

Ueber die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn.

Von

Otto Folin und Phil. A. Shaffer.

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

(Der Redaction zugegangen am 24. Mai 1901.)

Vor etwa drei Jahren publicirte der eine von uns eine Modification der Hopkins'schen Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn.¹⁾ Das Verfahren schien damals durch direkte Titrirung der durch Ammonsalze ausgeschiedenen Ammonurate zuverlässige Werthe zu liefern. Seither haben aber Nachprüfungen von Wörner,²⁾ sowie auch von Jolles³⁾ die Genauigkeit der Methode nicht bestätigt und es muss ohne Weiteres zugegeben werden, dass die Einwendungen beider Forscher bis zu einem gewissen Grade berechtigt sind. Die Methode war auf ihre Genauigkeit, besonders bei pathologischen Harnen, nicht genügend geprüft worden und die weiteren, in der ersten Abhandlung in Aussicht gestellten Untersuchungen mussten wegen Zeitmangels verschoben werden. Dennoch waren die Untersuchungen, welche die Grundlage der vorliegenden Arbeit bilden, schon im Gange, als die Abhandlung von Wörner und die von Jolles erschienen.

Da bei den zu beschreibenden Untersuchungen auch Salkowski's Methode immer wieder für Parallelbestimmungen benutzt wurde, erscheint es zweckmässig, einige Bemerkungen über diese Methode vorzuschicken.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 224.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 70.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 22.

Salkowski's Methode.

Salkowski's Methode der Harnsäurebestimmung ist bekanntlich, kurz gefasst, folgende: Der bis zum specifischen Gewicht von 1,020 verdünnte Harn wird zuerst durch Magnesia-mischung von Phosphaten befreit. Die Fällung der Harnsäure und Alloxurbasen wird durch Zusatz von Silbernitrat und Ammoniak bewirkt, die entstehende Fällung durch H_2S zersetzt und das Filtrat bis zu etwa 15 ccm. eingedampft und nach Ansäuern 24 Stunden stehen gelassen behufs Auskrystallisierung der Harnsäure.

Aus unseren Erfahrungen über diese Methode lässt sich nun Folgendes entnehmen:

1. Die Fällbarkeit der Harnsäure als Silbermagnesiumsalz ist fast vollkommen quantitativ. Dies ist leicht bei Anwendung reiner Harnsäurelösungen und chlorfreier Magnesia-mischung durch direkte Titrirung der Silberfällungen sowie der Filtrate mit n_{20} Kaliumpermanganatlösung nachzuweisen. In 150 ccm. des Filtrates war im Mittel nur etwa 0,5 mg Harnsäure vorhanden.

2. Bei Anwendung des Silberverfahrens nach Ludwig werden bekanntlich die Phosphate und der Silbermagnesia-niederschlag zusammen ausgefällt, während nach Salkowski erstere zuvor abfiltrirt werden. Nach unseren Ergebnissen ist nun das Ludwig'sche Verfahren das richtigere, denn etwas Harnsäure wird immer durch das Magnesiumphosphat mitgerissen. Der nach der Salkowski'schen Methode hierbei entstehende Verlust beträgt aus 100 ccm. normalen Harnes im Mittel etwa 2 mg Harnsäure. Eine genaue Prüfung dieser Thatsache wurde durch Benutzung reiner Harnsäurelösungen ermöglicht. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt: Reine Harnsäure wurde unter Zusatz von etwas Lithiumcarbonat in 2 Liter Wasser gelöst, die Lösung in zwei gleiche Theile getheilt und dem einen 25 ccm. Wasser, dem anderen 25 ccm. Natriumphosphatlösung zugesetzt. Direkte Titrirung ergab in beiden Lösungen den gleichen Harnsäuregehalt, nämlich 77,6 mg pro 100 ccm. Darauf wurden 100 ccm. chloridfreie Magnesia-

mischung¹⁾ zu 300 ccm. der Phosphat enthaltenden Harnsäurelösung zugesetzt und sogleich filtrirt. 150 ccm. Filtrat, nach dem Ansäuern titirt, ergab 75,2 mg Harnsäure, entsprechend also einem Verlust von 2,4 mg Harnsäure.

Der genannte, nach Salkowski's Verfahren entstehende Verlust an Harnsäure war übrigens auch bei Harnen durch vergleichende, in üblicher Weise ausgeführte Bestimmungen zu constatiren. Angesichts dieser Thatsache wurden die Phosphate bei unseren späteren Harnsäurebestimmungen nach dem Silberverfahren immer zusammen mit der Harnsäure herausgefällt. Hier muss jedoch bemerkt werden, dass man bei dem Wägen der Harnsäure nach Salkowski der Gefahr ausgesetzt ist, wegen der kleinen Menge Wasser, die benutzt werden darf, nicht alle Phosphate von dem Filter entfernen zu können. Es ist übrigens auch schwierig, die letzten, wegen ihrer Durchsichtigkeit kaum sichtbaren Harnsäurekrystalle durch etwa 30 bis 50 ccm. Waschwasser von der Abdampfschale auf das Filter zu spülen. Da auch die nach Salkowski isolirte Harnsäure sich in schönster Weise titiren lässt, empfiehlt es sich, die Harnsäure auch hier zu titiren, anstatt zu wägen.²⁾ Man braucht dann gar nicht die letzten Spuren Harnsäure auf das Filter zu waschen, sondern kann diese nachher direkt in das Becherglas spülen.

3. Nachdem die Harnsäure als Silbermagnesiaverbindung aus dem Harn abgeschieden ist, wird diese Verbindung nach Salkowski bei saurer Reaction durch H_2S , nach Ludwig in alkalischer Lösung durch KHS entsilbert. Die erstere Methode

1) Ammonsulfat wurde benutzt anstatt Ammonchlorid, um die Magnesia in Lösung zu erhalten.

2) Bei der Titrirung der nach Salkowski isolirten Harnsäure muss diese vor dem Schwefelsäurezusatz mit Hilfe von ein wenig Natronlauge aufgelöst werden. Die hierzu benutzte Natronlauge soll nicht « durch Alkohol gereinigt » sein, weil in diesem Falle die Natronlauge immer etwas Natriumalkoholat, welches das Permanganat reducirt, enthält. Indessen kann dieser Alkohol leicht durch Kochen mit ein ganz wenig Natriumperoxyd entfernt werden, nur muss man selbstverständlich dabei das Kochen fortsetzen, bis auch das Natriumperoxyd vollständig zersetzt ist.

ist sicher der Ludwig'schen, wegen der Zersetzlichkeit der Harnsäure durch Alkalien, vorzuziehen.¹⁾

Die Zersetzung der Silberfällung nach Salkowski ist indessen auch ein sehr missliches Verfahren. Es gelingt nämlich fast nie, alles Silber als Silbersulfid auf dem Filter aufzufangen. Man muss daher nach Salkowski's²⁾ letzten Angaben die erhaltenen Filtrate mehrere Male auf das Filter zurückgiessen, darauf dieselben eindampfen und nochmals filtriren, wobei man der Gefahr ausgesetzt ist, auch auskrystallisirte Harnsäure mit dem Silbersulfid zu entfernen. Diese der Salkowski'schen Methode anhaftende Schwierigkeit lässt sich nun einfacher Weise durch Zusatz von etwas Kupfersulfat vor der Zerlegung durch H_2S beseitigen. Die Zersetzung wird in folgender Weise ausgeführt: Der gewaschene Silberniederschlag wird in ein Becherglas gespült, bis auf etwa 250 ccm verdünnt und nach Zusatz von 5 bis 10 ccm. 1%iger Kupfersulfatlösung und etwas Salzsäure zum Sieden erhitzt.

Durch die noch siedende Flüssigkeit wird H_2S geleitet und das Kochen einige Minuten nach der Sättigung mit Schwefelwasserstoff fortgesetzt. Nach diesem Verfahren erhält man sogleich vollständig klare Filtrate, aus denen durch das nachherige Eindampfen kein Silbersulfid sich abscheidet.

4. Bei der Benutzung der Salkowski'schen Methode soll noch die anzuwendende Correctur berücksichtigt werden. In der letzten Auflage seines Practicums hat sich Salkowski

1) Die leichte Zersetzlichkeit der Harnsäure durch Alkalien ist anscheinend bei mehreren Forschern nicht genügend berücksichtigt worden. Vide z. B. Horbaczewski, Ueber die Trennung der Harnsäure von Xanthin. Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 343.) Man kann diese Zersetzung genau titrimetrisch verfolgen: Eine Harnsäurelösung, die 0.04 gm NaOH und 35.6 mg Harnsäure pro 100 ccm. Harnsäure enthält, wurde gerade zum Kochen erhitzt und sogleich abgekühlt. Aus dieser Lösung wurde nun nur 33.6 mg Harnsäure wiedergefunden, entsprechend also einem Verluste von 6% Harnsäure. Eine andere Lösung, die 1.5 g NaOH und 88 mg Harnsäure pro 100 ccm. enthält, wurde 45 Minuten lang auf einem Wasserbade erhitzt: 60 mg Harnsäure, entsprechend einem Verluste von 28 mg oder 32%, wurden wiedergefunden.

2) Vide Salkowski's Practicum, 2. Aufl., S. 250.

hierüber folgendermassen geäussert: «Bei der Berechnung (des Harnsäuregehaltes) ist es üblich, eine Correctur für die Löslichkeit der Harnsäure anzubringen, doch kann man diese höchstens für den Fall als zulässig ansehen, dass die Quantität der Harnsäure nicht abnorm gering ist, und die Quantität von Filtrat und Waschwasser 60 ccm. nicht überschreitet. Man pflegt für je 10 ccm. desselben 0,5 mg Harnsäure zu addiren». Demnach scheint Salkowski jetzt die Anwendbarkeit der obigen Correctur für etwas fraglich zu halten. Da diese aber 3 mg Harnsäure pro 100 ccm. Harn, als circa 5% der ganzen Harnsäuremenge beträgt, kann der Salkowski'schen bzw. der Ludwig'schen oder der Hopkins'schen Methode zur Bestimmung der Harnsäure kaum die übliche grosse Genauigkeit zugeschrieben werden, solange nicht die Anwendbarkeit dieser oder einer anderen Correctur festgestellt worden ist. Dieses erscheint aber fast unmöglich, denn erstens sind wohl die erhaltenen Mutterlaugen in vielen Fällen übersättigte Lösungen, und zweitens wechseln die durch das Waschwasser gelösten Mengen Harnsäure nicht nur mit der auf dem Filter anwesenden Menge, sondern noch mehr mit den wechselnden physikalischen Eigenschaften der aus dem Harn abgeschiedenen Harnsäure. Bisweilen bekommt man nämlich grosse schöne Krystalle, die nur wenig durch 35 bis 75 ccm. Waschwasser gelöst werden, in vielen Fällen aber erhält man äusserst kleine, stark gefärbte, kaum krystallinische Harnsäurepartikelehen, die man nicht ohne erhebliche Verluste bis zur Chlorfreiheit waschen kann.

Nach einigen von uns hierüber angestellten Versuchen wurde einmal 1,5 mg in 100 ccm. Waschwasser gefunden, ein anderes Mal sogar 4 mg Harnsäure in 100 ccm. Waschwasser. Im letzten Falle war nach dem Waschen nur 27,6 mg Harnsäure auf dem Filter vorhanden. Der Verlust an Harnsäure durch 100 ccm. Waschwasser war demnach beinahe 13%.

Die Ammonsalmethode.

Das von Folin angegebene Verfahren zur Bestimmung der Harnsäure im Harn ist folgendes:

Zu 100 cem. Harn werden 10 g Ammonsulfat und einige Tropfen Ammoniak zugesetzt. Nach 2stündigem Stehen wird filtrirt und das abgeschiedene Ammonurat direkt durch Kaliumpermanganat titirt.

Dieses Verfahren liefert bei vielen Harnen Resultate, die mit den nach Salkowski oder Hopkins erhaltenen sehr gut stimmen. Aber die Methode ist nicht als zuverlässig anzusehen, weil derselben zwei Fehlerquellen anhaften, die sich zwar bei einer grossen Anzahl von Harnen fast genau ausgleichen, aber trotzdem als unzulässige Fehlerquellen gelten müssen.

Die eine von diesen Fehlerquellen liegt in der schon von Wörner erwähnten Thatsache, dass zwei Stunden unter den obigen Bedingungen nicht genügen, um alle Harnsäure als Ammonurat auszufällen. Nach längerem Stehen bilden sich weitere Fällungen, die zwar nicht, wie Wörner angibt, aus Uraten bestehen, sondern aus Phosphaten, denen Spuren von Uraten beigemischt sind.

Wörner hat übrigens die Frage über die Fällbarkeit der Harnsäure durch Ammonsalze nur in ganz oberflächlicher Weise behandelt. Auf Seite 72 seiner Abhandlung hat er die Folin'schen Angaben in folgender Weise kritisirt: «Es lag aber bereits eine Mittheilung von A. Edmunds vor, dass Ammonsulfat Harnsäure durchaus nicht so rasch und vollständig ausfällt, eine Beobachtung, die ich nur bestätigen kann. Folin geht über Edmunds Angaben mit den Worten hinweg: [Edmunds fand, dass Sättigung mit Ammonsulfat eine vollständige Fällung nur nach mehrtägigem Stehen bewirke und dass Halbsättigung mit demselben Salze überhaupt keine Fällung erzeuge.]¹⁾ Dies Resultat scheint mir (Folin) so wenig im Einklang mit dem, was bei der Natur der Reaction erwartet werden sollte, dass ich glaubte, dasselbe bis auf Weiteres vernachlässigen zu können.» Gleich darauf, S. 74, sagt nun Wörner: «Es geht aus diesen

¹⁾ Der in Klammern enthaltene Satz wurde hier aus dem Originalartikel beigefügt, doch hat Wörner denselben nicht citirt.

(Wörner's) Bestimmungen mit Sicherheit hervor, dass erst ein Zusatz von 30%igem Ammonsulfat die Harnsäure rasch und völlig zur Abscheidung bringt. Wörner scheint keine Ahnung zu haben, dass er somit die oben citirten, gegen Edmunds gerichteten Bemerkungen Folin's in vollständigster Weise bestätigt hat, denn 30%iges Ammonsulfat bedeutet ja noch nicht einmal eine halbgesättigte Lösung.¹⁾

Uebrigens scheinen auch die Wörner'schen Resultate bisweilen ungenau zu sein.

Auf Seite 73 gibt er an, dass er durch Ausfällung mit 10%igem Ammonsulfat aus 150 ccm. desselben Harns 2,94, 5,46, 71,82 und 81,90 mg Harnsäure, also eine Differenz von etwa 89 mg Harnsäure, erhalten hat. Bei mehreren hunderten, im letzten Jahre mit Hilfe von 10%igem Ammonsulfat ausgeführten Harnsäurebestimmungen haben wir nie eine Differenz von mehr als 3 mg Harnsäure zwischen Parallelbestimmungen mit demselben Harn gefunden, und im Mittel betragen unsere Differenzen sicher nicht mehr als 1 mg Harnsäure pro 100 ccm. Harn. Da die Wörner'schen Resultate indessen nach seiner neuen Methode und nicht nach Hopkins oder nach Folin erhalten wurden, so müssen sie wohl auf seine eigene Methode zurückgeführt werden.

Dass durch 10%iges Ammonsulfat nach 2stündigem Stehen nicht immer alle Harnsäure aus Harn herausgefällt wird, wie dies Wörner angibt, ist aber richtig. Durch weiteres Stehen wird oft noch 2 bis 4 mg Harnsäure erhalten. Diese Schwierigkeit lässt sich nicht ohne Zusatz von sehr viel grösseren Mengen Ammonsulfat (oder andere Ammonsalze) beseitigen. Dies ist aber nicht zu empfehlen, weil aus solchen concentrirten Lösungen es äusserst schwierig ist, vollständig klare Filtrate zu erhalten, und auch, weil andere Substanzen bei vielen Harnen dadurch mit der Harnsäure ausgefällt werden. Wörner's Angabe (l. c. S. 74), dass letzteres bei Anwendung von 20%igem Ammonchlorid nicht der Fall ist, ist nicht richtig. Als Resultat einer grossen Anzahl, in verschiedenen Richtungen an-

¹⁾ Comey's Dictionary, S. 57; Solubilities, S. 414.

gestellter Versuche sind wir zu der Schlussfolgerung gekommen, dass 10%iges Ammonsulfat und 12 bis 24 stündiges Stehen das zweckmässigste Verfahren ist, um die Harnsäure des Harns so zu fällen, dass sie ohne Weiteres titriert werden kann. Andere Ammonsalze, wie das Chlorid, das Acetat, das Carbonat, das Bicarbonat und das Phosphat, sowie auch Mischungen von verschiedenen dieser Salze, wurden auf ihre Brauchbarkeit untersucht; das Sulfat hat sich aber als das geeignetste bewährt. Nach den Erfahrungen Jolles' ist das Ammonacetat dem Sulfat wie auch dem Chlorid vorzuziehen, offenbar weil das Ammonacetat nach 2 bis 3 stündigem Stehen fast immer schnell ablaufende, ganz klare Filtrate liefert, während andere Ammonsalze, besonders das Carbonat und das Sulfat, dies nicht immer thun. Hätte Jolles das in letzter Zeit von uns angewandte Ammonphosphat in seine Untersuchungen hineingezogen, so würde er wahrscheinlich dieses Salz als noch besser als das Acetat gefunden haben, denn es gibt immer sehr klare Filtrate. Diese Verschiedenheiten bei dem Filtriren machen sich aber kaum bemerkbar, wenn man die Harnproben bis zum folgenden Tage stehen lässt.

Die Thatsache, dass die harnsäurefällende Wirkung der Ammonsalze bisweilen nach 2 bis 3 Stunden nicht ganz vollendet ist, scheint ebenso wie Folin übrigens auch Jolles entgangen zu sein, denn er erwähnt ausdrücklich, dass keine weiteren Fällungen in seinen Filtraten entstanden seien. Wahrscheinlich hat Jolles dabei ganz wie Folin nicht eine genügend grosse Anzahl Filtrate bis am folgenden Tage stehen lassen, denn sonst würde auch er sicher obige Thatsache beobachtet haben.

Die Jolles'sche Abhandlung enthält noch ein paar Angaben über die Ausfällung der Harnsäure als Ammonurat, die einer Berichtigung bedürfen. Nach Zusatz von Ammonsalz und Ammoniak lässt Jolles den Inhalt des Becherglases 2 $\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden stehen, «während welcher Zeit mit dem Glasrohr öfters umgerührt wird». Das Umrühren ist nach unseren Erfahrungen jedoch ganz unzulässig, weil dadurch das ausfallende Ammon-

urat so fein vertheilt wird, dass es sich nicht am Boden des Becherglases absetzt und nachher auch durch das beste Filtrirpapier geht und die Poren desselben verstopft. Im Gegentheil soll nur möglichst wenig umgerührt werden, d. h. nur bis alles zugesetzte Salz aufgelöst ist und das Ammonurat sich abzuscheiden beginnt. Wird in dieser Weise verfahren, dann setzt sich das Ammonurat sehr gut am Boden des Becherglases ab und man kann später bei der Filtration fast die ganze Menge der obenstehenden Flüssigkeit zuerst durch das Filter fließen lassen und so das Filtriren und das nachherige Auswaschen des Ammonurates sehr beschleunigen.

Die weitere Angabe von Jolles, dass man dem Harn neben dem Ammonsalz nur einige Tropfen Ammoniak zusetzen darf, weil durch mehr Ammoniak grössere Mengen von Phosphaten ausgefällt werden, die dann das Filtriren bezw. das Auswaschen des Urates erschweren, ist ebenfalls irrthümlich und wohl nur als ein Versehen Jolles' zu betrachten, denn die Menge der aus ammoniakalisch gemachten Harnen ausfallenden Phosphate beruht nur auf den im Harn vorhandenen Mengen Calcium und Magnesium, die mit Phosphorsäure unlösliche Salze zu geben vermögen. Die von Jolles gefundenen Schwierigkeiten bei der Filtration sind, wie oben bemerkt, auf sein öfteres Umrühren der Harnproben nach dem Auflösen des Ammonsalzes zurückzuführen.

Ueber die Anwendung des Ammoniaks bei der Ausfällung der Harnsäure als Ammonurat lassen sich folgende Beobachtungen aus unseren Versuchen entnehmen: Gelöste Harnsäure wird ziemlich rasch durch Stehen mit Ammoniak allein zersetzt, ganz wie durch die stärkeren Alkalien. So wurde z. B. eine reine Harnsäurelösung von 73 mg durch Zusatz von 10%igem concentrirten Ammoniak und 18stündiges Stehen bis auf 21,6 mg Harnsäure pro 100 ccm. Lösung zerstört. Bedeutende Mengen Ammoniak + Ammonsalz zersetzen aber Harnsäure nicht, denn ein Zusatz von 10%igem Ammonsulfat und einem Zehntel Volumen 10%iger Ammoniaklösung zur obigen Harnsäurelösung hatte nach 48stündigem Stehen keine Harnsäure zersetzt. Ein mässiger Ueberschuss an Ammoniak befördert

die Ausfällung wie das Abfiltriren der Harnsäure. Bei sehr sauer reagirenden Harnen wird die Harnsäure bisweilen erst durch 10%iges Ammonsulfat gefällt, wenn man den Harn durch Ammoniak alkalisch gemacht hat. Als Hauptergebniss unserer hierüber gemachten Erfahrungen ist anzugeben, dass ein Zusatz von 10 ccm. 10%igen oder 3 bis 4 ccm. concentrirten Ammoniaks zu 100 ccm. Harn zweckmässiger ist als die kleineren Mengen Ammoniak, die früher von Folin wie von Jolles bei den Harnsäurebestimmungen angewandt worden sind.

Die Jolles'sche Arbeit enthält eine Nachprüfung der Folin'schen Methode. Die nach Folin gefundenen Werthe wurden dabei in üblicher Weise mit anderen nach Ludwig-Salkowski erhaltenen Resultaten verglichen. Aus 20 Harnen, also aus 2 Liter Harn von verschiedener Herkunft wurden dabei durch das Ammonacetatverfahren 1,057 g Harnsäure, nach Ludwig-Salkowski 0,975 g Harnsäure gefunden. Somit ergibt sich, dass Jolles im Mittel 4 mg Harnsäure mehr pro 100 ccm. Harn nach Hopkins-Folin als nach Ludwig-Salkowski gefunden hat. Das Verfahren Jolles', diese Differenzen auch als Procente darzustellen, erscheint uns jedoch nicht sachgemäss, denn man kann gerade so gut übereinstimmende Resultate aus Harnen mit hohem, wie aus Harnen mit niedrigerem Harnsäuregehalt bekommen. Dies wird ersichtlich, wenn man z. B. aus der Jolles'schen Tabelle¹⁾ Harn 2 und Harn 17 vergleicht: bei Harn 2 wurde eine Differenz von 2 mg, bei Harn 17 eine Differenz von 3 mg Harnsäure gefunden; als Procent berechnet werden nun diese Differenzen in dem einen Fall als 4 in dem anderen Fall als 9% wiedergegeben.

Die von Jolles erhaltenen Resultate sind indessen annähernd dieselben, wie wir sie bei einer ganzen Reihe von Harnen nach dem ursprünglichen Folin'schen Verfahren erhalten haben, d. h. bis zu 7 mg, im Mittel etwa 3½ mg mehr als die nach Salkowski oder Hopkins erhaltenen Werthe. Aus unserem Protokoll, das eine grosse Anzahl solcher Analysen

1) l. c. S. 228.

enthält, werden einige direkt auf einander folgende entnommen, um diesen Punkt zu beleuchten. Dabei sei zu bemerken, dass bei den «nach Folin» gemachten Versuchen der filtrirte Harn nach Zusatz von Ammonsalz und Ammoniak bis am nächsten Tage stehen gelassen und darauf das abgeschiedene Ammonurat direkt titirt wurde. Bei den «nach Hopkins» ausgeführten Versuchen wurde der Harn nur 2 bis 3 Stunden stehen gelassen und die in dem Ammonurat enthaltene Harnsäure vor der Titration durch Säurezusatz und 24stündiges Stehen abgeschieden. Bei den «nach Salkowski» gemachten Parallelbestimmungen wurden die Phosphate vor dem Silbernitratzusatz abfiltrirt. Eine Correctur für die Löslichkeit des Ammonurates oder der freien Harnsäure wurde nicht benutzt, die Mutterlauge und das Waschwasser wurden aber immer genau abgemessen.

Bisweilen wurde die Harnsäure nach Folin durch Zusatz kleiner Mengen Ammonsalz ausgefällt und die Harnsäure darauf nach Hopkins durch Säurezusatz und 24stündiges Stehen abgeschieden. Dieses Verfahren wird mit den Worten «nach Hopkins-Folin» bezeichnet.

Die Menge des angewandten Harnes betrug für jede Bestimmung 100 ccm.

1. Gemischter Harn. (Normal.)

Nach Folin Harn	+ 7 ^o / ₁₀₀ (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab	47,2 mg Harnsäure.
»	+ 7 ^o / ₁₀₀ (NH ₄) ₂ CO ₃	»	48,0 »
»	+ 7 ^o / ₁₀₀ Ammonphosphat	»	47,2 »
Nach Salkowski (Mutterl. + Waschw. = 40 ccm.)		»	46,2 »
»	(» + » = 60 »)	»	46,2 »
»	(» + » = 50 »)	»	46,0 »
»	(» + » = 30 »)	»	47,0 »

2. Gemischter Harn. (Normal.)

Nach Folin Harn	+ 7 ^o / ₁₀₀ Ammonphosphat	ergab	61,8 mg Harnsäure.
»	+ 7 ^o / ₁₀₀	»	62,2 »
»	+ 12 ^o / ₁₀₀	»	61,8 »
»	+ 12 ^o / ₁₀₀	»	60,3 »
Nach Hopkins (Mutterl. + Waschw. = 40 ccm.)		»	57,6 »
»	(» + » = 40 »)	»	57,6 »
Nach Hopkins-Folin 12 ^o / ₁₀₀ (NH ₄) ₂ SO ₄			
(Mutterl. + Waschw. = 40 ccm.)		»	55,7 »

Nach Hopkins-Folin 7% (NH ₄) ₂ SO ₄ (Mutterl. + Waschw. = 40 ccm.)	ergab 58,1 mg Harnsäure.
Nach Salkowski (Mutterl. + Waschw. = 40 ccm.)	54,0
„ „ („ + „ = 40 „ „)	57,5

3. Normaler Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,020. Tagesmenge 800 ccm.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 57,0 mg Harnsäure.
„ „ „ + 10% Ammonphosphat	56,2
„ „ „ + 20%	54,3
Nach Hopkins (Mutterl. 15 ccm. + Waschw. 28 ccm.)	53,4
„ „ („ 8 „ + „ 37 „)	53,4
Nach Salkowski („ 14 „ + „ 44 „)	49,8
„ „ („ 10 „ + „ 25 „)	53,3

4. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,030. Tagesmenge 800 ccm.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 90,0 mg Harnsäure.
„ „ „ + 10% Ammonphosphat	88,2
„ „ „ + 20%	87,0
Nach Hopkins (Mutterl. 18 ccm. + Waschwasser 30 ccm.)	83,0
„ „ („ 10 „ + „ 35 „)	81,4
Nach Salkowski („ 14 „ + „ 30 „)	81,7
„ „ („ 26 „ + „ 50 „)	80,3

5. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,0045. Tagesmenge 2080 ccm.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 15,3 mg Harnsäure.
Nach Hopkins-Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄ (Mutterl. 7 ccm. + Waschw. 40 ccm.)	12,1
Nach Hopkins (Mutterl. 13 ccm. + Waschw. 25 ccm.)	13,0
„ „ („ 5 „ + „ 30 „)	13,7
Nach Salkowski („ 8 „ + „ 43 „)	13,0
„ „ („ 6 „ + „ 50 „)	13,0

6. Fieberharn. (Grippe).

Specificisches Gewicht 1,033. Tagesmenge 1080 ccm.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 72,3 mg Harnsäure.
Nach Hopkins-Folin Harn + 10% (Mutterl. 9 ccm. + Waschw. 50 ccm.)	68,3
Nach Salkowski (Mutterl. 30 ccm. + Waschw. 50 ccm.)	67,6

7. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,024. Tagesmenge 500 ccm.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 65,8 mg Harnsäure.
Nach Hopkins-Folin + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄ (Mutterl. 20 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	» 61,1 »

8. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,020.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 24,0 mg Harnsäure.
Nach Hopkins (Mutterl. 13 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	» 20,8 »
» (» 12 » + » 32 »)	» 20,8 »
Nach Salkowski (» 9 » + » 34 »)	» 20,8 »

9. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,024.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 55,9 mg Harnsäure.
Nach Hopkins (Mutterl. 8 ccm. + Waschw. 28 ccm.)	» 52,5 »
Nach Salkowski (» 11 » + » 37 »)	» 52,1 »
» (» 15 » + » 48 »)	» 52,7 »

10. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,0245.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 48,9 mg Harnsäure.
Nach Hopkins (Mutterl. 7 ccm. + Waschw. 38 ccm.)	» 45,6 »
Nach Salkowski (» 10 » + » 40 »)	» 49,3 »
» (» 11 » + » 40 »)	» 48,6 »

11. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,0145.

Nach Hopkins (Mutterl. 8 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	ergab 36,4 mg Harnsäure.
Nach Salkowski (» 25 » + » 30 »)	» 36,4 »
» (» 18 » + » 22 »)	» 37,1 »

12. Harn eines Irrenkranken.

Specificisches Gewicht 1,0205.

Nach Folin Harn + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄	ergab 36,0 mg Harnsäure.
Nach Hopkins-Folin + 10% (NH ₄) ₂ SO ₄ (Mutterl. 12 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	» 33,4 »
Nach Hopkins (Mutterl. 18 ccm. + Waschw. 28 ccm.)	» 33,7 »
» (» 14 » + » 34 »)	» 35,3 »
Nach Salkowski (» 17 » + » 40 »)	» 33,5 »
» (» 10 » + » 48 »)	» 33,8 »

13. Gemischter Harn.

Nach Folin Harn + 10% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ergab 50,2 mg Harnsäure.
Nach Hopkins-Folin 10% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Mutterl. 14 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	» 48,4 »
Nach Hopkins (Mutterl. 15 ccm. + Waschw. 26 ccm.)	» 49,1 »
» (» 9 » + » 32 »)	» 48,0 »
Nach Salkowski (» 9 » + » 40 »)	» 47,6 »
» (» 8 » + » 30 »)	» 46,3 »

14. Harn eines Irrenkranken.

Specificsches Gewicht 1,030.

Nach Folin Harn + 10% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ergab 24,0 mg Harnsäure.
Nach Hopkins (Mutterl. 13 ccm. + Waschw. 30 ccm.)	» 20,8 »
» (» 12 » + » 32 »)	» 20,8 »
Nach Salkowski (» 9 » + » 34 »)	» 20,8 »

15. Harn eines Irrenkranken.

Specificsches Gewicht 1,024.

Nach Folin Harn + 10% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ergab 55,9 mg Harnsäure.
Nach Hopkins (Mutterl. 8 ccm. + Waschw. 28 ccm.)	» 52,5 »
Nach Salkowski (» 15 » + » 48 »)	» 52,7 »

Die obenstehenden Resultate stimmen somit mit denen von Jolles erhaltenen überein. Da aber Jolles seine Harnproben nur 2—3 Stunden vor dem Filtriren stehen liess, so ist dies eigentlich auf den ersten Blick befremdend, denn gleich den früheren Folin'schen hätten seine Resultate niedriger ausfallen sollen. Dass dies nicht der Fall ist, liegt wohl daran, dass Jolles seine Harne nicht immer filtrirte. Wir werden auf die Nothwendigkeit des Filtrirens weiter unten zu sprechen kommen. Zuerst sei es uns gestattet, den Grund zu erörtern, weshalb unsere Resultate etwas höhere Werthe ergaben, als die nach Salkowski oder Hopkins erhaltenen.

Wir machten im Laufe unserer Untersuchungen die Erfahrung, dass es bei manchen Harnen einfach unmöglich war, die nach Salkowski oder Hopkins ermittelten Werthe durch direktes Titiren der Ammonsalzefällungen zu erhalten. Von demselben Individuum stammende Harne ergaben an einigen Tagen richtige, an anderen durchaus zu hohe Resultate. Es war somit nicht zu leugnen, dass es viele pathologische, wie auch anscheinend normale Harne gibt, die einen Körper ent-

halten, der wie Harnsäure durch geringe Mengen Ammonsalze gefällt wird und auch das Kaliumpermanganat reducirt. Da es sich weiter ergab, dass blosses Filtriren des Harnes vor der Ausfällung der Harnsäure den hierdurch entstehenden Fehler, auch bei den klarsten Harnen, immer verminderte, so wurde angenommen, dass es sich um die von K. Mörner erwähnte Mucoids substanz handelte, die auch bei anscheinend klaren Harnen in colloider Lösung vorhanden sein konnte. Inwieweit diese Annahme richtig ist, entzieht sich bislang der Beurtheilung. Ein Mittel war aber schliesslich gefunden, durch welches die Substanz vor der Ausfällung der Harnsäure entfernt werden konnte. Der Körper ist nämlich durch die anzuwendenden Mengen Ammonsalz bei saurer Reaction fällbar. Setzt man etwa 1 ccm. 10%iger Essigsäure neben 10 g Ammonsalz 100 ccm. Harn zu, so entsteht sogleich bei solchen Harnen eine flockige, wegen ihrer Durchsichtigkeit schwer sichtbare Fällung, bestehend aus eben diesem Körper. Da es sich bei unseren Untersuchungen nur um das Wegschaffen dieses störenden Körpers handelte, und da er weiter in nur ganz geringen Mengen vorhanden ist, so wurde er nicht näher studirt. Immerhin können einige Angaben darüber gemacht werden. Er gibt die Biuretreaction, ist in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich. Nach Kochen desselben mit verdünnter HCl konnte keine kupferoxyd reducirende Wirkung festgestellt werden; die angewandte Menge war aber möglicher Weise zu gering, um hierüber sichere Resultate zu ergeben. Ferner sei bemerkt, dass die Substanz sehr schwer abzufiltriren ist, denn selbst eine geringe Menge derselben verstopft die Poren des Filters fast vollständig. Die Anwesenheit dieses Körpers erklärt nun, warum Hopkins und nach ihm Ritter das aus Harn durch Ammonchlorid erzeugte Ammonurat in keiner Weise titrirungsfähig erhalten konnten, denn durch Sättigung mit Ammonchlorid, besonders ohne Zusatz von Ammoniak, wird derselbe anscheinend quantitativ gefällt.

Um nun diesen Körper vor der Abscheidung der Harnsäure zu entfernen, ist es vorthellhaft, neben ihm auch eine andere Fällung in dem Harn zu erzeugen, um das Abfiltriren

zu erleichtern. Eine solche, selbst gut abfiltrierende, bei saurer Reaction entstehende Fällung von Uranphosphat wird durch Zusatz von etwas Uranacetat erzeugt.

Die Ammonsulfatmethode der Harnsäurebestimmung hat sich daher in folgender Weise gestaltet: 500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm. 10%iger Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm. Wasser gelöst. Das Volumen der so erhaltenen Lösung ist fast genau 1 Liter. 75 ccm. obiger Lösung wird mit 300 ccm. Harn in einer Flasche von 500 ccm. Inhalt gemischt. Um dem Niederschlag Zeit zum Absetzen zu geben, wird die Mischung 5 Minuten stehen gelassen, alsdann durch zwei Faltenfilter filtrirt und je 125 ccm. der Filtrate in zwei Bechergläser abgemessen. Diesen Filtraten werden nun 5 ccm. concentrirten Ammoniaks beigesetzt und nach etwas Umrühren wird die Lösung bis zum nächsten Tage weggestellt. Von dem nun immer am Boden des Becherglases abgesetzten Ammonurat wird die obenstehende Flüssigkeit vorsichtig auf ein Filter (Schleicher und Schüll Nr. 597) gegossen, zuletzt die Fällung mittelst 10%iger Ammonsulfatlösung auf das Filter gespült und einige Mal gewaschen. Spuren von Chloriden stören die Titration nicht und das ganze Filtriren und Auswaschen kann in obiger Weise in 20—30 Minuten beendet werden. Bei dem Zurückspülen des Urates in das Becherglas empfiehlt es sich, das Filter zuerst aus dem Trichter zu nehmen und zu öffnen, anstatt dasselbe nur mit dem Glasstabe zu durchstossen. Dem Ammonurat, in annähernd 100 ccm. Wasser aufgeschlemmt, wird 15 ccm. concentrirte Schwefelsäure zugesetzt und die erhaltene Lösung sogleich titrirt. Gegen das Ende der Titration ist es zweckmässig, die Kaliumpermanganatlösung in Portionen von je zwei Tropfen hineinfließen zu lassen, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist. Jeder Cubikcentimeter $\frac{1}{20}$ -Permanganatlösung entspricht 3,75 mg Harnsäure.¹⁾ Eine

¹⁾ Da die Titration der Harnsäure sich wohl immer als das bequemste Verfahren zur Bestimmung derselben bewahren wird, welche Methode zur Isolirung der Harnsäure man auch anwende, so sollen noch einige Bemerkungen hierüber beigefügt werden. Die Bedenken Ritter's

Correctur von 3 mg Harnsäure pro je 100 ccm. des angewandten Harns ist wegen der Löslichkeit des Ammonurates hinzuzufügen.

Bei den unten hinzuzufügenden Harnsäurebestimmungen wurde die anzuwendende Correctur nicht beigegeben, um die Vergleichung der direkt nach obiger Methode erhaltenen Zahlen mit den nach Salkowski erhaltenen zu erleichtern. Inwieweit die angegebene Correctur der Löslichkeit des Ammonurates bei Harnen genau entspricht, erscheint uns fast unmöglich, festzustellen. Die Löslichkeit des Ammonurates aus reinen Harnsäurelösungen entspricht 1,5 mg pro 100 ccm. Lösung. Bei Harnen erscheint diese Löslichkeit etwas grösser zu sein und wir haben die anzuwendende Correctur als 3 mg pro 100 ccm. Harn vorgeschlagen. Die Gründe hierfür sind folgende: In grösseren Mengen von aus Harnen erhaltenen Ammonsulfatfiltraten wurde die Harnsäure nach Salkowski bestimmt. Diese Silberniederschläge enthalten neben Harnsäure und den bekannten Alloxurbasen auch einen unbekanntem Körper, der das Kaliumpermanganat reducirt. Da aus einem Liter Harnfiltrat bedeutende Mengen dieses Körpers und nur wenig Harnsäure zuletzt in etwa 20—30 ccm. Flüssigkeit erhalten werden, so ist es gar nicht sicher, ob die auskrystallisierende Harnsäure nicht durch bedeutende Mengen dieses unbekanntem Körpers verunreinigt ist und ob nicht die erhaltenen Harnsäuremengen etwas zu hoch ausfallen. Aus 1000 ccm. Harnfiltrat wurde indessen zweimal 27 mg Harnsäure und aus 700 ccm. 17 mg Harnsäure erhalten. In jedem Falle betrug

und nach ihm Mörner's, dass das Wägen doch der Titration, wegen der Zersetzlichkeit der Permanganatlösungen bei einzelnen Harnsäurebestimmungen, vorzuziehen sei, sind kaum berechtigt. Die Untersuchungen Morse's (American Chemical Journal, Bd. 18, S. 401; Bd. 20, S. 521) haben ja gezeigt, dass reine Kaliumpermanganatlösungen sich Monate lang unverändert halten. Ferner hielt sich Oxalsäure, durch die man den Titer der Permanganatlösung in einigen Minuten feststellen kann, in normaler Lösung sehr lange Zeit unverändert. Uebrigens können zu jeder Zeit Permanganatlösungen frisch bereitet und dieselben für klinische Zwecke ohne Feststellung des Titors benutzt werden, wenn man reine Kaliumpermanganatpräparate, wie z. B. Kahlbaum's, benutzt.

die Mutterlauge + Waschwasser 60 ccm. Wenn wir demgemäss den Harnsäuregehalt des Ammonsulfatfiltrates als 3 mg pro 100 ccm. anschlagen, so entspricht dies dem aus einer grossen Anzahl Harnen enthaltenen Mittelwerth und da es sich ferner in diesem Falle nur um gesättigte Mutterlaugen und nicht auch um Waschflüssigkeiten handelt, wie dies bei der Salkowski'schen Correctur der Fall ist, so ist wohl die Annahme berechtigt, dass diese Correctur auch ziemlich constant sein muss.

Bei den folgenden Harnsäurebestimmungen wurde die Salkowski'sche Methode immer in der Weise abgeändert, dass die Phosphate zusammen mit den Silberverbindungen ausgefällt werden. Die Zersetzung des Silberniederschlags durch H_2S wurde in oben beschriebener Weise unter Zusatz von etwas Kupfersulfat ausgeführt. Das Ammonsulfatverfahren wurde, wie oben geschildert, ausgeführt und dabei wie zuvor die anzuwendende Correctur von 3 mg Harnsäure zwecks leichter Vergleichung nicht berechnet.

Art der Harn	Harnsäure in mg nach der Ammon- sulfat- methode	Nach Salkowski	
		Harnsäure in mg.	Mutterlauge + Wasch- wasser
1 Pneumonieharn, eiweisshaltig	33,2	34,5	70 ccm.
		33,7	80
2 Fieberharn, allgemeine Tuberculose .	47,3	46,9	65
3 Fieberharn	59,3	58,1	83
4 Fieberharn, croupöse Pneumonie . .	31,9	33,7	50
5 Fieberharn, tuberculöse Peritonitis .	43,8	43,5	80
6 Diabetes mellitus. Allgemeine Paralyse	26,6	26,4	60
		25,6	85
7 Pneumonieharn	77,6	78,0	80
8 Pneumonieharn	53,3	53,7	80
9 Fieberharn	50,9	50,5	70
		50,9	80
10 Fieberharn	48,7	47,6	60
		48,7	65
11 Fieberharn, stark gefärbt	104,2	103,4	75
		102,3	80

Art der Harn e	Harnsäure in mg nach der Ammon- sulfat- methode	Nach Salkowski	
		Harnsäure in mg	Mutterlauge + Wasch- wasser
12 Fieberharn, stark gefärbt	18,8	18,5	60 ccm.
		17,4	50 »
13 Fieberharn. Gelenkrheumatismus . .	50,6	50,6	80 »
		51,3	80 »
14 Fieberharn. Phthisis	22,5	24,0	80 »
		23,6	70 »
15 Septische Endometritis	66,7	66,4	80 »
16 Normaler Harn, stark gefärbt	51,9	51,0	60 »
		51,4	80 »
17 Normaler Harn	32,7	32,9	70 »
		32,6	80 »
18 Gemischter Harn	51,5	51,6	90 »
19 Icterischer Harn, sehr stark gefärbt. (Icterische Harn e müssen zuerst durch Zusatz von etwas Eiweisslösung und Aufkochen entfärbt werden.)	24,4	25,1	60 »

Ueber die Methoden von Mörner und Jolles.

Als Anhang dieser Arbeit sollen noch einige Bemerkungen über die zwei neuen, von Mörner und Jolles angegebenen Methoden zur Bestimmung der Harnsäure beigefügt werden.

Nach Mörner wird die Harnsäure durch Ammonchlorid gefällt; das Ammoniak des Wassers wie das des Ammonchlorids wird durch kochende Natronlauge entfernt und die in Lösung zurückbleibende Harnsäure nach Kjeldahl als Ammoniak bestimmt. Inwiefern dieses Verfahren bequemer als das ursprüngliche Hopkins'sche sein soll, ist nicht ersichtlich; jedenfalls ist es ungenauer, denn neben der Harnsäure wird auch der oben beschriebene Eiweisskörper gefällt und bei der Stickstoffbestimmung als Harnsäure berechnet. Die Mörner'sche Angabe, dass Harnsäure durch Erwärmen besser als bei gewöhnlicher Temperatur als Ammonurat ausgefällt wird, können wir nach unseren Erfahrungen auch nicht bestätigen.

Druckfehler-Berichtigung.

Band XXXII Seite 570 und 571 lies **Wörner** statt Mörner.

Die Jolles'sche Methode zur Bestimmung der Harnsäure beruht, wie die Mörner'sche, auf der Herausfällung der Harnsäure als Ammonurat und der Abtreibung des an die Salze gebundenen Ammoniaks durch kochende Alkalien. Nur benützt Jolles Ammonacetat anstatt Ammonchlorid zur Herausfällung der Harnsäure und Magnesiumoxyd anstatt Natronlauge zur Abtreibung des Ammoniaks. Anstatt die Harnsäure nach Kjeldahl zu Ammonsulfat zu oxydiren, oxydirt Jolles zu Harnstoff unter Anwendung von kochendem Kaliumpermanganat und Schwefelsäure. Der Harnstoff wird darauf durch Natriumhypobromit zersetzt und die Harnsäure aus dem erhaltenen Volumen Stickstoff berechnet.

Die Jolles'sche Angabe, dass Harnsäure durch kochendes Kaliumpermanganat und Schwefelsäure quantitativ in Harnstoff gespalten wird und dass dabei kein Ammonsulfat entsteht, erscheint uns etwas zweifelhaft, denn selbst, wenn auch nur Harnstoff ausschliesslich zuerst geformt wurde, so wird derselbe doch durch kochende, verdünnte Mineralsäure zum Theil in Ammoniak und Kohlensäure gespalten. Es ist übrigens nicht ersichtlich, warum Jolles solch Gewicht auf die Spaltung der Harnsäure nur bis zu Harnstoff legt, denn Ammoniak wird ja vollständiger als Harnstoff durch Natriumhypobromit in Wasser und Stickstoff gespalten.¹⁾

Uebrigens ist aber auch die Zersetzung des Harnstoffs durch Natriumhypobromit so ungenau, dass die auf diesem Princip beruhenden Methoden zur Bestimmung des Harnstoffs im Harn jetzt wohl überhaupt nur für klinische Zwecke, wo es sich nicht um eine besondere Genauigkeit handelt, gebraucht werden. Diese Bedenken gegen das Jolles'sche Verfahren werden aber noch schwerwiegendere, wenn man noch andere Bedingungen, unter denen er arbeitet, in Mitrechnung zieht.

1) In dem chemischen Laboratorium des «Mc Lean Hospital» wird Harnstoff bisweilen in der Weise bestimmt, dass der nach Mörner und Sjöquist oder nach Krüger von anderen Stickstoffverbindungen des Harnes isolirte Harnstoff nach Folin durch kochendes Magnesiumchlorid in Ammoniak gespalten und darauf nach Knop und Dietrich als Stickstoff bestimmt wird.

Die Zersetzung des Harnstoffs durch Natriumhypobromit ist nämlich nie quantitativ, ist aber um so unvollständiger, je verdünnter die das angewandte Natriumhypobromit enthaltende Natronlauge ist. Der nach Jolles aus der Harnsäure erhaltene Harnstoff, dessen Menge höchstens dem Harnstoff in etwa 3 bis 4 ccm. normalen Harns entspricht, ist nun aber in 200 bis 250 ccm. Wasser gelöst. Dazu kommt noch, dass Jolles nur 80 g NaOH im Liter, anstatt der üblichen 100 g in 250 ccm. benützt. Die Annahme Jolles', dass bei seiner Methode der Harnstoff quantitativ zersetzt wird, scheint uns unter diesen Umständen weiterer Bestätigung zu bedürfen, auch ist die Thatsache nicht zu vergessen, dass eine relativ sehr beträchtliche Menge Stickstoff in der grossen Quantität Wasser absorbiert wird.

Da wir in letzter Zeit auch mit reinen Harnstofflösungen gearbeitet haben, wurde einmal folgender Versuch angestellt: 20 ccm. 0,47^o/_oiger Harnstofflösung wurden durch 25 ccm. Natriumhypobromit unter den üblichen Bedingungen zersetzt. Es wurden erhalten 30,8 ccm. Stickstoff (741 mm., 25^o), entsprechend 89,3^o/_o des angewandten Harnstoffs. Darauf wurden 20 ccm. derselben Harnstofflösung auf 200 ccm. verdünnt und in derselben Weise durch Zusatz von 25 ccm. Natriumhypobromitlösung zersetzt, in diesem Falle wurden nur 8,6 ccm. Stickstoff erhalten.