

# Ueber eine neue zuverlässige Methode zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure im Harne.

Von

Dr. **Adolf Jolles**,

Docent am k. k. technologischen Gewerbemuseum in Wien.

Mit einer Abbildung.

---

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. Max und Dr. Adolf Jolles in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 12. Februar 1900.)

---

Die wegen ihrer Einfachheit vielfach angewendete Methode von Heintz, welche auf der Ausfällung der Harnsäure mit Salzsäure beruhte, hat heute wohl nur noch ein historisches Interesse, nachdem wir wissen, dass diese Methode ganz unzuverlässige Resultate liefert und bei geringen Harnsäurequantitäten überhaupt nicht anwendbar erscheint.<sup>1)</sup> Auch die massanalytischen Methoden von J. B. Haycraft<sup>2)</sup> und F. Czapek,<sup>3)</sup> welche im Wesentlichen auf der Fällung ammoniakalisch gemachten Harnes mit Silberlösung beruhen (nur mit dem Unterschiede, dass Haycraft das Silber in dem Niederschlage nach Volhard bestimmt, während Czapek den in Lösung verbliebenen Rest einer zum Füllen der Harnsäure verwendeten bekannten Silbermenge titrimetrisch bestimmt), sind zur Bestimmung der Harnsäure im Harne nicht geeignet.

---

1) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, S. 31.

2) Die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harne, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1886.

3) Eine Methode zur massanalytischen Bestimmung der Harnsäure im Harne. Von F. Czapek, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 502.

nachdem wir heute wissen, dass durch die ammoniakalische Silberlösung ausser der Harnsäure auch die sogenannten Xanthinkörper gefällt werden. Hingegen hat sich die ursprünglich von Salkowski in Vorschlag gebrachte<sup>1)</sup> und später von E. Ludwig erfolgreich modificirte Methode<sup>2)</sup>, — welche im Wesentlichen auf der Isolirung der Harnsäure als Silbermagnesiumsalz, Zersetzung des Niederschlages mit Schwefelnatrium, Abfiltrirung der ausgeschiedenen Harnsäure durch Glaswolle, Trocknen und Wägen beruht — als eine exacte und verlässliche Methode bewährt. Wer jedoch Gelegenheit hatte, die Harnsäure im Harne nach der Salkowski-Ludwigschen Methode wiederholt zu bestimmen, wird sicherlich mit mir darin übereinstimmen, dass diese Methode für die Zwecke der Praxis zu umständlich und zeitraubend ist.

Einfacher in der Ausführung ist das Verfahren von Hopkins, nach welchem die Harnsäure aus dem gefällten Ammonurat durch Salzsäure in Freiheit gesetzt, und diese entweder gewogen oder ihre Menge durch Titiren mit Permanganat ermittelt wird. Von dieser Methode hat Hopkins<sup>3)</sup> später eine Abkürzung vorgeschlagen, welche darin besteht, dass man den Ammonuratniederschlag mit Ammonsulfatlösung bis zur Chlorfreiheit auswäscht, hierauf den Niederschlag in heissem Wasser und einigen Tropfen Soda-lösung löst und auf 100 cem. auffüllt. Nach Zusatz von 20 cem. concentrirter Schwefelsäure wird auf 60° C. erwärmt und mit  $\frac{1}{20}$ -Normalpermanganatlösung titrit, bis die Rosafärbung in einigen Secunden verschwindet. Jeder Cubikcentimeter dieser Lösung entspricht 3,75 mg Harnsäure. Dem Endresultate ist 1 mg Harnsäure für je 15 cem. der gemessenen Mutterlauge hinzuzufügen.

Diese titrimetrische Bestimmung der Harnsäure gibt nach den von mir durchgeführten Kontrollanalysen bei reinen Harnsäurelösungen sehr befriedigende Resultate. Anders gestalten

1) Leube und Salkowski, Die Lehre vom Harn, S. 96.

2) Wiener medicinische Jahrbücher, S. 97, 1884.

3) The Journal of Patholog and Bacteriolog, June 1893, S. 458.

sich die Verhältnisse bei Bestimmung der Harnsäure in Harnen, wo ich die Harnsäure durch Titration nach Hopkins und durch Wägen der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig bestimmt habe. Ich erhielt in der Regel nach Hopkins etwas höhere Resultate: was aber besonders bei der Hopkin'schen Methode auffällt, ist die Thatsache, dass bei zahlreichen, namentlich pathologischen Harnproben das Ende der Reaction absolut nicht sicher zu erkennen war, und in solchen Fällen übersieht man selbst sehr leicht den Endpunkt und titrirt über. Auch nach G. von Ritter<sup>1)</sup> erscheint die Titrirung des Ammonurats nach Hopkins unsicher und überdies gibt Ritter als Coefficienten zur Berechnung der Harnsäure aus der Permanganatlösung nicht 3,75, sondern 3,61 mg Harnsäure an. Eine beachtenswerthe Modification erfuhr die Hopkins'sche Methode von O. Folin.<sup>2)</sup> Derselbe constatirte zunächst die Richtigkeit des von Hopkins vorgeschlagenen Coefficienten von 3,75 mg Harnsäure auf 1 cem.  $\frac{1}{20}$ -Normalpermanganatlösung und bestätigte auch die völlige Unlöslichkeit des Ammonurates in einer gesättigten Chlorammonlösung. Jedoch fand Folin, dass durch die Hopkin'sche Correctur ein Fehler eingeführt wird, da die Löslichkeit der Harnsäure in salzsäurehaltigem Wasser grösser ist: die Correctur beträgt nicht 1 mg Harnsäure auf 15 cem. Mutterlauge, sondern 3 mg für Mutterlauge und Waschwasser. Die weiteren Versuche Folin's ergaben, dass die Harnsäure im Harne auch vollkommen durch Ammoncarbonat, Ammonsulfat oder Ammonacetat gefällt werden kann, wodurch der störende Einfluss der Chloride bei der Titration mit Permanganat ausser Betracht kommt und das Auswaschen des Niederschlages mit Ammonsulfat schneller erfolgt. Ich habe auch nach dieser Methode eine Reihe von quantitativen Harnsäurebestimmungen durchgeführt, und zwar sowohl mit reinen Harnsäurelösungen als auch mit der aus verschiedenen normalen und pathologischen Harnen abgetrennten Harnsäure und bin hierbei zu dem Ergebnisse

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 288.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, S. 224—225.

gelangt, dass auch die Hopkins-Folin'sche Methode in vielen pathologischen Fällen im Vergleiche zu der Ludwig-Salkowski'schen Methode etwas zu hohe Resultate liefert. Die Ursache dieser Differenz ist darauf zurückzuführen, dass einerseits der Endpunkt der Titration in mannigfachen Fällen schwierig zu erkennen ist, sodass ein Mehrzusatz von  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{3}{4}$  ccm. einer  $\frac{1}{20}$ -Normalpermanganatlösung leicht erfolgen kann, andererseits ist es nicht ausgeschlossen, dass bei der Abscheidung der Harnsäure im Harne mit essigsauerm Ammon zuweilen auch geringe Mengen anderer Harnsubstanzen mitgefällt werden, welche mit Permanganat oxydirbar sind. Aus meinen zahlreichen vergleichenden Harnsäurebestimmungen, die ich nach dieser und der Ludwig-Salkowski'schen Methode ausgeführt und deren Ergebnisse ich an anderer Stelle dieser Arbeit angeführt habe, geht mit Sicherheit hervor, dass zwar die Hopkins-Folin'sche Methode bei reinen Harnsäurelösungen und bei verdünnten normalen Harnproben sehr befriedigende Resultate liefert, dass jedoch in vielen — namentlich pathologischen — Fällen die Resultate im Vergleiche zu der Ludwig-Salkowski'schen Methode zu hoch ausfallen, so dass diese Methode nicht in allen Fällen jene Verlässlichkeit bietet, die wir von einer exacten Methode verlangen müssen.

Wenn wir berücksichtigen, dass die Einwirkung der Permanganatlösung auf Harnsäure nach der Hopkins-Folin'schen Methode keineswegs einer einfachen Oxydationsgleichung zwischen diesen beiden Körpern entspricht, sondern dass dies Verhältniss nur auf empirischen Wege ermittelt wurde, so lag die Frage nahe, ob nicht durch Aenderung der Oxydationsbedingungen aus der Harnsäure Substanzen resultiren können, die den Process in chemischem Sinne besser verfolgen und die Methode auf einer verlässlicheren Basis aufbauen lassen können. Zur Entscheidung dieser Frage habe ich die Einwirkung von Oxydationsmitteln auf Harnsäure einem eingehenden Studium unterworfen, und es ist mir in der That gelungen, eine neue Methode ausfindig zu machen, welche die Bestimmung der Harnsäure im Harne in einfacher, exacter und verlässlicher Weise gestattet.

Bevor ich jedoch auf diese Methode des Näheren eingehe, gestatte ich mir zunächst die Ergebnisse meiner systematisch durchgeführten Oxydationsversuche bekannt zu geben, da dieselben geeignet erscheinen, einerseits eine Reihe von Angaben, die sich in der Litteratur vorfinden, richtig zu stellen, andererseits einen Beitrag zur Kenntniss der Harnsäure zu liefern.

## Experimenteller Theil.

### I. Quantitative Bestimmung der Harnsäure in reinen Harnsäurelösungen und in diversen Harnproben nach der Hopkins-Folin'schen Methode.

#### a) Versuche mit reiner Harnsäure.

Zu den nachfolgenden Versuchen benutzte ich eine Harnsäure, die durch Umkrystallisiren rein erhalten worden war. Die Harnsäure wurde durch Wasser abgeschieden, säurefrei gewaschen, dann mit Alkohol und Aether nachgewaschen und bei 120° C. getrocknet. Von der so erhaltenen Säure wurde nun eine Lösung von bekanntem Gehalte hergestellt, indem 4 g Harnsäure unter Zusatz von etwas chemisch reiner Natronlauge gelöst, und die Lösung mit destillirtem Wasser auf einen Liter aufgefüllt wurde.

Titer der verwendeten Permanganatlösung:

1 cem.  $\text{KMnO}_4 = 0,0027238$  g Eisen = 3,648 mg Harnsäure.  
(Nach Folin ist 1 cem. n/20- $\text{KMnO}_4 = 0,0028$  g Eisen = 3,75 mg Harnsäure).

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, dass abgemessene Mengen der alkalischen Harnsäurelösung mit 50 cem. Wasser verdünnt, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirt, dann nach Zusatz von 15 cem. concentrirter Schwefelsäure (spec. Gew. 1,84) mit der Permanganatlösung vorschriftsmässig solange titirt wurden, bis ein Tropfen der Permanganatlösung in der Lösung eine deutliche Rothfärbung hervorrief. Der Endpunkt der Reaction liess sich deutlich erkennen. Bei jedem Versuche wurden 2 Titrationsen ausgeführt und aus den Resultaten das Mittel gezogen. Die Resultate waren folgende:

Laufende Nummer	Angewandt Harnsäure in mg	Gefunden Harnsäure in mg
1	50 mg	50,016 mg
2	50 »	50,122 »
3	50 »	50,016 »
4	75 »	75,048 »
5	75 »	75,060 »
6	75 »	75,126 »
7	100 »	100,028 »
8	100 »	100,101 »
9	100 »	100,247 »
10	100 »	100,035 »

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass Harnsäure in reinen Harnsäurelösungen durch Titration mit Permanganat vollkommen quantitativ bestimmt werden kann.

*b) Versuche mit normalen und pathologischen Harnproben.*

In der nachstehenden Tabelle sind eine Reihe von Harnsäurebestimmungen angeführt, die ich nach der Ludwig-Salkowski'schen Methode und nach der Folin'schen Methode in verschiedenen Harnproben ausgeführt habe. Die Bestimmung der Harnsäure nach Folin geschah wie folgt: 100 ccm. Harn wurden mit 10 g essigsauerm Ammon versetzt und dann Ammoniak tropfenweise unter Umrühren solange hinzugefügt, bis der Harn einen schwach ammoniakalischen Geruch zeigte. Nach 3stündigem Stehen wurde filtrirt, der Niederschlag mit einer gesättigten Lösung von kohlensaurem Ammon chlorfrei gewaschen, was in der Regel nach 6 bis 8maligem Waschen erreicht war, dann der Niederschlag mit etwa auf 80° C. erwärmtem destillirten Wasser vom Filter in ein Becherglas gespült, mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert, mit 15 ccm. concentrirter Schwefelsäure vom specifischen Gewicht 1,845 versetzt und mit einer ca. 1/20-Normalpermanganatlösung titirt.

Titer der Permanganatlösung:

1 ccm. = 0,0027239 g Eisen = 3,648 mg Harnsäure.

Es wurde nun in 20 Harnen die Harnsäure je zweimal nach dem beschriebenen Folin'schen Verfahren und ebenso wieder paarweise nach Ludwig-Salkowski bestimmt und in der nachstehenden Tabelle aus den Doppelbestimmungen das Mittel angeführt.

Es wurde pro Liter Harn Harnsäure in Gramm gefunden:

	Art der Harn	Harnsäure in Gramm nach Folin	Harnsäure in Gramm nach Ludwig- Salkowski	Differenz in Gramm	Differenz in Procenten
1	Normaler Harn . . . . .	0,4458	0,4271	0,0187	4,19
2	Normaler Harn . . . . .	0,4934	0,4732	0,0202	4,09
3	Normaler concentrirter Harn (Spec. Gew. 1,0285)	0,6059	0,5730	0,0329	5,43
4	Normaler concentrirter Harn (Spec. Gew. 1,029)	0,5392	0,5160	0,0232	4,30
5	Normaler Harn . . . . .	0,5618	0,4840	0,0778	13,85
6	Normaler verdünnter Harn . (Spec. Gew. 1,016)	0,2783	0,2690	0,0093	3,34
7	Normaler verdünnter Harn . (Spec. Gew. 1,014)	0,2548	0,2472	0,0076	2,99
8	Normaler verdünnter Harn . (Spec. Gew. 1,0175)	0,3129	0,3059	0,0070	2,20
9	Normaler Harn . . . . .	0,4378	0,4160	0,0218	4,98
10	Normaler concentrirter Harn (Spec. Gew. 1,032)	0,7413	0,6858	0,0555	7,49
11	Fieberharn . . . . .	0,7551	0,6720	0,0831	11,00
12	Fieberharn . . . . .	0,6129	0,5783	0,0346	5,63
13	Fieberharn . . . . .	0,8632	0,7828	0,0804	9,19
14	Eiweissarn . . . . .	0,6275	0,5439	0,0836	13,32
15	Diabetikerharn . . . . .	0,4359	0,3968	0,0391	8,97
16	Diabetikerharn . . . . .	0,4454	0,3722	0,0732	16,43
17	Ictericer Harn . . . . .	0,3502	0,3181	0,0321	9,17
18	Harn eines Typhuskranken . (Diazo-Reaction positiv, Spuren von Albumin und Nucleoalbumin)	0,6129	0,5780	0,0349	5,69
19	Harn eines Nephritikers . .	0,4870	0,4695	0,0175	3,59
20	Harn nach einem Gichtanfälle	0,7134	0,6394	0,0740	10,37

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kommen zwar in einzelnen Fällen die Resultate nach Folin den Ergebnissen nach Ludwig-Salkowski ziemlich nahe, in der Mehrzahl der Fälle jedoch fallen die Resultate nach Folin stets höher aus, als die nach Ludwig-Salkowski, und zwar ist die Differenz um so grösser, je concentrirter der Harn ist. Wenn wir berücksichtigen, dass der Verlust, welchen man bei der Ludwig-Salkowskischen Methode hat, nach Ludwig's eigener Angabe nur 2% beträgt, so kann das relativ erhebliche Plus an Harnsäure, welches nach der Folin'schen Methode namentlich in concentrirten und pathologischen Harnen gegenüber der Ludwig-Salkowskischen Methode resultirt, wohl nur darauf zurückgeführt werden, dass entweder der Folin'sche Harnsäuretiter für die aus den Harnen abgeschiedene Harnsäure etwas zu hoch ist, oder dass durch den Zusatz des essigsäuren Ammons auch geringe Mengen anderer organischer Substanzen mitfallen, die durch Permanganat ebenfalls oxydirt werden.

Nach Folin's Untersuchungen kommen bei der Harnsäurefällung von den Xanthinbasen weder Xanthin und Hypoxanthin, noch Guanin in Betracht. Nach meinen Versuchen, auf die ich an anderer Stelle noch zurückkommen werde, dürften die Xanthinbasen überhaupt nicht das Plus an Permanganat bedingen. Welche Harnsubstanzen den störenden Factor bei der titrimetrischen Harnsäurebestimmung im Harn nach Folin bilden, ist vorläufig nicht bekannt, jedenfalls aber steht die Thatsache fest, dass die Folin'sche Methode in Harnen in der Regel etwas zu hohe Resultate liefert.

Der Umstand nun, dass die aus dem Harn abgeschiedene Harnsäure nach erfolgter Oxydation mit Permanganat bis zur Rothfärbung noch weiter oxydationsfähig erscheint, indem die Rothfärbung in manchen Fällen nach einigen Minuten, häufig aber schon nach einer halben Minute verschwindet, welche Erscheinung beim Erwärmen sofort eintritt, hat mich veranlasst, die Oxydation in weitergehendem und stärkerem Maasse durchzuführen, zu dem Zwecke, um festzustellen, ob sich nicht das Endoxydationsprodukt für die quantitative Harnsäurebestimmung geeigneter erweisen würde.

Um nun bei diesen Versuchen nicht mit zu grossen Flüssigkeitsmengen arbeiten zu müssen, wurden die weiteren Oxydationsversuche nicht mit  $n/20$ -Permanganatlösung, sondern mit einer Permanganatlösung, die im Liter 8 g  $\text{KMnO}_4$  enthielt, also mit einer ca.  $n/4$  Permanganatlösung durchgeführt. Bei der jeweiligen Einwirkung von Permanganat auf Harnsäure resultirte in allen Fällen ein Körper, der mit Bromlauge relativ viel Stickstoff entwickelte. Um nun die Stickstoffentwicklung quantitativ zu verfolgen, wurden eine Reihe von Versuchen mit Hilfe des Harnstoffapparates von Hüfner durchgeführt. Der Vorgang bei den diesbezüglichen Versuchen war folgender:

### I. Oxydationsversuche mit Permanganat.

Eine alkalische Harnsäurelösung von bekanntem Gehalte an Harnsäure wurde mit Schwefelsäure angesäuert und mit einem Ueberschuss an Permanganatlösung in der Kochhitze oxydirt. Die Oxydation wurde als beendet angesehen, sobald erst nach 10 bis 12 Minuten langem Kochen der letzte Permanganatzusatz verschwand, in welchem Falle die Flüssigkeit vollkommen klar, d. h. frei von unoxydirtter Harnsäure erscheint. Zu den Versuchen diente eine vollkommen chemisch reine Harnsäure, deren N-Gehalt  $33,33\%$  N betrug.

Versuch 1. 50 ccm. einer alkalischen Harnsäurelösung enthielten 0,1494 g Harnsäure. Die verwendete Harnsäure, bezogen von einer hiesigen chemischen Fabrik, enthielt  $33,33\%$  N (Mittel von 3 Analysen). Diese Lösung wurde in oben angegebener Weise oxydirt, dann auf 100 ccm aufgefüllt und die N-Bestimmung im Hüfner'schen Apparate durchgeführt. Der von mir benutzte Hüfner'sche Apparat fasste genau 7,218 ccm; demzufolge entsprechen 7,218 ccm. des Oxydationsproduktes 0,010789 g Harnsäure = 0,003577 g N; gefunden wurden 3,0 ccm N bei 735 mm Barometerstand und  $13^\circ \text{C}$ .

Das N-Volumen — auf  $0^\circ$  und 760 mm Barometerstand reducirt — beträgt 2,82 ccm. N, entsprechend 3,4419 mg Stickstoff.

Vorausgesetzt, dass bei der in der beschriebenen Weise durchgeführten Oxydation der Harnsäure kein N-Verlust statt-

findet, entsprechen 7,218 cem. der Oxydationsflüssigkeit 0,01078 g ursprünglicher Harnsäure. Nun sind volumetrisch 3,52793 mg N. oder auf N in der Harnsäure umgerechnet 32,73% N, statt 33,33% gefunden worden.

Versuch 2. Derselbe Versuch wiederholt ergab 3,1 cem. N oder auf N in der Harnsäure umgerechnet 33,72% N.

Aus diesen Versuchen darf wohl der Schluss gezogen werden, dass thatsächlich der gesammte N der verwendeten Harnsäure wiedergefunden wird, denn das geringe Plus oder Minus an N, welches aus den bei den beiden Versuchen erhaltenen Zahlen ersichtlich ist, lässt sich wohl nur darauf zurückführen, dass erstens bei einem so kleinen Volumen ein geringer Fehler in der Ablesung einen — in Procenten ausgedrückt — relativ erhöhten Fehler bedingt, und dass zweitens nach Einwirkung von Bromlauge auf das saure Oxydationsprodukt ein flockiger Niederschlag von Manganoxydulhydrat ausfällt, der in das Endiometerrohr theilweise aufsteigt und die absolut correcte Ablesung verhindert.

#### **Ueber den Verlauf der Reaction bei Einwirkung von Permanganat auf Harnsäure.**

Bevor ich an die Ausarbeitung des Oxydationsverfahrens zur quantitativen volumetrischen Bestimmung der Harnsäure herangetreten bin, habe ich zunächst versucht, den Verlauf des Oxydationsprocesses festzustellen.

Zur Entscheidung der Frage, ob bei der Oxydation der Harnsäure mit Permanganat irgend welche N-Verbindungen entweichen, habe ich zunächst reine Harnsäurelösungen von bestimmtem N-Gehalte in der beschriebenen Weise mit Permanganat oxydirt und den N im Oxydationsprodukte bestimmt. Ich erlaube mir einen solchen Versuch anzuführen:

0,5076 g Harnsäure wurden mit Wasser aufgeschlämmt, mit 10 cem. concentrirter Schwefelsäure versetzt, hierauf mit concentrirter Permanganatlösung unter Erwärmen so lange oxydirt, bis der letzte Permanganatzusatz nach ca. 10 Minuten langem Kochen verschwunden ist.

Hierauf wurde die Flüssigkeit etwas eingeengt, mit 1

Tropfen Quecksilber und 10 cem. concentrirter Schwefelsäure versetzt und nach ca. zweistündigem Kochen der N-Gehalt nach Kjeldahl in bekannter Weise bestimmt.

In der oxydirten Harnsäure gefunden 33,22<sup>0</sup>/<sub>100</sub> N. Der N-Gehalt der reinen Harnsäure beträgt 33,33<sup>0</sup>/<sub>100</sub> N.

Hieraus geht also hervor, dass bei der Oxydation der Harnsäure mit Permanganat in saurer Lösung ein N-Verlust nicht erfolgt. In der Annahme, dass bei dem in Rede stehenden Oxydationsprocesse sich möglicher Weise schwefelsaures Ammon bilden könne, zumal in der Litteratur sich Angaben finden, welche diese Ansicht hervorrufen könnten, habe ich versucht, in dem Endoxydationsprodukte etwa vorhandenes schwefelsaures Ammon durch Destillation mit Lauge quantitativ zu bestimmen. Die durchgeführten Versuche ergaben zwar, dass bei der Destillation des Endoxydationsproduktes der Harnsäure mit Lauge sich thatsächlich etwas Ammoniak entwickelt, jedoch lange nicht in der Menge, als dem N-Gehalte der Harnsäure entsprechen würde. Ich lasse nachfolgend die Ergebnisse eines derartigen Versuches folgen.

50 cem. von einem Harnsäure-Oxydationsprodukt, entsprechend 0,3314 g Harnsäure, wurden mit 50 cem Lauge versetzt, destillirt, und das Destillat in titrirter Schwefelsäure aufgefangen. Die vorgelegten Cubikcentimeter Schwefelsäure entsprachen

9,31 cem. Lauge und

1 cem Lauge = 0,025708 g KOH.

Zurücktritirt wurden: 7,02 cem. Kalilauge.

Bei einem zweiten Versuche 7,23

    dritten 7,81

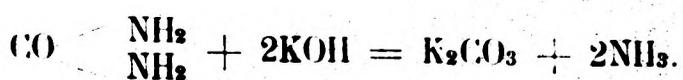
    vierten 7,48

Im Mittel: 7,37 cem. Kalilauge. Somit wurden 9,31 weniger 7,37 = 1,94 cem. Kalilauge, resp. die dieser Menge entsprechende Säuremenge zur Bindung des Ammoniaks verbraucht. Nun entsprechen: 1,94 cem. Kalilauge = 0,04987 g KOH = 0,01247 g N: diese Stickstoffmenge ist aber nur 3,74<sup>0</sup>/<sub>100</sub> der Harnsäure = ca. 11<sup>0</sup>/<sub>100</sub> des Stickstoffs. Nachdem in der Harnsäure 33,33<sup>0</sup>/<sub>100</sub> N enthalten ist, so ist thatsächlich nur ein sehr

kleiner Theil der Harnsäure, ca.  $\frac{1}{9}$  des Stickstoffs, in Ammoniak übergeführt worden.

Erwähnenswerth erscheint hierbei die Thatsache, dass man bei Einhaltung gleicher Bedingungen in Bezug auf Kochdauer und Zusatz von Lauge resp. Concentration der Lösung für ein und dieselbe Menge des Endoxydationsproduktes der Harnsäure nahezu die gleichen N-Mengen im Destillate findet.

Die obigen Destillationsversuche wurden natürlich — da es sich für mich um die Bestimmung des Ammoniaks in dem vorhandenen schwefelsauren Ammoniak handelte — genau in der Weise durchgeführt, wie es bei der Kjeldahl'schen Methode üblich ist. Wurde jedoch der Rückstand neuerdings mit destillirtem Wasser verdünnt und gekocht, so entwickelte sich wiederum Ammoniak. Sobald der Inhalt des Kolbens eine für weiteres Kochen zu hohe Concentration erreicht hat, wurde abermals mit Wasser verdünnt und gekocht, wobei wiederum Ammoniak-Entwicklung auftrat. Diese Manipulation wurde nun so oft wiederholt, bis keine Spur von Ammoniak mehr wahrgenommen werden konnte, was für die in Verwendung genommene Harnsäuremenge resp. deren entsprechendes Oxydationsprodukt nach ca. 13 bis 14 stündigen Kochen eingetreten ist. Alsdann konnte in dem Rückstande keine Spur von N mehr nachgewiesen werden. Die langsame und ziemlich gleichmässige Abspaltung von Ammoniak bei den Destillationen lässt darauf schliessen, dass das Ammoniak eben erst während der Destillation durch die Einwirkung der Lauge auf den Harnstoff entsteht.



Aus den angeführten Versuchen geht zunächst die Thatsache hervor, dass bei der Oxydation der Harnsäure in saurer Lösung mit Permanganat von einer quantitativen Bildung von schwefelsaurem Ammon nicht die Rede sein könne, nachdem bei der üblichen Destillation nur 11,3% N des Harnsäure-N gefunden wurden. Des Weiteren zeigen die Versuche, dass der N des Endoxydationsproduktes der Harnsäure quantitativ in Ammoniak — bei Einhaltung bestimmter Bedingungen —

übergeführt werden kann. Letztere Methode hat aber nur ein theoretisches Interesse, nachdem die zur vollständigen Ueberführung in Ammoniak erforderliche Zeit eine relativ sehr grosse ist, ganz abgesehen von der sonstigen Umständlichkeit des Verfahrens.

Die Thatsache, dass bei der Oxydation der Harnsäure in saurer Lösung mit Permanganat kein schwefelsaures Ammon entsteht, wurde auch dadurch erwiesen, dass zu dem unter Kühlung alkalisch gemachten und filtrirten Oxydationsprodukte Nessler'sches Reagens hinzugefügt wurde. Hierbei entstand keine für Ammoniak charakteristische Färbung resp. Niederschlag, sondern es konnte nur das Auftreten eines hellgelben Niederschlages beobachtet werden, wie solcher nach Zusatz von Nessler'schem Reagens zu einer Harnstofflösung entsteht. Letztere Beobachtung steht zwar im Widerspruche mit den in der Litteratur gemachten Angaben, dass Harnstoff in saurer Lösung durch Permanganat unter Bildung von Kohlensäure, Ammoniak und Stickstoff<sup>1)</sup> zersetzt wird: einschlägige Versuche ergaben jedoch die Unrichtigkeit dieser Angaben, indem eine mit Schwefelsäure angesäuerte Harnstofflösung selbst beim Kochen durch Permanganat nicht oxydirt wird. Wurde ein Theil des Oxydationsproduktes der Harnsäure mit zwei bis drei Tropfen Furfurol und etwas Salzsäure versetzt, so trat nach 5 bis 10 Minuten eine deutliche Violettfärbung auf, welche Reaction bei einer mit Schwefelsäure angesäuerten Harnstofflösung in gleicher Weise verläuft. Des Weiteren wurde zur Feststellung der Identität des Endoxydationsproduktes ein Theil desselben mit salzsaurem Phenylhydrazin versetzt, zwei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt und auskrystallisiren gelassen. Gleichzeitig wurde ein Parallelversuch mit einer Harnstofflösung von entsprechendem Gehalt an Harnstoff, schwefelsaurem Mangan und freier Schwefelsäure durchgeführt, indem diese Lösung nach Zusatz von Phenylhydrazin ebenfalls 2 Stunden am Wasserbade gekocht und erkalten gelassen wurde. Die ausgeschiedenen Krystalle zeigten in beiden Fällen die gleiche

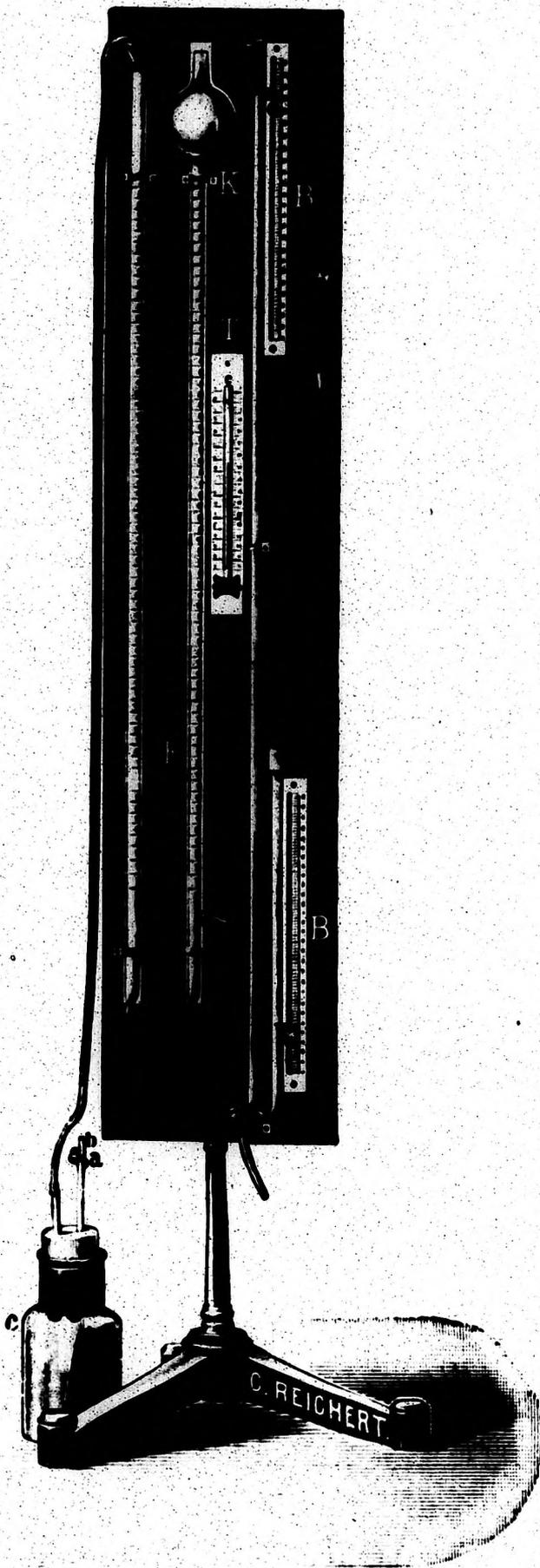
---

1) Béchamp, Jahresber. f. Ch. 1856. 696.

Krystallform wie Phenylsemicarbazid und ergaben einen Schmelzpunkt, der zwischen 172–173° C. lag. Nunmehr wurde ein anderer Theil des Endoxydationsproduktes mit dem gleichen Volumen 96%igen Alkohols versetzt, nach zweistündigem Stehen von der Hauptmenge des abgeschiedenen schwefelsauren Manganoxyduls abfiltrirt, die freie Schwefelsäure, sowie der Rest der vorhandenen Sulfate mit Chlorbaryum gefällt, abfiltrirt, das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft, mit etwas concentrirter Salpetersäure versetzt, einige Minuten erwärmt und dann stehen gelassen. Nach mehrstündigem Stehen fielen Krystalle aus, die sich als identisch mit denen des salpetersauren Harnstoffes erwiesen.

Aus den obigen Versuchsergebnissen geht zweifellos hervor, dass das Endoxydationsprodukt aus Harnstoff besteht, und ich war nunmehr bemüht, den quantitativen Verlauf des Processes festzustellen. Zu diesem Zwecke wurden genau abgewogene Harnsäuremengen in der bereits beschriebenen Weise oxydirt, nach beendeter Oxydation concentrirte Lauge portionsweise hinzugefügt, wobei man nach jedesmaligem Zusatze der Lauge das Gefäss behufs Abkühlung in ein Becherglas mit kaltem Wasser stellt. Zum Schlusse setzt man einen geringen Ueberschuss an Lauge hinzu, was mit Lackmuspapier leicht zu constatiren ist. In dem alkalischen Oxydationsprodukte wurde nun der Harnstoff mit Bromlauge volumetrisch bestimmt. Da der Hüfner'sche Apparat aus den bereits angegebenen Gründen sich für die N-Bestimmungen im vorliegenden Falle nicht eignete, habe ich zu diesen Versuchen den Knop'schen Azotometer herangezogen. Einige Vorversuche mit diesem Apparate machten jedoch die Verwendung eines in mehreren Punkten modificirten Apparates nothwendig (Fig. 1). Zunächst musste ein Schüttelgefäss von bedeutend grösserem Volumen (ca. 330 ccm.), ebenso ein grösseres Gefäss zur Aufnahme der Bromlauge (ca. 50 ccm.) verwendet werden. Des Weiteren habe ich auf dem Hals des Schüttelgefässes einen doppelt durchbohrten Stopfen derart anbringen lassen, dass der Stopfen nur etwa zur Hälfte in den Hals hineinragt; durch jede der beiden seitlich angebrachten Bohrungen geht ein Glasrohr, dessen

Enden entsprechend aufgebogen sind. Diese Einrichtung bezweckt, dass beim Schütteln keine Flüssigkeit in die Glas-



röhren resp. in den Verbindungsschlauch gelangt. Das obere Ende des einen Rohres ist mit einem kurzen Schlauch und gut schliessendem Quetschhahn versehen, um den beim Schliessen des Stopfens entstehenden Ueberdruck ausgleichen zu können; das andere Rohr ist mittelst eines dichten Schlauches mit dem einen Massrohr verbunden. Die beiden Massröhren sind an einem Wandgestell derart angebracht, dass sie behufs eventueller Reinigung herausgenommen, doch jederzeit in die ursprüngliche Lage genau zurückgebracht werden können. Zur genauen Ablesung sind beide Röhren in  $\frac{1}{100}$  ccm. getheilt, derart, dass je 2 entsprechende Theilstriche in einer Horizontallinie liegen, überdies ist der Hintergrund der Röhren matt geätzt.

Ferner ist an dem Apparate ein Thermometer, sowie ein Aneroid-Barometer für Ablesungen zwischen 730—760 mm. angebracht. Im Uebrigen ist die Arbeitsweise mit diesem

Apparate<sup>1)</sup> die gleiche, wie mit dem Knop-Wagner'schen Azotometer.

**Quantitative Bestimmungen mit reiner Harnsäure.**

Zu den vorliegenden Versuchen diente eine vollkommen chemisch reine Harnsäure, deren N-Gehalt 33,33% betrug.

Versuch I. 4,2978 g Harnsäure wurden in Wasser aufgeschlämmt, mit 60 ccm. Schwefelsäure (Dichte 1,4) angesäuert, hierauf mit einer concentrirten Permanganatlösung (6 g  $\text{KMnO}_4$  pro Liter) oxydirt und zwar derart, dass jedesmal ca. 5 ccm.  $\text{KMnO}_4$ -Lösung hinzugefügt wurden, bis der letzte Permanganat-Zusatz innerhalb  $\frac{1}{4}$  stündigen Kochens nicht mehr verschwand. Alsdann ist die Oxydation als beendet anzusehen und man lässt hierauf einige Tropfen einer verdünnten Oxalsäurelösung (ca. n/10) unter Umrühren so lange zufließen, bis die Lösung entfärbt ist oder eventuell einen schwachen röthlichen Stich noch zeigt. Das Oxydationsprodukt wurde hierauf in einen Literkolben gespült, dann portionsweise concentrirte N-freie Lauge hinzugefügt, nach jedesmaligem Zusatze von etwas Lauge gekühlt, zum Schlusse alkalisch gemacht und hierauf mit destillirtem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. Von dieser Lösung wurden verschiedene Quantitäten zur N-Bestimmung entnommen und überdies zur Kontrolle zweimal in je 100 ccm. der Harnstoff quantitativ als oxalsaurer Harnstoff nach der von Professor Gottlieb (Ueber die qualitative Bestimmung des Harnstoffes in den Geweben etc., Archiv f. exp. Path. und Pharmakolog. XLII, 238) und später von Freund und Töpfer (Ueber eine neue Methode der Harnstoffbestimmung im Harn, Wiener klinische Rundschau, S. 371. 1899) vorgeschlagenen Methode bestimmt.

Zu den N-Bestimmungen wurden entnommen:

a)	20 ccm. der Lösung;	dieselben lieferten	25,2 ccm. N bei	20° T. u.	754 mm. B
b)	25 » » » »	31,5 » »	20° »	754	
c)	40 » » » »	50,8 » »	20° »	754	
d)	20 » » » »	25,3 » »	20° »	754	
e)	20 » » » »	25,2 » »	20° »	754	

<sup>1)</sup> Der Apparat wird von dem optisch-mechanischen Institute von Carl Reichert in Wien hergestellt.

Aus obigen Bestimmungen berechnet sich für 20 cem. des Oxydationsproduktes im Mittel 25,2 cem. bei 20° T. und 754 mm. B. Auf 0° und 760 mm. B. reducirt, resultiren

**22,78 cem. N = 28,49994 mg N.**

(1 cem. N bei 0° und 760 mm. B. = 1,25104 mg N.)

Num enthalten 20 cem. des Oxydationsproduktes 0,085956 g Harnsäure, somit sind in 0,085956 g Harnsäure gefunden worden: 0,02849994 g N, also in 100 g Harnsäure = 33,15 g N.

Thatsächlich vorhanden sind 33,33% N: somit beträgt die Differenz 0,18%, d. h. es wird thatsächlich nach dem beschriebenen Oxydationsverfahren der gesammte N wiedergefunden, da die minimale Differenz nur auf geringe Ablesungsfehler zurückzuführen ist. Zu den Harnstoffbestimmungen wurden zweimal je 100 cem. des alkalisch gemachten Oxydationsproduktes entnommen und die quantitative Ueberführung des Harnstoffes in oxalsauren Harnstoff im Wesentlichen wie folgt durchgeführt:

100 cem. wurden mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert, eingeeengt, mit dem gleichen Volumen 95%igen Alkohols versetzt, nach ca. 12 Stunden die abgeschiedenen Salze filtrirt, mit Alkohol harnstofffrei gewaschen (Prüfung mit Furfurol und HCl), der Alkohol auf dem Wasserbade abgedunstet und der Rückstand mit einer gesättigten ätherischen Oxalsäurelösung versetzt. Nach 12stündigem Stehen wurde filtrirt, mit Aether oxalsäurefrei gewaschen und in dem Rückstande von oxalsaurem Harnstoff der N nach Kjeldahl bestimmt.

Gefunden 0,01434 g N.

angewendet 0,4298 g Harnsäure.

gefundener N in Procenten 33,35%.

berechneter N 33,33%.

Versuch H. 3,2460 g Harnsäure wurden in gleicher Weise oxydirt und das Oxydationsprodukt auf 500 cem. aufgefüllt. Es ergaben:

13,4 cem. der Lösung	25 cem. N	bei 18,5° C.	und 744 mm. B.
20,1	37,8	18,5°	744
6,7	12,62	18,5°	744
13,4	25,21	18,5°	744
13,4	25,19	18,5°	744

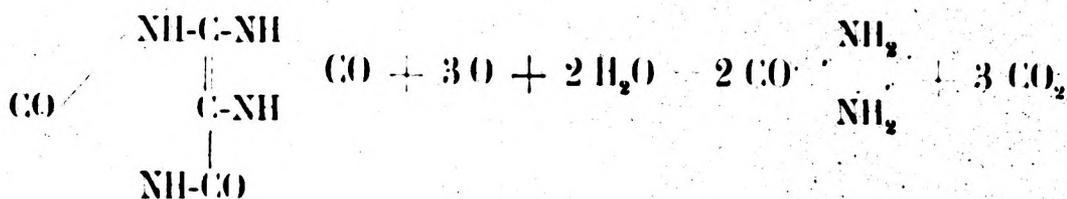
Im Mittel lieferten:

13,4 ccm. der Lösung 25,208 ccm. N bei 18,5° C. und 744 mm. B., oder auf 0° und 760 mm. B. reducirt 23,144 ccm. N = 28,9541 mg N. Nun enthalten 13,4 ccm. der Lösung 0,086992 g Harnsäure: es ergeben somit 0,086992 g Harnsäure 0,0289541 mg N, d. i. 33,28 % statt 33,33 %.

Nach diesen Versuchen ist es zweifellos, dass die Harnsäure bei der Oxydation mit Permanganat in der von mir angegebenen Weise quantitativ in Harnstoff übergeführt wird, sofern die Säureconcentration einen gewissen Grad nicht übersteigt und dieser auf volumetrischem Wege genau bestimmt werden kann.

Der hierbei stattfindende Oxydationsprocess besteht in einer gleichzeitigen Einlagerung von Wasser und einer oxydativen Zerstörung des Complexes der 3 mittleren Kohlenstoffatome. Versucht man, sich den Verlauf nacheinander vorzustellen, so muss man zuerst die Bildung von Harnstoff und dem hypothetischen Mesoxalhalbalddehyd  $\text{CO} = \text{C}(\text{OH}) - \text{COOH}$  annehmen, welcher letzterer dann sogleich zu Kohlensäure weiter oxydirt wird.

Das Endergebniss der Oxydation lässt sich durch folgende Gleichung ausdrücken:



Bei der Einfachheit und Exactheit der Methode war es nun naheliegend, die Brauchbarkeit derselben für die Bestimmung der Harnsäure im Harne einer eingehenden Prüfung zu unterziehen.

Vorerst wurden eine Reihe von Versuchen angestellt, um festzustellen, welches Verfahren am geeignetsten sei, die Harnsäure aus dem Harne möglichst rein, also auch frei von Xanthinbasen, abzuscheiden. Meine Versuche erstreckten sich auf die Abscheidung der Harnsäure mittelst Chlorammons und schwefelsauren Ammons in verschiedenen Harnproben; die Resultate waren jedoch nicht gleichmässig befriedigende. Hin-

gegen hat sich das von Folin in Vorschlag gebrachte essigsaure Ammon in jeder Hinsicht bewährt, da einerseits die in Harnen hauptsächlich in Betracht kommenden Xanthinbasen nicht gefällt, andererseits Eiweiss und Zucker die Fällung der Harnsäure gar nicht beeinflussen. Ueberdies ist nach dem Versetzen des Harnes mit essigsaurem Ammon die Harnsäure in der Regel nach 2 $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen vollkommen abgeschieden.

Ich gestatte mir nunmehr auf Grund zahlreicher vergleichender Versuche die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in folgender Ausführung zu empfehlen.

Es werden — je nach der Concentration des Harnes — 50—200 ccm. Harn zur Bestimmung der Harnsäure verwendet. Die Methode gestattet, auch schon in 50 ccm. Harn den Gehalt an Harnsäure genau quantitativ festzustellen, jedoch empfiehlt es sich, bei stark verdünnten Harnen 100—200 ccm. Harn für die Bestimmung zu verwenden. Der Harn soll klar sein, daher müssen Urate durch Erwärmen in Lösung gebracht, etwaige sonstige suspendirte Bestandtheile durch Filtration entfernt werden. Je nach der verwendeten Harnmenge setzt man 5—20 g festes, essigsaures Ammon hinzu, rührt mit einem Glasstabe bei Zimmertemperatur so lange um, bis sich das essigsaure Ammon gelöst hat, was in der Regel in wenigen Minuten erfolgt. Hierauf fügt man zu dem Harn vorsichtig einige Tropfen Ammoniak hinzu, bis die Flüssigkeit einen schwachen Ammoniakgeruch zeigt. Ein grösserer Ammoniakzusatz hat zwar auf die Fällung der Harnsäure keinen Einfluss, es empfiehlt sich aber ein Mehrzusatz an Ammoniak aus dem Grunde nicht, weil die ausgefällten Phosphate die Schnelligkeit der Filtration beeinträchtigen und das nachherige Auswaschen des Niederschlages umständlicher von Statten geht.

Nunmehr lässt man den Inhalt des Becherglases 2 $\frac{1}{2}$  bis 3 Stunden stehen, während welcher Zeit mit dem Glasrohr öfters ungerührt wird. Hierauf wird filtrirt, am besten durch ein Schleicher'sches Filter, und der Niederschlag mit einer gesättigten Lösung von kohlensaurem Ammon ausgewaschen. Vorerst muss aber auch das Becherglas mit kohlensaurem

Ammon wiederholt ausgespült und diese Flüssigkeit durch das Filter gegossen werden, damit der gesammte Harnsäureniederschlag quantitativ auf das Filter gebracht werde. Um nun die letzten Spuren des Harnsäureniederschlages aus dem Becherglase zu entfernen, benützt man mit Vorthail einen Glasstab mit Gummikappe, mit dessen Hilfe die Wände des Becherglases mit der kohlensauren Ammonlösung abgespült werden. Sobald der gesammte Niederschlag sich auf dem Filter befindet, wird derselbe mit kohlensaurem Ammon so lange ausgewaschen, bis eine mit Salpetersäure angesäuerte Probe des Filtrates auf Zusatz von Silbernitratlösung keine Chlorreaction zeigt, was in der Regel nach 6—8maligem Auswaschen erreicht ist. Hierauf breitet man das Filter auf ein entsprechend grosses Uhrglas aus, spritzt den Niederschlag mit warmem Wasser quantitativ in ein Becherglas, fügt alsdann behufs Entfernung des überschüssigen kohlensauren Ammons und des an der Harnsäure gebundenen Ammons ca.  $\frac{1}{10}$  g (bei Verwendung von 200 cem. Harn etwa  $\frac{2}{10}$  g) chemisch reine (also N-freie) Magnesia hinzu, erhält das Ganze unter wiederholtem Umrühren etwa eine halbe bis dreiviertel Stunden im Kochen und überzeugt sich von der Abwesenheit des Ammoniaks, indem man etwas befeuchtetes rothes Lackmuspapier den Dämpfen aussetzt. Tritt keine Spur einer Blaufärbung ein, dann ist sämmtliches Ammoniak entwichen. Nunmehr wird der Inhalt des Becherglases, welcher circa 3—400 cem. beträgt, mit 10 cem. reiner Schwefelsäure (1,4 Dichte) angesäuert und nach erfolgter Lösung des Magnesiumoxyds cubikcentimeterweise Permanganatlösung (etwa 8 g  $\text{KMnO}_4$  pro Liter) unter andauerndem Erwärmen zugesetzt. Bei dieser Operation wird das Becherglas mit einem passenden Uhrglas bedeckt, um bei der eintretenden Kohlensäureentwicklung Verluste durch Spritzen zu vermeiden; der allmähliche Zusatz der Permanganatlösung während des Kochens erfolgt daher am besten so, dass man mittelst einer Pipette die Permanganatlösung längs der Wand des Becherglases hinzufließen lässt. Die ersten Cubikcentimeter Permanganat verschwinden in der Regel schnell, später tritt die Entfärbung langsamer ein; als beendet

ist die Reaction anzusehen, wenn nach  $\frac{1}{4}$ stündigem anhaltenden Erwärmen resp. mässigem Kochen der letzte Permanganatzusatz nicht mehr verschwindet. Bei Verwendung von 100 cem. Harn genügen nach den bisherigen Versuchen in der Regel 5—10 cem. der Permanganatlösung von oben angegebener Concentration. Der nach circa  $\frac{1}{4}$ stündigem Kochen verbleibende Permanganatrest wird vortheilhaft durch tropfenweisen Zusatz von Oxalsäurelösung entfernt. Nunmehr lässt man das Becherglas durch Einstellen in kaltes Wasser erkalten, bringt in das Gefäss etwas Lackmuspapier und fügt hierauf concentrirte Lauge cubikcentimeterweise unter weiterem Kühlen und Umrühren so lange vorsichtig hinzu, bis das Lackmuspapier alkalische Reaction anzeigt. Hierauf wird der Inhalt des Becherglases quantitativ in das Schüttelgefäss C des Azotometers gespült, dann gibt man in das kleine Hartgummigefäss 20—25 cem. Bromlauge<sup>1)</sup>, und bringt dieses Gefäss am besten mittelst einer Pincette so vorsichtig in das Schüttelgefäss hinein, dass keine Vermengung der beiden Flüssigkeiten statt hat. Nunmehr füllt man die Maassröhren mit Wasser, setzt den Gummistopfen, der durch einen Vacuumschlauch mit dem einen Maassrohr verbunden ist, so auf das Schüttelgefäss, dass die Lage des Stopfens sich bei dem später zu erfolgenden Schütteln des Gefässes nicht ändern kann, da dies einen Fehler in der Bestimmung nach sich ziehen würde. Sobald beide Flüssigkeitssäulen in den Röhren dasselbe Niveau zeigen, wird das freie Schlauchende *b* am Gummistopfen durch einen passenden Quetschhahn *a* vorsichtig geschlossen und hierauf der Wasserstand im Maassrohr genau abgelesen. Hierauf wird das Schüttelgefäss so geneigt, dass beide Flüssigkeiten sich mischen, wobei sofort eine lebhafte Gasentwicklung eintritt. Man lässt alsdann in dem Maasse, als die Flüssigkeit in dem einen Rohre steigt, durch das unten mit Quetschhahn versehene Ausflussrohr Wasser so abfliessen, dass das Wasser in diesem Rohre um 1 bis 2 cem. höher steht, als in dem anderen

1) 80 g Natronhydrat und 25 g Brom pro Liter.

Rohre. 1) Sobald die starke Gasentwicklung etwas nachgelassen hat, schüttelt man das Gefäss durch einige Minuten mit der Vorsicht, dass die beiden aufgebogenen Glasenden entgegengesetzt dem Flüssigkeitsspiegel sich befinden, wobei man zweckmässig das Gefäss, um jede Erwärmung von aussen zu vermeiden, an dem um den Hals des Gefässes angebrachten Gummiringe festhält. Sobald keine Gasentwicklung mehr wahrnehmbar ist, was in der Regel nach ca. 5 Minuten der Fall ist, überlässt man das Schüttelgefäss durch ca. 10 Minuten der Ruhe, nach welcher Zeit der Temperaturausgleich erfolgt. 2) Nunmehr stellt man das Wasser in den Röhren auf gleiches Niveau ein und liest den Wasserstand ab. 3) Die Differenz zwischen den vor dem Beginn und nach dem Abschlusse des Versuches constatirten Ablesungen ergibt die Anzahl der entwickelten Cubikcentimeter Stickstoffgas. Man liest hierauf Temperatur und Barometerstand ab und entnimmt aus der — der Bequemlichkeit wegen an dem Apparate angebrachten — Tabelle das Gewicht eines Cubikcentimeters N bei der abgelesenen Temperatur und Barometerstand. Dieses Gewicht, mit der Anzahl der entwickelten N multiplicirt, ergibt die Milligramme Stickstoff, diese mit 3 multiplicirt (100 Theile Harnsäure enthalten 33,33 Theile N) ergibt die Milligramme Harnsäure in der zur Untersuchung entnommenen Harnmenge, woraus sich der Harnsäuregehalt pro Liter Harn einfach berechnen, resp. aus einer Tabelle direkt entnehmen lässt.

Beispiel: Aus 100 cem. Harn wurde die Harnsäure abgeschieden, der Niederschlag in der angegebenen Weise oxydirt, und der Stickstoff im Oxydationsprodukte volumetrisch bestimmt.

N-Volumen . . . . 13,6 cem. bei 18° C u. 747 mm. B.  
 1 cem. N bei 18° C und 747 mm. B = 1,138 mg N.

1) Stellt man nach beendeter Gasentwicklung beide Flüssigkeiten auf gleiches Niveau ein, so bildet sich nach erfolgter Abkühlung im Schüttelgefässe ein etwas luftverdünnter Raum, wodurch ein Niveauunterschied in beiden Röhren eintritt.

2) Versuche haben ergeben, dass selbst nach ½ stündigem weiteren Stehen die Differenz höchstens  $\frac{1}{10}$  cem. in der Ablesung beträgt, so dass ein 10 Minuten langes Stehen vollkommen genügt.

3) Nach beendigter Ablesung wird der Gummistopfen, ebenso das Schüttelgefäss, sorgfältig gereinigt.

Demnach sind 13,6 ccm. N = 15,4768 mg N, oder auf Harnsäure berechnet,

$15,4768 \times 3 = 46,4304$  mg Harnsäure in 100 ccm. Harn.  
Pro Liter Harn resultiren 0,4643 g Harnsäure.

Ich habe eine grosse Zahl von vergleichenden Harnsäure-Bestimmungen in diversen normalen und pathologischen Harnproben durchgeführt, und zwar nach der neuen volumetrischen Methode und nach den Methoden von Ludwig-Salkowski und Folin. Bei jeder Harnprobe wurde die Harnsäure je 2 mal nach der volumetrischen Methode und ebenso wieder paarweise nach Ludwig-Salkowski und Hopkins-Folin bestimmt und aus den Doppelbestimmungen das Mittel berechnet.

Die S. 245 wiedergegebene Tabelle enthält eine Reihe von Beleg-Analysen.

Um die Exactheit der volumetrischen Methode auch noch auf anderem Wege zu erweisen, wurden verschiedene Harnproben mit Natronlauge versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt und in einer abgemessenen Menge des Filtrates die Harnsäure volumetrisch bestimmt. Hierauf wurde zu einer anderen abgemessenen Portion des alkalischen Harnes eine genau gewogene Menge einer absolut chemisch reinen Harnsäure hinzugefügt, die Harnsäure durch Umrühren in Lösung gebracht, alsdann wiederum mit essigsäurem Ammon abgeschieden, oxydirt und der N volumetrisch bestimmt.

Versuch I. Die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in 100 ccm. eines alkalisch gemachten Harnes ergab:

13,3 ccm. N bei 20° C. und 744 B.

Zu 150 ccm. dieses alkalisch gemachten Harnes wurden hinzugefügt 0,1666 g Harnsäure.

In der aus diesen 150 ccm. Harn abgeschiedenen Harnsäure wurden gefunden:

61,8 ccm. N bei 20° C. und 744 mm. B.

1 ccm. N = 1,118 mg N.

Auf die zugesetzte Harnsäuremenge entfallen 61,8—13,3 = 48,5 ccm. N entsprechend 54,2230 mg N oder auf Harnsäure berechnet 0,162669 g Harnsäure. Im Filtrate des mit

Laufende Nummer	Harnsäure in g pro Liter nach Ludwig-Salkowski	Harnsäure in g pro Liter nach Hopkins-Folin	Volumetrische Methode						Bemerkungen
			Verwendete Harnmenge	N-Volumen in ccm.	Abgelesene Temperatur und Barometerstand		Harnsäure in g volumetrische Methode	Differenz der volumetrischen Bestimmung gegenüber Ludwig	
1	0,4732	0,4934	100 ccm.	13,6	18° C.	747 B.	0,4643	— 1,9°	
2	0,5748	0,7187	100 »	18,05	25½°	740 »	0,5883	+ 2,3 »	
3	0,3680	0,4359	100 »	11,5	18°	758 »	0,37793	+ 2,7 »	
4	0,5160	0,5392	100 »	15,28	18°	758 »	0,5240	+ 1,5 »	
5	0,3172	0,3502	100 »	9,4	19°	737 »	0,3129	— 1,3 »	
6	0,3169	0,3518	200 »	18,8	19°	737 »	0,3129	— 1,3 »	
7	0,4163	0,4378	100 »	12,66	19°	737 »	0,4216	+ 1,3 »	
8	0,2904	0,3006	50 »	4,35	18°	740 »	0,2970	+ 2,3 »	
9	0,2690	0,2783	100 »	4,04	18°	740 »	0,2758	+ 2,5 »	
10	0,5733	0,6059	100 »	17,8	22°	754 »	0,5993	+ 4,5 »	
11	0,6729	0,7551	100 »	20,52	22°	754 »	0,6894	+ 2,4 »	Endpunkt nach Hopkins-Folin schwer zu erkennen.
12	0,5447	0,6275	100 »	27,33	21,5°	740 »	0,5720	+ 5,0 »	
13	0,3601	0,4454	100 »	11,00	21,5°	740 »	0,3633	+ 0,9 »	
14	0,4842	0,5136	100 »	14,62	20°	748 »	0,4930	+ 1,8 »	
15	0,5784	0,6129	100 »	17,6	19°	752 »	0,5988	+ 3,5 »	
16	0,8126	nicht bestimmt	50 »	12,16	18°	740 »	0,8304	+ 2,2 »	
17	0,7308		100 »	22,27	20°	748 »	0,7512	+ 2,8 »	
18	0,6946		100 »	21,00	23°	753 »	0,7064	+ 1,7 »	

essigsäurem Ammon zur Abscheidung der Harnsäure versetzten Harnes konnte nach dem Ansäuern mit Salzsäure und weiterem Zusatze von essigsäurem Ammon selbst nach mehrstündigem Stehen keine Spur einer Harnsäureabscheidung constatirt werden.

Versuch II. Die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in 100 ccm. eines alkalisch gemachten Harnes ergab: 11,2 ccm. N bei 18° und 747 mm. B.

Zu 100 ccm. dieses alkalisch gemachten Harnes wurden hinzugefügt 0,1046 g Harnsäure.

In der aus diesen 100 ccm. Harn abgeschiedenen Harnsäure wurden gefunden:

Harnsäure volumetrisch 42,3 ccm. N bei 18° C. und 747 mm. B.

Somit als Differenz des Stickstoffes gefunden:

31,1 ccm. bei 18° C. und 747 mm. B. =

$31,1 \times 0,003395 = 0,1055$  g Harnsäure

Thatsächlich zugefügt 0,1046 » »

Differenz 0,0009 g Harnsäure.

Aus vorstehenden Beleganalysen ergibt sich, dass die neue volumetrische Methode für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn vollkommen geeignet ist und an Exactheit von keiner der üblichen Methoden übertroffen wird.

Was die Differenzen der volumetrischen Methode gegenüber der Ludwig-Salkowski'schen Methode betrifft, so ist aus vorstehend angeführter Tabelle ersichtlich, dass meine Methode — wenn man das Mittel aus allen Differenzen zieht — gegenüber dieser ein Plus von 2% ergibt. Dies steht in vollständiger Uebereinstimmung mit Ludwig's eigener Angabe, dass nach seiner Methode von abgewogenen Harnsäuremengen ca. 2% der Bestimmung entgehen.

Die Formel für die Berechnung der Harnsäure aus dem abgelesenen N-Volumen lautet:

$$X = V \frac{3 (b-w) 1,2540}{760 (1 + 0,00366 t)}, \text{ wobei}$$

X die Harnsäuremenge in Milligrammen,

V die abgelesenen Cubikcentimeter Stickstoff,

b der Barometerstand,

t die Temperatur und

w die dieser Temperatur entsprechende Tension des Wasserdampfes bedeuten.

Zur Vereinfachung liegt dem Apparate nachstehende Tabelle<sup>1)</sup> bei, welche die Benützung der Formel überflüssig

1) Zwischen den in der Tabelle berücksichtigten Barometerständen und Temperaturen liegende Werthe können durch Interpolation leicht berechnet werden.

macht, indem man die Zahl der abgelesenen Cubikcentimeter mit dem Factor der Tabelle, welcher dem beobachteten Druck und Temperatur entspricht, multiplicirt und so direkt die Milligramme Harnsäure pro Liter Harn erhält.

Voraussetzung ist selbstverständlich, dass 100 ccm. Harn verwendet wurden. Würde eine andere Harnmenge — etwa  $n$  ccm. — in Arbeit genommen, so ist das Resultat mit  $\frac{100}{n}$  zu multipliciren.

Tabelle zur Harnsäurebestimmung.

1 ccm. Stickstoff entspricht g Harnsäure im Liter.

Bei Entnahme von 50 oder 200 ccm. sind die Zahlen mit 2 resp.  $\frac{1}{2}$  zu multipliciren.

Barometer-stand	10°	12°	14°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	25°
700	0,0330	0,0327	0,0324	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0313	0,0312	0,0310	0,0307
2	0,0331	0,0328	0,0325	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0313	0,0311	0,0308
4	0,0332	0,0329	0,0326	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0314	0,0312	0,0309
6	0,0333	0,0330	0,0327	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0318	0,0316	0,0315	0,0313	0,0310
8	0,0334	0,0331	0,0328	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0311
710	0,0335	0,0332	0,0329	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0311
2	0,0336	0,0333	0,0330	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0312
4	0,0337	0,0334	0,0331	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0313
6	0,0338	0,0335	0,0332	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0317	0,0314
8	0,0339	0,0336	0,0333	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0318	0,0315
720	0,0340	0,0337	0,0334	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0319	0,0316
2	0,0341	0,0338	0,0335	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0317
4	0,0342	0,0338	0,0335	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0318
6	0,0342	0,0339	0,0336	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0319
8	0,0343	0,0340	0,0337	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0320
730	0,0344	0,0341	0,0338	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0320
2	0,0345	0,0342	0,0339	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0321
4	0,0346	0,0343	0,0340	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0322
6	0,0347	0,0344	0,0341	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0323
8	0,0348	0,0345	0,0342	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0324
740	0,0349	0,0346	0,0343	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0325
2	0,0350	0,0347	0,0344	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0326
4	0,0351	0,0348	0,0345	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0327
6	0,0352	0,0349	0,0346	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0328
8	0,0353	0,0350	0,0347	0,0344	0,0342	0,0340	0,0339	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0329
750	0,0354	0,0351	0,0348	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0330
2	0,0355	0,0352	0,0349	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0331
4	0,0356	0,0353	0,0350	0,0347	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0332
6	0,0357	0,0354	0,0350	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0332
8	0,0358	0,0355	0,0351	0,0348	0,0347	0,0345	0,0343	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0333
760	0,0359	0,0356	0,0352	0,0349	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0334
2	0,0360	0,0356	0,0353	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0338	0,0335
4	0,0361	0,0357	0,0354	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0336
6	0,0362	0,0358	0,0355	0,0352	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0337
8	0,0363	0,0359	0,0356	0,0353	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0345	0,0343	0,0341	0,0338
770	0,0364	0,0360	0,0357	0,0354	0,0352	0,0351	0,0349	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0339