

## Ueber die Harnstoffbestimmung im Harn.

Von  
Dr. Al. Braunstein.

(Aus dem med.-chem. Laboratorium der Kaiserl. Univ. zu Charkow.)

(Der Redaction zugegangen am 4. November 1900.)

Im Jahre 1891 wurde von Mörner und Sjöqvist<sup>1)</sup> ein genaues und bequemes Verfahren für die quantitative Harnstoffbestimmung vorgeschlagen. Das Princip desselben besteht darin, dass die stickstoffhaltigen Bestandtheile des Harns, mit Ausnahme von Harnstoff, durch die Lösung von Baryumchlorid und Barythydrat unter Zusatz von Alkoholäther (1 : 2) ausgefällt werden. Die Lösung soll dann nur den Harnstoff und eine kleine Menge von Ammoniak enthalten, welche letzteres beim Eindampfen des Filtrats bei einer Temperatur, die 55° C. nicht übersteigen darf, unter Zusatz von Magnesiumoxyd verjagt wird. Der Stickstoffgehalt der Flüssigkeit wird schliesslich nach Kjeldahl's Verfahren bestimmt. E. Bödtker<sup>2)</sup> hat das Verfahren von Mörner-Sjöqvist geprüft, indem er dem Harn Ammoniaksalze, Hippursäure und Kreatinin zugesetzt und dann den Stickstoffgehalt nach Mörner-Sjöqvist bestimmt hat; der Zusatz der genannten Stoffe veranlasste dabei kein einziges Mal eine Stickstoffzunahme. Nach Bödtker soll das Verfahren von Mörner-Sjöqvist nach seiner Genauigkeit und bequemen Ausführung nichts zu wünschen übrig lassen. Doch haben S. Salaskin<sup>2)</sup> und J. Zaleski bei ihren Harnstoffbestimmungen

1) Diese Zeitschr., Bd. XVII, S. 140—146.

2) Diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 73—87. 1899.

im Harn eines Büffels nach Mörner-Sjöqvist's Verfahren zu grosse Zahlen (fast das Doppelte des in der That vorhandenen Harnstoffs) erhalten. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Rückstandes von dem eingedampften alkoholisch-ätherischen Filtrat fanden darin die Verfasser die Hippursäure. Durch diesen Befund veranlasst, haben Salaskin und Zaleski eine Modification des Mörner-Sjöqvist's Verfahren vorgeschlagen, welche darin besteht, dass die nach dem Eindampfen der Alkoholätherlösung erhaltene Flüssigkeit 3 Stunden lang in einem zugeschmolzenen Rohre bei 130—140° C. mit 4 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,124 erhitzt wird. Die nach dieser Modification erhaltenen Werthe stimmen mit den nach Schöndorf's<sup>1)</sup> Verfahren gefundenen gut überein. Auf Grund dieser Untersuchungen zogen Salaskin und Zaleski den Schluss, dass Mörner-Sjöqvist's Verfahren überhaupt keine genauen Werthe gibt und für die quantitative Harnstoffbestimmung im Harn von grasfressenden Thieren gar nicht brauchbar ist.

Bei den Bestimmungen der Grösse der Stickstoffausscheidung in dem Harn von Meerschweinchen und Kaninchen bei verschiedenen Nahrungszuständen habe ich das Mörner-Sjöqvist'sche Verfahren wegen seiner Genauigkeit und bequemen Ausführung allen anderen Methoden der Harnstoffbestimmung vorgezogen.<sup>2)</sup> Doch haben mich die Resultate, welche ich dabei erhalten habe (der Harnstoffstickstoff machte im Mittel etwa 96% der gesammten Stickstoffmenge aus), veranlasst, das Verfahren zu kontrolliren. Da der Harn der Meerschweinchen Hippursäure enthält, habe ich die Böttker'sche Untersuchung wiederholt, jedoch mit der Modification, dass die Hippursäure zur Harnstofflösung und nicht zum Harn, wie Böttker es machte, zugesetzt wurde.

Es wurden zwei Portionen zu 5 ccm. einer Harnstofflösung genommen, welche in 5 ccm. 0,07302 g des chemisch

1) Pflüger's Archiv, Bd. LXII, S. 1—57.

2) Die Salaskin-Zaleski'sche Arbeit war mir damals noch nicht bekannt.

reinen Harnstoffs oder 0,03408 g N enthielt. Zu der einen Portion wurden ungefähr 0,35 g und zu der anderen etwa 0,035 g Hippursäure zugesetzt: dann wurde der Harnstoffstickstoff nach Mörner-Sjöqvist bestimmt.

1. Vorlage 100 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. $H_2SO_4$ —	100,0 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. KOH
Titration . . . . .	57,5
	$42,5 \times 0,0014 = 0,05950$ g N.
2. Vorlage 100 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. $H_2SO_4$ —	100,0 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. KOH
Titration . . . . .	72,8
	$27,2 \times 0,0014 = 0,03808$ g N.

Die erste Portion enthielt 0,03408 g Harnstoffstickstoff, während die Bestimmung nach Mörner-Sjöqvist 0,05950 g N, d. h. 0,02542 g N mehr ergab. Die überschüssige Stickstoffmenge sollte durch die Zerlegung der Hippursäure gebildet werden.

Desgleichen wurden auch in der zweiten Portion anstatt der genommenen 0,03408 g Harnstoffstickstoff nach Mörner-Sjöqvist 0,03808 g N, d. h. 0,00400 g N mehr gefunden.

Es wurden zwei weitere Portionen zu 5 ccm. einer anderen Harnstofflösung genommen (5 ccm. der Lösung enthielten 0,10718 g Harnstoff oder 0,05002 g N). Die eine Portion wurde mit 0,2266 g und die andere mit 0,1182 g der chemisch reinen und getrockneten Hippursäure versetzt und der Stickstoff nach Mörner-Sjöqvist bestimmt.

1. Vorlage 100 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. $H_2SO_4$ —	100,0 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. KOH
Titration . . . . .	52,6
	$47,4 \times 0,0014 = 0,06636$ g N.
2. Vorlage 100 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. $H_2SO_4$ —	100,0 ccm. $\frac{1}{10}$ norm. KOH
Titration . . . . .	58,2
	$41,8 \times 0,0014 = 0,05852$ g N.

In beiden Portionen wurde nach Mörner-Sjöqvist mehr Harnstoffstickstoff gefunden und zwar: in der ersten um 0,01634 g mehr und in der zweiten um 0,00850 g mehr. Die Differenz entspricht gerade der zu der Harnstofflösung zugesetzten Hippursäuremenge; im ersten Versuche beträgt der Stickstoffgehalt der Hippursäure 0,01772 g N und im zweiten 0,00924 g N.

Es liegt auf der Hand, dass bei der Bestimmung des Harnstoffs nach Mörner-Sjöqvist die ganze der Harnstofflösung zugesetzte Hippursäure im ätheralkoholischen Filtrat zurückbleibt und dann bei der Erhitzung mit Schwefelsäure vollständig zersetzt wird. Dass die wässrige Lösung vom Barytsalz der Hippursäure durch die Mischung von Aether und Alkohol nicht gefällt wird, und dass somit die Hippursäure bei der Bearbeitung des Harns nach Mörner-Sjöqvist in die Alkoholätherlösung übergehen muss, habe ich dadurch bewiesen, dass ich 0,3 g hippursäuren Baryt in 10 ccm. Wasser gelöst und der Lösung 100 ccm. einer Alkoholäthermischung (2:1) hinzugesetzt habe: die Flüssigkeit blieb bis zum folgenden Tage stehen, wobei keine Spur von Niederschlag zu constatiren war.

Um den Fehler zu beseitigen, welcher bei der Bestimmung des Harnstoffs nach Mörner-Sjöqvist in Folge des Hippursäuregehaltes des Harnes entsteht, habe ich das Verfahren insofern modificirt, dass die wässrige Flüssigkeit, welche nach dem Eindampfen des alkoholätherischen Filtrats, unter Zusatz von Magnesiumhydroxyd nach Mörner-Sjöqvist, erhalten wird, mit der krystallinischen Phosphorsäure 4 1/2 Stunden lang bei einer Temperatur, die 150° C. nicht übersteigen darf, erhitzt wird. Bei dieser Temperatur wird die Hippursäure nicht zerlegt, wie es Schöndorf<sup>1)</sup> nachgewiesen und wie ich es bestätigt habe.

0,35 g resp. 0,02 g Hippursäure wurden mit je 10 g krystallinischer Phosphorsäure bei 140—145° C. 4 1/2 Stunden lang erhitzt. Die syrupartigen Flüssigkeiten wurden nach dem Erkalten mit Wasser verdünnt und das eventuell gebildete Ammoniak aus den mit der Kalilauge alkalisch gemachten Lösungen in die 1/10 normale Schwefelsäure überdestillirt.

1. Vorlage 50 ccm. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> — 50,0 ccm. 1/10 norm. KOH	
Titration . . . . .	49,8
	<hr/>
	0,2 × 0,0014 = 0,00028 g N.
2. Vorlage 50 ccm. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> — 50,0 ccm. 1/10 norm. KOH	
Titration . . . . .	49,9
	<hr/>
	0,1 × 0,0014 = 0,00014 g N.

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. LXII, S. 1—57.

Diese zwei Versuche weisen noch darauf hin, dass die von mir benutzte krystallinische Phosphorsäure kein Ammoniak enthielt.

Nun wurden je 5 cem. Harnstofflösung (0,7302 g des chemisch reinen Harnstoffs in 50 cem. Lösung) genommen und mit 10 g krystallinischer Phosphorsäure 4 1/2 Stunden lang bei 140—145° C. erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das gebildete Ammoniak bestimmt.

1. Vorlage 100 cem. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> —	100,0 cem. 1/10 norm. KOH
Titration . . . . .	75,7
	24,3 × 0,0014 = 0,03402 g N.
2. Vorlage 100 cem. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> —	100,0 cem. 1/10 norm. KOH
Titration . . . . .	75,7
	24,3 × 0,0014 = 0,03402 g N.

Im Mittel wurden somit 0,03402 g N gefunden, während 0,07302 g Harnstoff oder 0,03408 g N vorhanden waren.

Zwei Portionen zu 5 cem. derselben Harnstofflösung wurden mit je 5 Tropfen 10%iger Natriumphosphatlösung versetzt und in der Mischung wurde der Harnstoffgehalt nach dem ursprünglichen Verfahren von Mörner-Sjöqvist bestimmt.

1. Vorlage 100 cem. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> —	100,0 cem. 1/10 norm. KOH
Titration . . . . .	76,1
	23,9 × 0,0014 = 0,03346 g N.
2. Vorlage 100 cem. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> —	100,0 cem. 1/10 norm. KOH
Titration . . . . .	76,2
	23,8 × 0,0014 = 0,03332 g N.

Im Durchschnitt wurden 0,03339 g Harnstoffstickstoff gefunden. Die Differenz beträgt 0,00069 g N.

Es wurden zwei Portionen der Harnstofflösung genommen, die 0,10718 g Harnstoff in 5 cem. enthielt: 1. 5 cem. der Lösung wurden mit 0,4 g Hippursäure und 2. 2,5 cem. der Lösung mit 0,2 g Hippursäure versetzt. In den beiden Fällen wurde der Harnstoffgehalt nach dem von mir modificirten Verfahren bestimmt.

1. Vorlage 100 cem. 1/10 norm. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> —	100,0 cem. 1/10 norm. KOH
Titration . . . . .	64,5
	35,5 × 0,0014 = 0,0497 g N.

In der für den Versuch genommenen Lösung betrug der Harnstoffstickstoffgehalt 0,05002 g N, 0,04970 g N sind wiedergefunden. Differenz = 0,00032 g N.

2. Vorlage 100 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm.  $H_2SO_4$  — 100,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm. KOH  
 Titration . . . . . 82,3

$$17,7 \times 0,0014 = 0,02478 \text{ g N.}$$

Also 0,02501 g N genommen, 0,02478 g N gefunden.  
 Differenz = 0,00023 g N.

Aus den angeführten Versuchen folgt somit, dass der Zusatz von Hippursäure zur Harnstofflösung keinen Einfluss auf die Resultate der nach dem von mir vorgeschlagenen Verfahren ausgeführten Harnstoffbestimmungen hat.

Ich habe noch eine Parallelbestimmung des Harnstoffs nach dem Verfahren von Salaskin-Zaleski und nach dem meinigen ausgeführt.

Zu dem Zwecke wurden 30 ccm. Meerschweinchenharn mit 0,2 g Hippursäure versetzt, das nach Mörner-Sjöqvist erhaltene Alkoholätherfiltrat auf dem Wasserbade bei 50° C. unter Zusatz von Magnesiumhydroxyd eingedampft, die übrig gebliebene Flüssigkeit mit Wasser auf 50 ccm. verdünnt und von dieser Lösung zwei Portionen zu 5 ccm. für die Bestimmung des Harnstoffs nach dem von mir modificirten Mörner-Sjöqvist's Verfahren genommen.

1. Vorlage 100 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm.  $H_2SO_4$  — 100,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm. KOH  
 Titration . . . . . 86,2

$$13,8 \times 0,0014 = 0,01932 \text{ g N.}$$

2. Vorlage 100 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm.  $H_2SO_4$  — 100,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm. KOH  
 Titration . . . . . 86,1

$$13,9 \times 0,0014 = 0,01946 \text{ g N.}$$

Im Mittel 0,01939 g N.

In den dritten 5 ccm. wurde der Harnstoff nach Salaskin-Zaleski bestimmt.

Vorlage 100 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm.  $H_2SO_4$  — 100,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  norm. KOH  
 Titration . . . . . 86,4

$$13,6 \times 0,0014 = 0,01904 \text{ g N.}$$

Die nach beiden Methoden gefundenen Zahlen stimmen somit gut überein und die Differenz beträgt nur 0,00035 g N.

Die Harnstoffbestimmung wird nach dem von mir modificirten Verfahren auf folgende Weise ausgeführt:

5 ccm. Harn werden mit 5 ccm. einer Mischung von Baryumchlorid und Barythydrat und mit 100 ccm. Alkoholäther (2 : 1) gefällt und das Gefäß verschlossen. Am folgenden Tage wird die Flüssigkeit filtrirt, der Niederschlag 6—7 Mal mit etwa 50 ccm. Alkoholäther ausgewaschen und das Filtrat bei einer  $55^{\circ}$  C. nicht übersteigenden Temperatur eingedampft. Nach dem Verjagen von Aether und Alkohol wird etwas Wasser und eine Messerspitze Magnesiumoxyd zugesetzt und die Flüssigkeit weiter eingedampft, bis die Dämpfe keine alkalische Reaction mehr zeigen. Die bis auf 10—15 ccm. eingeeengte Flüssigkeit wird in einen kleinen Erlenmeyer'schen Kolben übergeführt, in welchen vorher 10 g krystallinische Phosphorsäure geschüttet sind.<sup>1)</sup> Das Gemisch wird in einem mit einem Thermoregulator versehenen Luftbad  $4\frac{1}{2}$  Stunden lang bei  $140$ — $145^{\circ}$  C. (nicht über  $150^{\circ}$  C.) erhitzt: die Verdampfung des Wassers nimmt nicht mehr als eine Stunde in Anspruch. Nach dem Erkalten wird der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung quantitativ in einen Kjeldahl'schen Destillationskolben übergeführt, mit Kalilauge alkalisch gemacht und das Ammoniak in die titrirte Schwefelsäure abdestillirt. Beim Zusatz von Kalilauge<sup>2)</sup> wird die Flüssigkeit nicht warm, wodurch ein Ammoniakverlust vermieden wird.

Auf Grund der von mir erzielten Resultate bin ich zu folgenden Schlüssen berechtigt:

1. Das Mörner-Sjöqvist'sche Verfahren ist für die quantitative Harnstoffbestimmung in Hippursäure enthaltenden Flüssigkeiten nicht brauchbar.

1) Da die krystallinische Phosphorsäure nicht immer und nicht überall zur Verfügung steht, versuchte ich dieselbe durch Acid. phosph. liquid. zu ersetzen und fand, dass dieselbe den Harnstoff ebenso gut und vollständig zerlegt wie die krystallinische Säure.

2) Es genügen dazu 60—70 ccm. der 28%igen Kalilauge, während bei der Bestimmung nach Mörner-Sjöqvist mit 20 ccm. Schwefelsäure 150 bis 160 ccm. Kalilauge verbraucht werden.

2. Die Angabe Bödtker's, dass die Hippursäure keinen Einfluss auf die Resultate der Harnstoffbestimmung nach Mörner-Sjöqvist's Verfahren hat, ist nach meinen Versuchen nicht verständlich.
3. Das von mir vorgeschlagene Verfahren der quantitativen Harnstoffbestimmung gibt richtige Resultate und kann, in Anbetracht seiner Einfachheit und Bequemlichkeit, einen gewissen Vorzug gegen die übrigen genauen Methoden der Harnstoffbestimmung haben, was besonders für die praktischen Ziele und für die in chemischen Manipulationen weniger geübten Untersucher von Wichtigkeit sein muss.

Zum Schluss halte ich es für eine angenehme Pflicht, dem Herrn Prof. Wl. Gulewitsch, unter dessen Leitung ich diese Arbeit ausgeführt habe, für seine Rathschläge meinen innigsten Dank auszusprechen.