

Die Vollständigkeit der Fällung des kohlensauren Kalks wird durch die Gegenwart von freiem Ammoniak nicht beeinträchtigt (Versuch I), dagegen ist es nicht gleichgiltig, ob die Mischung von kohlensaurem Natron und Salmiak, welche also neutrales kohlensaures Ammon enthalten muss, sofort oder erst nach einiger Zeit weiter untersucht wird; hat sie nur anderthalb Stunden gestanden, so erhält man eine Nachfällung, welche nur durch die Anwesenheit von neu gebildeter Carbaminsäure zu erklären ist. — Aus Versuch III und IV ergibt sich aber, dass man Carbaminsäure mittelst Kalklösung bei Gegenwart von kohlensaurem Ammon nur dann sicher nachweisen kann, wenn die Flüssigkeit freies Ammoniak enthält, eine Thatsache, welche in dem später zu beschreibenden Verhalten des carbaminsauren Kalks ihre vollkommene Erklärung findet.»

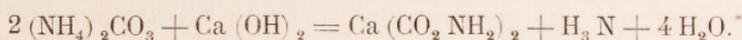
Von der Richtigkeit dieser Thatsachen kann man sich bequem und rasch überzeugen, jedoch kann ich mich der Deutung derselben nicht anschliessen. Vielmehr scheint es mir, dass man die vier Experimente noch in anderer Weise ebenso gut erklären kann.

Fassen wir die gesammten Versuche zusammen, so sehen wir, dass die erste Bedingung für das Zustandekommen der Carbaminsäurereaction in der Gegenwart von kohlensaurem Ammon besteht. Für die Bildung dieses Salzes aus  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und  $\text{NH}_4\text{Cl}$  war in dem ersten Versuch keine Zeit. Es ist dagegen in den drei letzten Versuchen entstanden. Diese Versuche unterscheiden sich von einander dadurch, dass in II und IV Calciumhydroxyd gebraucht worden ist und in III Calciumchlorid. In II und IV hat Drechsel die Carbaminsäure nachgewiesen, in III nicht.

Dafür gibt Drechsel folgende Gründe: Das kohlensaure Ammon verwandelt sich in wässriger Lösung theilweise in Ammoniumcarbaminat. Letzteres Salz war also in den drei letzten Versuchen vorhanden. Es war dagegen nur in II und

IV nachweisbar, weil in diesen Experimenten durch Gebrauch von Kalkhydroxyd eine kleine Menge von Ammoniak frei gemacht worden ist, welches das aus  $\text{NH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_2$  und  $\text{CaCl}_2$  entstandene Calciumcarbaminat gegen den schädlichen Einfluss des Wassers geschützt hat. Diesen Folgerungen habe ich mich nicht ohne Weiteres anschliessen können, da ich in den von Drechsel mitgetheilten Versuchen keinen genügenden Grund für sie ersehen konnte. Die Gegenwart von Ammoniumcarbaminat in der Lösung vor der Behandlung mit Kalk ist durch Drechsel durchaus nicht bewiesen und a priori kann man sich sehr gut vorstellen, dass dieses Salz erst während des Versuches durch die Einwirkung des frei gemachten Ammoniaks auf das kohlen saure Ammon entstanden ist. Es ist in der That früher erwähnt worden, dass Ammoniak im Stande ist, kohlen saures Ammon in Ammoniumcarbaminat überzuführen.

Eine dritte Hypothese, welche sich theilweise mit der zweiten deckt, aber die rasche Bildung von Carbaminat klarer darstellt, beruht auf der Annahme, dass Calciumhydroxyd nicht im Stande sei, das ganze Ammoniak aus dem kohlen sauren Ammon zu treiben. Sobald in der Flüssigkeit eine gewisse Ammoniak tension herrschte, würde die Hälfte des Ammoniaks in dem Ammoniumcarbonatmolekül bleiben und in Folge dessen sich Calciumcarbaminat bilden nach der Formel:



Welche von diesen aprioristischen Hypothesen die wahre ist, können meines Erachtens die vier Versuche nicht erklären. Aus diesem Grunde stellte ich folgende Experimente an:

Zuerst stellte ich mir eine Normallösung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 ccm. = 0,0530 gr.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) und eine von  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 ccm. = 0,0534 gr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) her. Diesen Lösungen entsprachen 1) eine Chlorcalciumlösung, deren 11 ccm. sich mit 10 ccm. der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung umsetzten, und 2) eine reine, dicke Kalkmilch, von der ungefähr 30 Tropfen sich in 10 ccm. der Salmiaklösung auflösten. In den folgenden Versuchen wurden die Flüssigkeiten immer während 15 Minuten in gut geschlossenem Gefässe geschüttelt (diese Zeit reicht aus, um den kohlen sauren Kalk krystallinisch zu machen) und dann sofort filtrirt. Das klare Filtrat wurde

in einem Glasrohre eingeschmolzen, dieses letztere aber nicht erhitzt. Wenn unter diesen Umständen nach einiger Zeit (in den meisten Fällen schon nach einigen Minuten) eine Trübung der Flüssigkeit stattfindet, kann man sicher mit Drechsel die vorherige Gegenwart von Calciumcarbaminat annehmen.

Die beiden ersten Versuche wurden als Gegenprobe der zwei ersten von Drechsel angestellt.

Versuch I. 10 ccm. der Salmiaklösung wurden mit 15 Tropfen der Kalkmilch versetzt, nach Auflösung des Kalkes mit 10 ccm. der Natriumcarbonatlösung vermischt und eine halbe Stunde in geschlossenem Gefässe stehen gelassen. Dann wurden 11 ccm. der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung hinzugefügt, 15 Minuten geschüttelt und das klare Filtrat eingeschmolzen. Trübung.

Versuch II. 10 ccm. der Salmiaklösung wurden mit 10 ccm.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  gemischt, sofort 15 Tropfen Kalkmilch hinzugegeben, vermischt, 11 ccm.  $\text{CaCl}_2$  hinzugefügt und nach üblicher Weise verfahren.

Spuren von kohlensaurem Kalk setzten sich nach längerer Zeit ab.

Aus Versuch I geht schon hervor, dass die Entstehung von Calciumcarbaminat in Drechsel's Experimenten nicht als die Folge einer besonderen Einwirkung von  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  auf  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  aufzufassen ist, denn hier war das  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  vor dem Zusatz von  $(\text{H}_4\text{N})_2\text{CO}_3$  völlig in  $\text{CaCl}_2$  übergeführt.

Es bleibt dagegen die Frage offen: Ist carbaminsaures Ammon in einer wässrigen Lösung von neutralem kohlensaurem Ammon präformirt oder ist zu seiner Bildung eine gewisse Menge freien Ammoniaks nothwendig, welcher einen Theil des neutralen Salzes in Carbaminat überführt?

In einem Vorversuch löste ich in 10 ccm. Wasser von  $0^\circ$  0,01 gr. reines Ammoniumcarbaminat, fügte einen geringen Ueberschuss von  $\text{CaCl}_2$  hinzu und schüttelte während 15 Minuten. Es war durch eine besondere Einrichtung dafür gesorgt, dass die Temperatur während des Versuches auf  $0^\circ$  blieb. Nach dieser Zeit war die Lösung noch fast ganz klar. Beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur trat bald Trübung ein. Eine Kontrollprobe mit der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung war negativ; hier blieb das Filtrat beim längeren Stehen und beim Erhitzen völlig klar. Also war festgestellt, dass bei  $0^\circ$  eine wässrige Lösung von Calciumcarbaminat verhältnissmässig gut haltbar ist.

Versuch III. 10 ccm. der Sodalösung, welche seit 10 Tagen mit 10 ccm. der Salmiaklösung in gut geschlossenem Gefässe standen, wurden auf 0° abgekühlt, mit 11 ccm. kalter  $\text{CaCl}_2$  Lösung versetzt und 15 Minuten bei 0° geschüttelt. Nach dem üblichen Verfahren trat die für Carbaminsäure charakteristische Trübung ein. Aus diesem Versuch, wo die Lösung kein freies Ammoniak enthielt, geht klar hervor, dass eine Lösung von neutralem Ammoniumcarbonat (bei 0° und wahrscheinlich auch bei gewöhnlicher Temperatur) auch Carbaminat enthält.

Interessant war es, zu wissen, ob sich bei der Neutralisation von Ammoniumbicarbonat ebenfalls Carbaminat bildet. Das Ammoniumbicarbonat kann man sich leicht rein und frei von Carbaminat in schönen Krystallen verschaffen, indem man nach der üblichen Weise eine Lösung von neutralem Carbonat durch Kohlensäure fällt, die Krystalle mit Wasser und Alkohol wäscht und über Schwefelsäure trocknet.

Versuch IV. Es wurden 0,398 gr.  $\text{NH}_4 \text{HCO}_3$  in 10 ccm. Wasser (Normallösung) gelöst und sofort mit einer so grossen Menge Ammoniak versetzt, dass neben dem neutralen Carbonat noch ein leichter Ueberschuss von  $\text{NH}_3$  vorhanden war. Da die als Reagens gebräuchliche Ammoniakflüssigkeit stets Carbaminat enthält (s. u.), verfuhr ich folgendermassen. Ich versetzte 10 ccm. der normalen Salmiaklösung mit 25 Tropfen der Kalkmilch und setzte sie dann der  $\text{NH}_4 \text{HCO}_3$ -Lösung hinzu. Zu dieser Flüssigkeit fügte ich dann, ohne zu schütteln, sofort 11 ccm.  $\text{Ca Cl}_2$ -Lösung hinzu und verarbeitete sie weiter zum Nachweis der Carbaminsäure. Es trat eine Trübung ein.

Das Resultat war dasselbe, als 10 ccm. einer ähnlichen  $\text{NH}_4 \text{HCO}_3$ -Lösung direkt mit 25 Tropfen Kalkmilch versetzt und wie gewöhnlich verarbeitet wurden.

Eine Lösung von reinem, neutralem Ammoniumcarbonat enthält also stets Carbaminat sofort nach der Entstehung des neutralen Salzes, sei es, dass dieses durch Doppelzersetzung zwischen einem anderen Carbonat und einem Ammonsalz, oder durch Neutralisation des Bicarbonats entstanden ist.

Die Thatsache, dass neutrales Ammoniumcarbonat in wässriger Lösung immer von Carbaminat begleitet wird, scheint mir von grosser Bedeutung für die Beurtheilung der physiologischen Verhältnisse der Carbaminsäure zu sein, und es ist schwer verständlich, weshalb dies bei den physiologischen Erörterungen bisher nicht genügend in Betracht gezogen ist.

Ferner ist schon durch die zuletzt citirten Versuche (Neutralisation des sauren Carbonats) der Beweis geliefert, dass überall, wo Ammoniumbicarbonat in Lösung ist oder dem entsprechend ein Gemisch von anderen Alkalibicarbonaten und Ammonsalzen, die Methode von Drechsel Calciumcarbaminat liefern wird.

Auch ist es wahrscheinlich, dass in einer Lösung von neutralem Ammoniumcarbonat die Menge des Carbaminats während des Behandeln mit Calciumhydroxyd steigen wird, in Folge des Freiwerdens von Ammoniak. Hierfür sprechen besonders die mit dem Ammoniumbicarbonat gewonnenen Resultate.

Versuch V. 10 ccm. Salmiaklösung wurden mit 10 ccm. Wasser vermischt, dann während  $\frac{1}{2}$  Stunde  $\text{CO}_2$  hindurchgeleitet, mit 15 Tropfen Kalkmilch 15 Minuten geschüttelt, filtrirt und in geschlossenem Rohr stehen gelassen. — Starke Trübung.

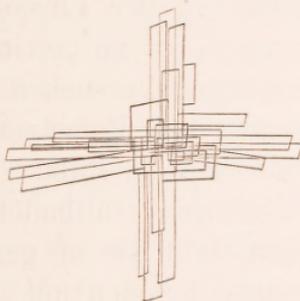
Es genügt also die Gegenwart von freier Kohlensäure neben einem Ammonsalze in der Flüssigkeit, um nach der Kalkbehandlung Calciumcarbonat zu gewinnen.

In den beiden erwähnten Versuchen wurde das Calciumcarbaminat nur an einem seiner Zersetzungsprodukte erkannt, an der Bildung von kohlen-saurem Kalk.

Wenn diese in Lösungen stattfindet, deren Zusammensetzung man genau kennt, tritt sie in ganz charakteristischer Weise ein und ist für den, der sich mit dem Kalksalze etwas bekannt gemacht hat, schon ausreichend, um einen sicheren Schluss auf das Vorhandensein von Carbaminsäure ziehen zu können.

Eine andere Methode, welche noch zuverlässiger ist, habe ich auf den Rath des Herrn Professors Kossel angewandt. Ich versuchte, ob die Krystallform des Calciumsalzes sich nicht zu einem sicheren und möglichst einfachen Nachweis benutzen lässt. Es wurden zunächst die schon von Drechsel beschriebenen Krystalle, welche sich in künstlich rein dargestellten Lösungen von Calciumcarbaminat in Ammoniak nach Zusatz von Alkohol bilden, genauer untersucht. Ist die Lösung sehr concentrirt und findet die Krystallisation

in der Kälte statt, so bekommt man kleine, gut ausgebildete, flache Prismen, welche sich unter dem Mikroskop als doppelbrechend zeigen. Werden aber die Krystalle sogleich nach der Fällung unter das Mikroskop gebracht, so bilden sie gewöhnlich dünne, parallelogrammförmige Blättchen, welche sehr oft ziegelweise auf einander liegen oder sich in den drei Raumrichtungen um ein Centrum so anlagern, dass einige in der Objectträgerebene liegen, andere senkrecht oder schräg stehen und wie Nadeln oder dünne Prismen aussehen. Lässt man hingegen verdünnte Lösungen ruhig in der Kälte krystallisiren, so bekommt man ganz charakteristische Formen. Die meisten Krystalle bilden dann regelmässige Kreuzformen, welche aus einer Zusammensetzung von Prismen und Blättchen bestehen, andere bilden sternförmige Conglomerate von sehr schmalen Prismen. Zwischen diesen zahlreichen Formen sind die Kreuzformen die zur Erkennung des Salzes geeignetsten, und ich habe deshalb eine Abbildung eines solchen Aggregates hier beigegeben.



Diese Krystalle sind leicht zerstörbar und unter dem Mikroskop kann man sehr oft sehen, wie sie zusammenschrumpfen und theilweise in eine amorphe Substanz übergehen. Eine völlige Zerstörung bewirkt man durch Trocknen und nachträglichen Zusatz eines Tropfen Wassers. Es scheidet sich sofort oder nach einiger Zeit dieselbe feinkörnige amorphe Substanz aus, welche sich leicht als Calciumcarbonat erweisen lässt.

Diese Umsetzung solcher Krystalle, welche durch ihre Form und Löslichkeit in Wasser schon ganz charakteristisch sind, in ein amorphes Pulver von kohlensaurem Kalk ist ein für Calciumcarbaminat ausserordentlich feines und sicheres Erkennungszeichen, welches nur den Nachtheil hat, dass zur

Bildung der Krystalle die grösste Reinheit der Lösung nothwendig ist. Dieselbe darf keine Substanzen enthalten, welche sich auch durch Alkoholzusatz ausscheiden, in diesem Falle bekommt man einen körnigen Niederschlag, welcher durchaus nicht charakteristisch ist.

Ich muss hier auch hervorheben, dass die beschriebenen Krystallformen dem reinen Calciumcarbaminat zukommen, das man durch Fällung einer Lösung von Ammoniumcarbaminat mittelst  $\text{Ca Cl}_2$  und Alkohol bekommt; man darf also nicht etwa annehmen, dass die einen vielleicht zu dem neutralen Salz gehörten, die anderen zu dem hypothetischen basischen  $\text{OH-Ca-O-CO-NH}_2$ .

Diesen Nachweis mit Hülfe der Krystallform habe ich in folgender Weise ausgeführt. Um unter günstigen und möglichst constanten Bedingungen zu arbeiten, verwandte ich immer 50 ccm. auf  $0^\circ$  abgekühlter Lösungen. Diese wurden mit einer auf Eis gekühlten Kalkmilch im Ueberschuss versetzt, 10 Minuten in geschlossenem Gefäss tüchtig geschüttelt, wobei man beobachten muss, dass die Temperatur eine niedrige bleibt, dann mit einigen Tropfen einer kalten zehnpromcentigen  $\text{Ca Cl}_2$ -Lösung versetzt,<sup>1)</sup> noch einige Minuten geschüttelt, während einer halben Stunde auf Eis gebracht und in 3 Volumen auf  $0^\circ$  abgekühlten Alkohol filtrirt. Der Rückstand wurde sofort in geringer Menge starker Ammoniakflüssigkeit (2—5 ccm.) verrieben, möglichst durch dasselbe Filter in ein Reagensglas filtrirt, abgekühlt und mit 3 Volumen kalten Alkohols versetzt. Nach einer halben Stunde wurde der Niederschlag unter das Mikroskop gebracht und geprüft.

Auf diese Weise wurden Resultate gewonnen, welche durchaus mit den obenerwähnten stimmen, also:

1. Neutrales Ammoniumcarbonat oder ein Gemisch von Ammoniumchlorid und Natriumcarbonat geben, mit Drechsel's Methode behandelt, erhebliche Mengen von Carbaminsäure.
2. Dasselbe gilt für Ammoniumbicarbonat oder ein Gemisch von reinem Natriumbicarbonat und Ammoniumchlorid.

---

<sup>1)</sup> In den meisten Fällen war dieser Zusatz als unnöthig weggelassen.

3. Eine wässrige Lösung von freier Kohlensäure und Chlorammonium gibt ganz ähnliche Resultate.
4. An Stelle von Ammoniumchlorid kann man andere Ammonsalze, wie z. B. das Nitrat, das Oxalat, das Acetat, gebrauchen. Das Sulfat eignet sich nicht hierzu, weil durch Alkoholzusatz neben dem Calciumcarbaminat noch Sulfat gefällt wird, wodurch die Krystallisation des ersten Salzes ganz verhindert wird.

Die bis jetzt erwähnten Versuche waren mit concentrirten Salzlösungen ausgeführt. Da dieses den physiologischen Verhältnissen nicht entspricht, so war es von Wichtigkeit, zu prüfen, inwiefern die gefundenen Thatsachen sich auch in verdünnten Lösungen beobachten liessen.

Zu diesem Zwecke wurden Ammoniumbicarbonatlösungen von den Concentrationen  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{200}$ ,  $\frac{1}{300}$  etc. dargestellt, daneben wurden Lösungen von entsprechenden Mengen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  benutzt. Diese Flüssigkeiten, von denen immer 50 ccm. verarbeitet wurden, gaben noch in Verdünnungen von  $\frac{1}{600}$  und noch weniger nicht unbeträchtliche Ausbeuten an carbaminsaurem Kalk. Da aber bei noch verdünnteren Flüssigkeiten die erhaltenen Mengen immer geringer werden, da andererseits das gewöhnliche Ammoniak, das zum Auflösen des ersten Niederschlages dient, schon für sich Spuren von carbaminsaurem Ammon enthält, so wurde auf weitere Verdünnung verzichtet.

Nun entspricht ungefähr eine  $\frac{1}{500}$  Ammoniumbicarbonatlösung dem gewöhnlichen Gehalt des menschlichen Harns an Ammoniak, so dass die früher mit concentrirten Lösungen beobachteten Thatsachen sich auch in Flüssigkeiten bestätigen liessen, deren Procentgehalt an Kohlensäure und Ammoniak sich innerhalb der physiologischen Grenzen bewegt.

Hier muss ich auf zwei Thatsachen Nachdruck legen:

1. Bei diesen grossen Verdünnungen war immer ein grosser Ueberschuss an Calciumhydrat gegenüber dem Ammonsalz vorhanden, so dass die Bedingungen des hypothetischen, von Drechsel angenommenen, basischen Salzes günstig waren. Trotzdem werden immer dieselben Krystalle von neutralem Carbaminat gefunden.

2. Wie oben erwähnt, enthält das starke Ammoniak, wie schon Drechsel beobachtete, stets geringe Mengen Kohlensäure, welche als Carbaminat gebunden ist. Man kann sich von dieser Thatsache leicht überzeugen, indem man einige Cubikcentimeter der kalten Ammoniakflüssigkeit mit wenigen Tropfen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung versetzt, mit auf  $0^\circ$  abgekühltem Alkohol vermischt und auf Eis stehen lässt. Nach einiger Zeit findet man spärliche Krystalle von Calciumcarbaminat. Reine, concentrirte Ammoniakflüssigkeit darzustellen, welche keine Spur von Kohlensäure enthalten würde, ist ausserordentlich schwierig, und wäre das erreicht, so ist es noch nicht ausgeschlossen, dass während der Manipulation Kohlensäure aus der Respirationsluft absorbiert wird. Da andererseits in der Methode von Drechsel der erste Niederschlag grösstentheils aus Kalkhydrat besteht, so wird das gesammte Carbaminat der Ammoniakflüssigkeit in Calciumsalz übergeführt werden. Deshalb scheint es mir nothwendig, immer Kontrollversuche zu machen, bei welchen dieselben Mengen Ammoniakflüssigkeit mit gelöschtem Kalk unter den gleichen Bedingungen verrieben werden wie der untersuchte Niederschlag.

Die quantitative Bestimmung des Calciumcarbaminats, welches bei obigen Versuchen gefunden war, lässt sich, wie schon früher Untersucher erfahren haben, leider nicht ausführen. Die Resultate sind sehr schwankend und werden besonders durch Temperaturerhöhung schädlich beeinflusst. Im Sommer ist es unter den gewöhnlichen Bedingungen fast unmöglich, mit Carbaminsäure zu arbeiten. Da diese Arbeit grösstentheils bei wärmerer Lufttemperatur ausgeführt wurde, so musste ich auf die quantitativen Bestimmungen ganz verzichten. In zwei Fällen aber, wo, wie gewöhnlich, nicht quantitativ gearbeitet worden war, schien mir die erhaltene Menge des Salzes zu einer Wägung auszureichen. Das Salz, welches mikroskopisch rein war, ohne Beimengung eines anderen Niederschlages, wurde auf gewogenem Filter als  $\text{CaCO}_3$  tarirt.

So waren einmal aus 50 ccm. einer Lösung von 0,06645 gr.  $\text{NH}_4$ , durch welche während  $\frac{1}{4}$  Stunde Kohlensäure durch-

geleitet wurde, 0,0058 gr.  $\text{CaCO}_3$  erhalten, entsprechend 0,0098  $\text{Ca}(\text{CO}_2 \text{NH}_2)_2 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$  oder 0,00197 gr.  $\text{H}_3\text{N}$ , so dass 9,13 % des in  $\text{NH}_4\text{Cl}$  vorhandenen Ammoniaks in dem carbaminsauren Salze sich wiederfanden. Aus einer Lösung von 0,06645 gr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , mit der äquivalenten Menge von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  vermischt, habe ich ein anderes Mal durch dasselbe Verfahren 0,007 gr.  $\text{CaCO}_3$  gewogen, entsprechend 0,00238 gr.  $\text{H}_3\text{N}$ , das ist 11,05 % des in  $\text{NH}_4\text{Cl}$  vorhandenen Ammoniaks. In den beiden Fällen könnte nur ein geringer Theil aus der ammoniakalischen Flüssigkeit entstanden sein, wie Kontrollversuche zeigten. Woher auch das Salz entsteht, ist, bezüglich des Werthes der Methode, gleichgültig, das Endresultat ist allein zu betrachten.

Diese Gewichtsprocente müssen als minimal angenommen werden, da sie durch Zufall in einem nicht quantitativen Versuch gewonnen wurden. Höhere Zahlen würde man sicher bekommen, wenn man unter den günstigsten Bedingungen grössere Mengen verwendete. Ich muss jedoch bekennen, dass die erhaltenen Mengen öfters viel geringer sind.

Die oben citirten Resultate scheinen mir verhältnissmässig sehr hoch zu sein, so hoch, dass man ein Recht hat, zu fragen, in welchem Maasse die Carbaminsäure, welche durch das Drechsel'sche Verfahren in physiologischen Flüssigkeiten nachgewiesen wurde, schon vor der Behandlung in der Flüssigkeit präexistirte und selbst, ob sie überhaupt vorher vorhanden war.

In seiner Kritik der ersten Arbeit von Drechsel hatte Hofmeister Folgendes bemerkt: »Durch das Verfahren von Drechsel würden die für Carbaminsäure als charakteristisch gegebenen Reactionen überall da entstehen, wo kohlen-saure Salze in alkalischer Lösung mit Substanzen zusammentreffen, welche durch Alkalien leicht unter Ammoniakentwicklung zersetzt werden.« Die Bedenken, welche Hofmeister bezüglich der Löslichkeit des Calciumcarbonats in Alkalien erhoben hat, sind zwar von Drechsel gehoben worden, andererseits sind alle Ammoniak liefernden Substanzen oder selbst freies Ammoniak nicht in allen Fällen genügend, um das Entstehen von Ammoniumcarbaminat zu bewirken. Das beweisen Versuch I.

von Drechsel und II. von mir. Der Satz enthält aber doch viel Wahrheit, wie es meine Versuche gezeigt haben, und man könnte ihn auf folgende Weise verändern: Nicht nur die Reactionen, sondern das Calciumcarbaminat selbst wird bei Anwendung des Drechsel'schen Verfahrens da vorhanden sein, wo ein Ammoniumcarbonat in Lösung ist, oder wo freie Kohlensäure neben Ammonsalzen existirt.

Es muss auch bemerkt werden, dass der Methode die auf keine Weise bewiesene Annahme zu Grunde liegt, die Bedingungen für die Existenz des Calciumsalzes in wässriger Lösung seien ungefähr dieselben wie für das Ammoniumsalz. Dass dieses nur annähernd wahr ist, haben schon die früheren Versuche gezeigt. Das Calciumcarbaminat ist gegen Wasser viel empfindlicher, so dass es z. B. in folgendem Falle a priori durchaus nicht zu entscheiden ist, welche von zwei Lösungen die grösse Ausbeute an Carbaminsäure liefern würde, deren eine 1 gr. Ammoniumcarbaminat auf 1 Liter Wasser, während die andere 1 gr. doppeltkohlensaures Ammon und noch 10 gr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  auch auf 1 Liter Wasser enthält. Das Beispiel ist ganz willkürlich genommen und der Fall wird sich unter physiologischen Bedingungen nicht darbieten. Es ist nur gewählt, um zu zeigen, dass die Ausbeute an Carbaminsäure und überhaupt das Endresultat der Operationen von secundären Factoren abhängig sein kann, und dass wir nicht ohne Weiteres aus dem Werthe dieser Ausbeute einen direkten Schluss auf den Gehalt der Flüssigkeit an carbaminsaurem Ammon ziehen dürfen, auch in dem Falle, wo in beiden Flüssigkeiten das Ammonsalz präexistirte.

Der Schluss ist, dass wir jetzt keine Methode besitzen, um den Gehalt einer Flüssigkeit an Carbaminsäure zu bestimmen, wenn letztere in Form ihrer Ammoniaksalze vorhanden ist. Nur wenn die Säure als Kalkverbindung in der Flüssigkeit gelöst ist, kann sie bestimmt werden, und zwar durch direkte Fällung mittels Alkohols in der Kälte.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Es ist kaum zu denken, dass Calciumcarbaminat in physiologischen Flüssigkeiten, welche alkalisch reagiren und Kohlensäure ent-

Ob eine genaue und ganz einwandfreie Methode zu finden ist, ist mir sehr fraglich, praktisch kaum zu hoffen. Andererseits verliert die Frage »Ist Carbaminsäure in einer physiologischen Flüssigkeit vorhanden oder nicht?« nach der oben citirten den grössten Theil ihres Interesses. Mir scheint, dass das Vorkommen von Ammoniumcarbaminat durch die allgemeinen Gesetze der Gleichgewichtszustände erläutert werden muss, und eine specielle physiologische Herkunft dieses Salzes ist mir sehr fraglich. Jedenfalls darf man nicht aus den bisher vorliegenden Versuchen auf eine solche Herkunft schliessen. Ob sie überhaupt vorhanden ist, lasse ich dahingestellt, dies müssen spätere Untersuchungen entscheiden.

Es ist jetzt bewiesen, dass eine wässerige Lösung von neutralem Ammoniumcarbonat Carbaminat enthält, dass durch Zusatz von Ammoniak und wahrscheinlich auch durch Temperaturerniedrigung die Menge des Carbaminats auf Kosten des Carbonats vergrössert wird, dass das entgegengesetzte geschieht durch Temperaturerhöhung und Kohlensäurezufuhr. »Dass freie Kohlensäure und freies Ammoniak in alkalischer wässriger Lösung sich immer zu carbaminsaurem Ammon binden«, wie Drechsel behauptet, ist durchaus nicht bewiesen, denn eine wässerige Lösung von reinem Ammoniumbicarbonat reagirt schon alkalisch.

Was in der Lösung entstehen wird, hängt von den Mengenverhältnissen und von der Temperatur ab. Leiten wir Kohlensäure in starkes Ammoniak, so werden wir Anfangs reines, oder besser fast reines Ammoniumcarbaminat bekommen, in Gegensatz dazu wird doppeltkohlensaures Ammon entstehen durch Einleiten von Ammoniakgas in eine concentrirte Lösung von Kohlensäure in Wasser; zwischen diesen beiden Grenzen wird man Gemische von neutralem Salz mit carbaminsaurem oder mit saurem bekommen. —

---

halten, gelöst werden kann, denn es sollte, wenn neutrale Carbonate vorhanden sind, durch Doppelzersetzung gefällt werden:

