

# Eine neue Methode zur Bestimmung der Harnstoffe im Harn.

Von  
**Otto Folin.**

Aus dem chemischen Laboratorium des «*Mc Lean Hospital*» für Irrenkranke,  
Waverley, Mass. U. S. A.)

(Der Redaction zugegangen am 4. Mai 1901.)

Da ich beabsichtigte, einige Stoffwechseluntersuchungen bei Irrenkranken anzustellen, habe ich Versuche unternommen, um eine Harnstoffbestimmungsmethode zu finden, die einfacher als die gebräuchlichen Methoden sein sollte, ohne diesen aber an Genauigkeit nachzustehen. Die zuverlässigen Verfahren zur Harnstoffbestimmung beruhen alle auf der hydrolytischen Spaltung des Harnstoffs in Kohlensäure und Ammoniak und der nachherigen Abdestillirung und Titrirung des letzteren. Aber trotz der ausserordentlichen Leichtigkeit, mit der diese Spaltung vor sich geht, ist dieselbe bloss eine theilweise und kann nur dann vollständig bewirkt werden, wenn die Zersetzung mehrere Stunden anhält. So fand vor Kurzem Pfaundler<sup>1)</sup> das 24stündige Kochen des Harns mit mehreren Volumina concentrirter Salzsäure ungenügend, um den im Harn enthaltenen Harnstoff zu zersetzen. Auch bei der Mörner-Sjöquist'schen und der Bunsen-Pflüger'schen bezw. der Pflüger-Gumlich'schen Methode der Harnstoffbestimmung im Harn wird 6—8stündiges Kochen mit grösseren Mengen 25%iger Natronlauge oder 3stündiges Erhitzen auf 230—260° mit 10 g Phosphorsäure benutzt, um etwa 0,1 g Harnstoff zu zersetzen.<sup>2)</sup> In der jüngst erschienenen Arbeit von Krüger

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 76.

<sup>2)</sup> Die Anwendung des Kjeldahl'schen Verfahrens dürfte wohl für die reine Harnstoffbestimmung nicht brauchbar sein. Vide Salaskin und Zaleski, diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 73.

und Schmidt<sup>1)</sup> wird 3—4 stündiges Erhitzen auf 160—180° mit 50%iger Schwefelsäure benützt, um den Harnstoff in Ammonsalze umzuwandeln. Nun bewirkt allerdings ein kurzes Ueberhitzen von Harnstoff mit Wasser allein bezw. mit verdünnten Säuren oder Alkalien nach den Angaben mehrerer Forscher die Spaltung des Harnstoffs ebenso vollständig wie die längere Einwirkung von kochenden concentrirten Laugen oder Säuren; doch ist wohl auch dieses Verfahren noch zu umständlich, um sich für klinische Zwecke allgemein einzubürgern.<sup>2)</sup>

Ein bequemes und zugleich kurzes Verfahren, die Spaltung des Harnstoffs in Ammoniak und Kohlensäure zu erreichen, ist mir in folgender einfacher Weise gelungen:

Krystallisirtes Magnesiumchlorid,  $MgCl_2, 6H_2O$ , schmilzt in seinem Krystallwasser bei 112—115° und die so erhaltene Lösung hat einen Siedepunkt von ca. 160°. Eine solche siedende Lösung bewirkt die quantitative Spaltung des Harnstoffs binnen einer halben Stunde. Das Experiment wird in folgender Weise ausgeführt: 3 ccm. Harnstofflösung wird in einer Erlenmeyer-Flasche von 200 ccm. Inhalt abgemessen: dieser wird 2 ccm. concentrirte Salzsäure (specifisches Gewicht 1,140) und 20 g Magnesiumchlorid zugesetzt. Ein Rückflussrohr von 10 mm. Innendurchmesser und 200 mm. Länge wird durch einen gut passenden Kork in die Flasche hineingesetzt, um einen Theil der Salzsäure bei dem Kochen zurückzuhalten. (Dieses kurze Rückflussrohr ist ganz unentbehrlich, da ohne dasselbe alle Salzsäure entweicht, das Magnesiumchlorid sich zersetzt und die Lösung alkalisch wird.) Die Mischung von Harnstofflösung, Salzsäure und Magnesiumchlorid wird nun für etwa

1) Die Bestimmung des Amidosäurenstickstoffes im Harn. Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 560.

2) Es sei mir übrigens gestattet, hier zu bemerken, dass die Methode von Cazeneuve und Hugounencq (vide Neubauer's und Vogel's Harnanalyse, 10. Aufl., S. 813) kaum genaue Resultate liefern kann, denn das Verfahren, den Harn durch Thierkohle neutral zu machen, bewirkt einen merklichen Verlust an Harnstoff, wie ich bei Anwendung reiner Harnstofflösungen gefunden habe.

10 Minuten ziemlich lebhaft gekocht, um das überschüssige Wasser zu entfernen. Man erkennt den Zeitpunkt, in dem dies erreicht ist, daran, dass die zurückfliessenden Tropfen von Wasser und Salzsäure ein deutliches Zischen bewirken, ganz wie wenn man Tropfen von concentrirter Schwefelsäure in warmes Wasser einfliessen lässt. Tritt dieses ein, so wird die Flamme kleiner gemacht und das Kochen in mässigerem Tempo für etwa 25—30 Minuten fortgesetzt. Die Reaction ist nun beendet. Ohne die Mischung abkühlen zu lassen, spült man nun vorsichtig Wasser (zuerst tropfenweise) durch das Glasrohr in die Flasche hinein. Man kann selbstverständlich auch den Inhalt der Flasche zuerst etwas abkühlen lassen. Ich habe es aber immer zweckmässiger gefunden, die heisse Mischung sogleich mit Wasser zu verdünnen, um das Ausfallen festen Magnesiumchlorids zu verhindern. Die so erhaltene Lösung wird in einen Literkolben gespült, mit Wasser bis zu etwa 500 ccm. verdünnt, eine Messerspitze voll Talcumpulver und 7—8 ccm. 20%iger Natronlauge zugesetzt. Das Ammoniak wird in bekannter Weise abdestillirt, in Zehntelnormalsäure aufgefangen und titrimetrisch bestimmt.

Es mag auffallend erscheinen, dass nur so geringe Mengen Natronlauge zugesetzt werden, um das Ammoniak auszutreiben, doch haben grössere Mengen den Nachtheil, dass sie einen grösseren Ueberschuss des schwerlöslichen Magnesiumhydrats ausfällen, wodurch dann das Kochen in Folge des Schäumens sehr erschwert wird, ohne dass die Austreibung des Ammoniaks schneller vor sich ginge. Das quantitative Abdestilliren des Ammoniaks bei Anwesenheit grösserer Mengen von Magnesiumchlorid geht übrigens immer etwas langsam.<sup>1)</sup> Eine Stunde bis 70 Minuten genügt aber immer, um alles Ammoniak abzutreiben.<sup>2)</sup> Da das Destillat immer bedeutende Mengen

1) T. Schlösing, Compt. rend., Bd. 103, S. 227—230.

2) Um dieses Abdestilliren etwas abzukürzen, könnte man wohl auch Calciumchlorid statt Magnesiumchlorid zur Zersetzung des Harnstoffs benutzen, doch scheint mir das etwas kürzere Kochen (15—20 Minuten) nicht Grund genug zu sein, um letzteres dem Magnesiumchlorid vorzuziehen.

Kohlensäure enthält, muss dasselbe vor der Titrirung aufgeköcht und dann abgekühlt werden.

Das Magnesiumchlorid des Handels ist nie ammoniakfrei und die Menge des Ammoniaks in 20 g. des angewandten Salzes muss gesondert bestimmt werden.<sup>1)</sup>

Der in den folgenden Versuchen angewandte Harnstoff war dreimal durch Alkohol umkrystallisirt, dann einmal aus Alkohol durch Aether gefällt und gewaschen, darauf einige Stunden an der Luft getrocknet und wurde schliesslich im Exsiccator über Schwefelsäure ein bis zwei Wochen aufbewahrt. Die Lösungen waren immer neutral gegen Lakmus wie auch gegen Rosolsäurelösungen.

Harnstofflösung I, **2,475** g Harnstoff in 100 ccm. enthaltend.

3 ccm. dieser Lösung, wie oben behandelt, neutralisirte **28,1** ccm.  $n_{10}$   $H_2SO_4$ . 20 g des angewandten Magnesiumchlorids enthielt **3,4** ccm.  $n_{10}$   $NH_3$ .

**28,1** ccm. — **3,4** ccm.  $n_{10}$   $NH_3$  = **24,7** ccm.  $n_{10}$   $NH_3$  = **2,47** % Harnstoff.<sup>2)</sup>

Harnstofflösung II, **2,015** g Harnstoff in 100 ccm. enthaltend.

3 ccm. ergab nach Abzug der Magnesiumchloridcorrectur **20,6** ccm.  $n_{10}$   $NH_3$  entsprechend **2,06** % Harnstoff. Das Laboratorium war am Tage dieses Versuches nicht ganz ammoniakfrei. Die Bestimmung, am folgenden Tage wiederholt, gab aus 3 ccm. Harnstofflösung **20,1** ccm.  $n_{10}$   $NH_3$  entsprechend **2,01** % Harnstoff.

Also wird Harnstoff glatt und vollständig nach dem obigen Verfahren in Kohlensäure und Ammoniak gespalten. Die Vollständigkeit der Reaction wurde weiter dadurch bestätigt, dass ein zweites Destillat, das durch erneutes Kochen

1) Ich habe wenigstens von der Firma Eimer und Amend aus New-York kein ammoniakfreies Magnesiumchlorid bekommen können. Die Menge des Ammoniaks ist ganz bedeutend, aber gleichmässig durch das Salz vertheilt, so dass ein paar Bestimmungen genügen, um die Grösse der anzuwendenden Correctur festzustellen.

2) Ich habe immer 3 ccm. Harnstofflösung bzw. Harn für jede Harnstoffbestimmung gebraucht. Um diese Quantität genau abmessen zu können, benutze ich 5 ccm.-Pipetten in  $\frac{1}{20}$  ccm. getheilt und mit Geissler'schen Glashähnen versehen. Wenn man 3 ccm. für die Bestimmung benutzt, entspricht jedem Cubikcentimeter verbrauchter Zehntelnormalsäure 3 mg oder genau 0,1 % Harnstoff.

des Inhaltes in dem Literkolben für 25 Minuten erhalten wurde, einige Tropfen des Indicators (Rosolsäure) nicht färbte.

Die oben beschriebene Methode der Harnstoffzersetzung kann ohne Weiteres mit den gebräuchlichen Harnstoffbestimmungsmethoden, wie der Mörner-Sjöquist'schen oder der Pflüger-Gumlich'schen, combinirt werden. Man braucht nur die den Harnstoff enthaltenden Filtrate in der Erlenmeyer-Flasche abzumessen, die überschüssigen Flüssigkeiten nach dem Ansäuern abzukochen und darnach ganz wie bei den Harnstofflösungen zu verfahren. Statt Aetheralkohol (nach Mörner und Sjöquist) oder Phosphorwolframsäure (nach Pflüger) kann man auch das Krüger-Wulff'sche Reagens (Kupfersulfat und Natriumbisulfid) benutzen, um den Harnstoff von den anderen Stickstoffverbindungen des Harns zu trennen. Ich habe indessen nur einen Versuch nach Krüger und Wulff und zwar mit reiner Harnstoff- und reiner Harnsäure gemacht:

40,3 mg. Harnsäure wurde mit Hilfe von 45 mg Lithiumcarbonat in 50 ccm. der obigen 2,015%igen Harnstofflösung II gelöst. Die Harnsäure wurde dann nach Krüger<sup>1)</sup> durch Zusatz von 5 ccm. Natriumbisulfidlösung, 5 ccm. Kupfersulfatlösung und 2,5 ccm. Bariumchloridlösung gefällt. 4 ccm. des Filtrates entsprechend 3,2 ccm. Harnstofflösung wurde durch Kochen mit Magnesiumchlorid zersetzt und das gebildete Ammoniak abdestillirt. 21,1 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  entsprechend 19,8 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  für 3 ccm. Harnstofflösung wurde erhalten. 19,8 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  entspricht 1,98% Harnstoff.

Bei Vergleichung mit den jetzt gebräuchlichen Methoden zur Zersetzung des Harnstoffs erschien diese Spaltung aber so glatt, dass man wohl hoffen durfte, den Harnstoff direkt im Harn, ohne vorherige Abtrennung anderer Stickstoffverbindungen, zersetzen und abdestilliren zu können. Ich habe mehrere Versuche hierüber gemacht und habe bis jetzt keine Harnen gefunden, in denen die so erhaltenen Werthe nicht mit den aus den Mörner-Sjöquist'schen Filtraten erhaltenen Resultaten übereinstimmten. Eine weitere Reihe von Versuchen wurde angestellt, um dieses Verfahren auch mit dem Pflüger-Gumlich'schen Filtrate zu kontrolliren. Bisweilen, aber nicht immer waren dabei die Resultate übereinstimmend.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 181.

Auf Grund meiner Untersuchungen über den Harnstoffgehalt der Phosphorwolframsäurefiltrate glaube ich mit allem Vorbehalte sagen zu dürfen, dass das in den letzten Jahren so viel benutzte Pflüger-Gumlich'sche Verfahren der Harnstoffbestimmung auf seine Genauigkeit bis jetzt nicht genügend geprüft worden ist. Mörner und Sjöquist haben in unzweideutiger Weise gezeigt, dass die ursprüngliche Pflüger'sche Methode in nicht verdünnten Harnen viel zu niedrige Resultate gibt.<sup>1)</sup> Die genannten zwei Forscher haben dieses Harnstoffdeficit lediglich durch die Herausfällung des Harnstoffs aus concentrirteren Harnen erklärt. Gumlich hat darauf Harn bis zum specifischen Gewicht 1,017 verdünnt und hat dann mit einem Phosphorwolframsäurepräparat anscheinend richtige Resultate erhalten. Doch gibt er selbst an, dass er drei verschiedene Phosphorwolframsäurepräparate zur Verfügung hatte, dass er aber nur mit einem von diesen zuverlässige Resultate erhielt. Mit den anderen zwei hat er Differenzen bis 25% erhalten. Gumlich hat leider nicht direkt angegeben, ob diese zwei unbrauchbaren Präparate zu hohe oder zu niedrige Werthe lieferten, aber aus dem Zusammenhang seiner Darstellung scheint es höchst wahrscheinlich, dass das letztere der Fall war.<sup>2)</sup> Wenn dem so ist, dann ist aber die Verschiedenheit der Präparate schwer zu erklären, denn man kann wohl kaum annehmen, dass die zwei unbrauchbaren Präparate etwas anders als Phosphorwolframsäure mit harnstofffällender Eigenschaft enthalten haben. Man könnte an die Zersetzung des Harnstoffes durch die Salzsäure und die Ausfällung des so abgespaltenen Ammoniaks durch die Phosphorwolframsäure denken. Berthelot und André<sup>3)</sup> haben ja angegeben, dass in einer 2%igen Harnstofflösung, die 3% HCl enthält, der Harnstoff durch 24stündiges Stehen in der Kälte bis zu 4% zersetzt wird. Diese Angaben Berthelot's habe ich indessen nicht bestätigen können. Berthelot bestimmte

1) Skand. Arch. f. Physiol., Bd. 2, S. 466.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 12.

3) Annales de chimie et de physique, Bd. [6] 11, S. 319—321.  
Bulletin de la Société chimique, Bd. [2] 47, S. 840.

das abgespaltene Ammoniak durch Abdestilliren mit einem Ueberschuss von Magnesia. Eine einfachere Methode, um die Zersetzung des Harnstoffs durch verdünnte Säuren zu verfolgen, wäre wohl die direkte Titration der Salzsäureharnstofflösung mit Hülfe von Normalnatronlauge bei Anwendung von Methylorange als Indicator. Ich habe auf diese Weise die Angaben von Berthelot und André zu bestätigen versucht, habe aber keine nennenswerthe Zersetzung des Harnstoffs durch 2,32%ige Salzsäure nach 24stündigem Stehen nachweisen können. Auch mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure habe ich den Versuch wiederholt, aber mit dem gleichen Resultate. Die Endreaction bei der Titrirung von phosphorwolframsäurehaltiger Salzsäure ist übrigens auch bei sehr sorgfältiger Arbeit zu unsicher, um kleine Verluste an Harnstoff nachweisen zu können. Nach vollendeter Titrirung habe ich daher das abgespaltene Ammoniak durch Destillation mit Magnesia bestimmt.<sup>1)</sup> Aber auch so habe ich die Angaben Berthelot's nicht bestätigen können. Präformirtes Ammoniak war nur spurenweise vorhanden.

Die von mir benutzte Phosphorwolframsäurelösung enthielt 100 g Phosphorwolframsäure und 100 cem. Salzsäure (specifisches Gewicht 1,12) im Liter. Das Reagens erzeugte nach 24stündigem Stehen eine deutliche Fällung in 2%igen, nicht aber in 1%igen Harnstofflösungen. 15 cem. einer Harnstofflösung, die 1,534 g Harnstoff in 100 cem. enthielt, wurde durch Zusatz von 10 cem. 0,85%iger Ammonchloridlösung also bis zu einem Harnstoffgehalt von 0,92% verdünnt. Nach Zusatz von 50 cem. Phosphorwolframsäure und 24stündigem Stehen wurden 15 cem. des vollständig klaren Filtrates entnommen, concentrirt, durch Kochen mit Magnesiumchlorid zersetzt und das Ammoniak abdestillirt. 13,9 cem. n/10 NH<sub>3</sub>, entsprechend einem Harnstoffgehalt von 1,39%, wurden wiedergefunden. Ein zweiter Versuch gab 1,41% Harnstoff. Ein Verlust also von etwa 8% des gesammten Harnstoffs aus

---

<sup>1</sup> Siehe nächste Abhandlung über ein einfaches Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks im Harne.

einer 0,92%igen Lösung! Nach diesen und anderen mit Harnen angestellten Versuchen<sup>1)</sup> scheint es mir zweifelhaft, ob man durch Verdünnung von Harnstofflösungen bezw. Harnen die Ausfällung des Harnstoffs durch Phosphorwolframsäure bei Anwesenheit anderer, durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoffverbindungen vollständig vermeiden kann.

Bei Vergleichung mit der Mörner-Sjöquist'schen Methode zur Bestimmung des Harnstoffs habe ich keine Schwierigkeiten gefunden, sondern stets gut übereinstimmende Werthe erhalten. Bei der Handhabung dieser Methode der Harnstoffisolirung schien mir eine kleine Abänderung vortheilhaft in der Weise, dass stets 9 ccm. Harn mit 9 ccm. alkalischer Baryumchloridlösung und 207 ccm. der Aetheralkoholmischung für jeden Versuch benutzt wurden. 75 ccm. des Filtrates entsprechen dann 3 ccm. Harn. In dieser Weise umgeht man das schwierige Auswaschen der Aetheralkoholfällung. Ueberdies hat man auch die Möglichkeit, weitere 75 ccm. des Filtrates für eine Parallelbestimmung zu erhalten. Ich habe auch unterlassen, den Aetheralkohol bei alkalischer Reaction abzudunsten, sondern habe sogleich etwas Salzsäure zugesetzt und den Aetheralkohol abgekocht. Dies erschien zweckmässiger, weil ohnehin später das präformirte Ammoniak zwecks Vergleichung mit der Phosphorwolframsäuremethode zu bestimmen war.

Als Beispiele mögen die folgenden Harnstoffbestimmungen dienen:

#### Harn I.

a) 3 ccm. Harn, mit 20 g Magnesiumchlorid und 2 ccm. HCl erhitzt und destillirt, ergab 18.2 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

Präformirtes Ammoniak, gesondert bestimmt, entsprach für 3 ccm. Harn 0,63 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

Das Harnstoffammoniak ist demnach 18.2 ccm. — 0,63 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  = 17.57 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  = 1.75% Harnstoff.

b) 75 ccm. eines Mörner-Sjöquist'schen Filtrats, entsprechend 3 ccm. desselben Harns, ergab nach Abkochen des Aetheralkohols und nachheriger Behandlung mit Magnesiumchlorid etc. 17.85 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

<sup>1)</sup> Siehe unter Harn V, folgende Seite.

Das Harnstoffammoniak ist demnach 17,85 ccm. —  $0,63 \text{ n}_{/10} \text{ NH}_3 = 17,22$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 1,72\%$  Harnstoff.

#### Harn II.

a) 3 ccm. Harn, mit Magnesiumchlorid etc. direkt behandelt, ergab 14,7 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Präformirtes Ammoniak = 0,7 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak ist demnach 14,7 ccm. — 0,7 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 14$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 1,40\%$  Harnstoff.

b) 12 ccm. Phosphorwolframsäurefiltrat, entsprechend 3 ccm. desselben Harns, abgekocht und mit Magnesiumchlorid etc. behandelt, ergab 14,2 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ , entsprechend 1,42% Harnstoff.

#### Harn III.

a) 3 ccm. Harn, mit Magnesiumchlorid etc. behandelt, ergab 21,2 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Präformirtes Ammoniak = 0,75 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak entspricht demnach 21,2 ccm. — 0,75 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 20,45$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 2,045\%$  Harnstoff.

b) 75 ccm. eines Mörner-Sjöquist'schen Filtrats, entsprechend 3 ccm. desselben Harns, ergab nach Abkochen des Aetheralkohols und nachheriger Behandlung mit Magnesiumchlorid etc., 21,5 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak ist daher 21,5 ccm. — 0,75 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 20,75$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 2,075\%$  Harnstoff.

#### Harn IV.

a) 3 ccm. Harn, nach Magnesiumchloridbehandlung etc., ergab 19,9 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das präformirte Ammoniak = 0,8 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak entspricht demnach 19,9 ccm. — 0,8 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 19,1$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 1,91\%$  Harnstoff.

b) 75 ccm. eines Mörner-Sjöquist'schen Filtrats, 3 ccm. Harn entsprechend, ergab 20,5 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak ist demnach 20,5 ccm. — 0,8 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 19,7$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 1,91\%$  Harnstoff.

c) 15 ccm. eines Phosphorwolframsäurefiltrats, entsprechend 3 ccm. desselben Harns, ergab 19,1 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 1,91\%$  Harnstoff.

#### Harn V (Pneumonie, eiweisshaltig).

a) 3 ccm. Harn nach der Magnesiumchloridbehandlung ergab 30,2 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das präformirte Ammoniak = 1,4 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak entspricht demnach 30,2 ccm. — 1,4 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 28,8$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 2,88\%$  Harnstoff.

a<sup>1</sup>) 3 ccm. desselben Harns, nach Entfernung des Eiweisses (durch Kochen mit etwas Essigsäure), ergab nach der Magnesiumchloridbehandlung 29,9 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ . Das Harnstoffammoniak entspricht demnach 29,9 ccm. — 1,4 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 28,5$  ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3 = 2,85\%$  Harnstoff.

b) 75 ccm. eines Mörner-Sjöquist'schen Filtrats, entsprechend 3 ccm. Harn, ergab 29,9 ccm.  $\text{n}_{/10} \text{ NH}_3$ , entsprechend also 2,85% Harnstoff.

c) 15 ccm. Phosphorwolframsäurefiltrat, entsprechend 3 ccm. Harn, ergab 25,8 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$  = 2,58% Harnstoff.

Ein zweiter Versuch ergab 2,575% Harnstoff.

Bei den beiden letzten Versuchen war der Harn vor dem Phosphorwolframsäurezusatz mit 2 Volumina Wasser, also bis zu etwa 0,9%igem Harnstoffgehalt, verdünnt. Ein dritter Versuch wurde darauf in der Weise gemacht, dass 12,5 ccm. Harn mit 4 Volumina (50 ccm.) Wasser vor dem Phosphorwolframsäurezusatz (25 ccm.) verdünnt wurde. Nach 22stündigem Stehen wurden drei Proben von je 21 ccm. (entsprechend 3 ccm. Harn) bis zu etwa 5 ccm. eingedampft und darauf in gewöhnlicher Weise mit Magnesiumchlorid und Salzsäure gekocht und das Ammoniak abdestillirt. Es wurden erhalten 27 ccm., 26,8 ccm. und 27,1 ccm.  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ , entsprechend einem Harnstoffgehalt von 2,70%.

Hier war also ein Harn, bei dem ich den Harnstoff von den anderen Stickstoffverbindungen durch Phosphorwolframsäure nicht trennen konnte. Verschiedene andere Fieberharne, besonders aber Pneumonieharn, die Eiweiss und grössere Mengen Ammoniak enthielten, haben dieselben Resultate ergeben.

Die Ergebnisse meiner Untersuchung sind daher folgende:

1. Krystallisirtes Magnesiumchlorid,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , siedet in seinem Krystallwasser bei etwa 160°. Harnstoff wird durch eine solche siedende Magnesiumchloridlösung binnen einer halben Stunde quantitativ in Ammoniak und Kohlensäure gespalten. Diese Methode der Zersetzung des Harnstoffs eignet sich gut zu Harnstoffbestimmungen. Man braucht nur die Harnstofflösung bzw. die aus Harnen erhaltenen Harnstofffiltrate bei saurer Reaction bis zu etwa 5 ccm. einzudampfen, Magnesiumchlorid und etwas Salzsäure zuzusetzen, noch etwas mehr Wasser durch Eindampfen zu entfernen und schliesslich für eine weitere halbe Stunde im Sieden zu erhalten. Ein geringer Theil des Magnesiumchlorids wird dann durch Zusatz von etwas Natronlauge in Magnesiumhydrat umgewandelt und das Ammoniak abdestillirt.

2. Um Filtrate aus dem Harn zu bekommen, die allen Harnstoff enthalten, eignet sich die Mörner-Sjöquist'sche

Methode besser als die Phosphorwolframsäuremethode von Pflüger-Gumlich, denn die letztere fällt bisweilen Harnstoff, auch wenn der Harn bis zu 0,9%igem Harnstoffgehalt verdünnt worden ist.

3. Halbstündiges Kochen mit salzsäurehaltigem Magnesiumchlorid sowie die nachherige Destillation mit Magnesia sind verhältnissmässig sehr schwache Eingriffe. Daher kann man auch allem Anscheine nach Harn direkt ohne vorherige Abtrennung anderer Stickstoffverbindungen in obiger Weise behandeln und zuverlässige Werthe für deren Harnstoffgehalt erzielen.

Diese einfache Methode der Harnstoffbestimmung wird dann in folgender Weise ausgeführt: 3 ccm. Harn, 20 g Magnesiumchlorid und 2 ccm. concentrirter Salzsäure werden in einer Erlenmeyer-Flasche (200 ccm. Inhalt) unter Benutzung eines kurzen Rückflussrohrs (200 mm.  $\times$  10 mm.) gekocht, bis die aus dem Rohr zurückfliessenden Tropfen unter zischenendem Geräusch in die Mischung, welche sich in der Flasche befindet, zurückfallen. Das Kochen wird dann in mässiger Weise 25 bis 30 Minuten fortgesetzt; mit Wasser vorsichtig verdünnt, in einen Literkolben gespült und das Ammoniak nach Zusatz von etwa 7 ccm. 20%iger Natronlauge abdestillirt. Gewöhnlich müssen etwa 350 ccm. abdestillirt werden (was etwa 60 Minuten in Anspruch nimmt), bevor alles Ammoniak entfernt ist. Das Destillat wird aufgeköcht, abgekühlt und titirt. Jedem im Destillate enthaltenen Cubikcentimeter  $n/10$   $\text{NH}_3$  entspricht 3 mg oder 0,1% Harnstoff. Die Correcturen für den Ammoniakgehalt des angewandten Magnesiumchlorids, sowie für das präformirte Ammoniak des Harns, müssen gesondert ermittelt werden.

Waverley, Mass. U. S. A., April, 1901.