

Ueber die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn.

Von
Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Dr. Ad. Jolles
in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 15. August 1901.)

In einer Abhandlung, die den obenstehenden Titel trägt, haben Folin und Shaffer¹⁾ gelegentlich der Besprechung der neueren Methoden zur Harnsäurebestimmung im Harn einige Einwände gegen die von mir in Vorschlag gebrachte Methode zur quantitativen Harnsäurebestimmung im Harn erhoben, die — wie im Nachstehenden gezeigt wird — einer experimentellen Nachprüfung nicht Stand halten. Zunächst bezweifelten die Verfasser, dass die Zerlegung der Harnsäure unter den von mir angegebenen Bedingungen nur bis zum Harnstoff geht, und nehmen an, dass der Harnstoff in Ammoniak und Kohlensäure zerlegt wird. Ob zwar ich durch die Analyse des oxalsauren Harnstoffes den Nachweis geliefert habe, dass die Zerlegung der Harnsäure in schwach saurer Lösung nur bis zum Harnstoff erfolgt, so wäre selbst im Falle der Richtigkeit dieses Einwurfes die Exactheit der Methode durchaus nicht erschüttert, indem ja bekanntermassen Ammoniaksalze durch Bromlauge quantitativ ihren Stickstoff in Gasform abgeben. Durch diese Bemerkung wird also die Genauigkeit der Methode in keiner Weise tangirt. Was nun einen wichtigeren Einwand betrifft, dass nämlich die volumetrische Bestimmung des Stickstoffes aus dem Harnstoffe mittelst Bromlauge nicht genau sei, so muss demgegenüber darauf verwiesen werden, dass diese Behauptung in dieser allgemeinen Form absolut unrichtig ist. Dass die volumetrische Bestimmung des Harnstoffes von der Concentration beeinflusst wird, ist eine allbekannte Thatsache. Nachdem ich aber, wie aus meinen zahlreichen publicirten Versuchen hervorgeht, mit

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XXXII. S. 552.

reiner Harnsäure richtige Resultate erhalten habe, so geht daraus hervor, dass bei Einhaltung der von mir angegebenen Bedingungen, unter denen speciell auf die Anwendung eines Schüttel-Apparates besonders Gewicht gelegt werden muss, die Fehler die zulässigen Grenzen nicht überschreiten. Dass ich nicht die übliche, sondern eine verdünnte Bromlauge zur Anwendung vorgeschlagen habe, beruht darauf, dass in den praktisch möglichen Fällen nach meinen Versuchen diese Menge von Brom ausreicht.

Um dagegen gesichert zu sein, dass nicht zu viel Harnsäure im Verhältnisse zur Bromlauge vorhanden sei, habe ich auch ausdrücklich angegeben, bei concentrirten Harnen geringere, bei verdünnten Harnen grössere Harnquantitäten (50 resp. 200 cem.) in Arbeit zu nehmen.

Folin und Shaffer führen in ihrer Arbeit als Beweis für die Richtigkeit ihrer Behauptung, dass die Harnstoffbestimmung in verdünnter Lösung unausführbar sei, einen Versuch an, in welchem nur circa der vierte Theil des Gesamtstickstoffes entwickelt wird. Dieses auffällige Resultat hat mich veranlasst, diesen Versuch zu wiederholen, und aus dem Resultate, welches unter den Beleganalysen angeführt ist (Versuch 2), geht hervor, dass der Fehler in diesem Falle nur gering ist und circa 3% beträgt. Ich habe im Anschluss an diesen Versuch noch eine Anzahl weiterer Beleganalysen ausgeführt, die alle eine quantitative Zerlegung des Harnstoffes erweisen. (Versuch IV, V und VI). Worauf die grosse Differenz zwischen meinen Resultaten und denen von Folin und Shaffer zurückzuführen ist, vermag ich nicht zu entscheiden, vermuthlich haben die Verfasser keinen Schüttelapparat verwendet.¹⁾ Jedenfalls ist es sehr zu bedauern, dass die Verfasser keinen einzigen Versuch mit reiner Harnsäure nach dem von mir beschriebenen

1) Bei dieser Gelegenheit sei bemerkt, dass die Glasröhren des Schüttelcylinders unmittelbar unter dem Gummistopfen abgeschnitten werden können und hierdurch noch besser als durch das Hinüberbiegen das Eindringen von Flüssigkeit in den Kautschukschlauch verhindert wird.

Verfahren ausgeführt haben und eine Methode kritisieren, ohne den einfachsten Weg zu ihrer Erprobung einzuschlagen, nämlich den einer Beleganalyse.

Nachdem die Wiederholung der Folin-Shaffer'schen Versuche ergeben hat, dass auch in dieser Verdünnung die volumetrische Harnstoffbestimmung hinlänglich gute Resultate liefert,¹⁾ wäre für mich kein Grund vorhanden gewesen, mich mit den Conclusionen zu beschäftigen, welche Folin und Shaffer an diesen Versuch geknüpft haben. Die Angaben von Folin und Shaffer haben mich aber veranlasst, die von mir angegebene Methode der volumetrischen Bestimmung der Harnsäure unter verschiedenen Concentrationsverhältnissen der Bromlauge durchzuprüfen.

Die Resultate sind in Kürze folgende:

Die von mir angegebene Verdünnung der Natriumhypobromitlösung (80 g Natronhydrat und 25 g Brom pro Liter) liefert richtige Resultate. Bei der concentrirten Natriumhypobromitlösung (100 g NaOH in 250 ccm.) hingegen treten Fehler auf, für die eine bestimmte Ursache derzeit nicht angegeben werden kann.

Die neuerlich durchgeführten Beleganalysen mit reiner Harnsäure zeigen die Zuverlässigkeit meiner Methode. Uebrigens möchte ich bemerken, dass bei meiner Methode das Gesamtvolumen der Flüssigkeit im Schüttelcylinder inclusive Bromlauge circa 100 bis 110 ccm. beträgt, nachdem das Oxydationsprodukt nach erfolgter Entfernung des überschüssigen Permanganats mit einigen Tropfen Oxalsäure auf circa 25 bis 35 ccm. eingedampft wird.

Was endlich die von Folin und Shaffer angegebenen Modificationen ihrer Methode betrifft, so ist es immerhin möglich, dass dieselben einen Fortschritt bedeuten, hingegen muss nach wie vor das Bedenken gegen die Methode aufrecht erhalten werden, dass in vielen Fällen, namentlich bei patho-

¹⁾ Voraussetzung ist immer, dass die Temperatur des Apparates vor und nach der Ablesung die gleiche sei, d. h. der Apparat muss vor Luftzug geschützt sein und nach der Reaction muss man circa 10 Minuten warten, bis sich das Temperaturgleichgewicht eingestellt hat.

logischen Harnen, der Endpunkt der Titration nicht mit Sicherheit festgehalten werden kann.

Beleganalysen.

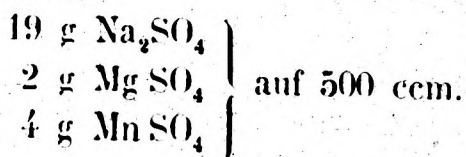
I. 20 ccm. 0.47 %iger Harnstofflösung wurden durch 25 ccm. der concentrirten Natriumhypobromitlösung (400 g NaOH und 100 g Brom pro Liter) unter den vorschrittmässigen Bedingungen zersetzt. Es wurden erhalten 38.89 ccm. N (748 mm., 25° C.), entsprechend 99.04% des angewandten Harnstoffes.

II. 20 ccm. derselben Harnstofflösung mit 100 ccm. Wasser verdünnt und in derselben Weise durch Zusatz von 25 ccm. concentrirter Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurde erhalten 37.99 ccm. Stickstoff (748 mm., 24° C.), entsprechend 97.3% des angewandten Harnstoffes.

III. 10 ccm. derselben Harnstofflösung mit 100 ccm. Wasser verdünnt, 5 ccm. Lauge¹⁾ hinzugefügt und in derselben Weise durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung (80 g Natronhydrat und 25 g Brom pro Liter) zersetzt. Es wurden erhalten 19.27 ccm. Stickstoff (753 mm., 25° C.), entsprechend 98.8% des angewandten Harnstoffes.

IV. 10 ccm. derselben Harnstofflösung mit 50 ccm. Wasser verdünnt, 5 ccm. Lauge¹⁾ hinzugefügt und in derselben Weise durch 20 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 19.76 ccm. Stickstoff (745 mm., 25° C.), entsprechend 99.4% des angewandten Harnstoffes.

V. 10 ccm. derselben Harnstofflösung mit 50 ccm. Wasser verdünnt, hierauf mit 5 ccm. Lauge¹⁾ und 25 ccm. einer Salzlösung von folgender Zusammensetzung:



hinzugefügt. Nach erfolgter Zersetzung durch 20 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung wurden erhalten 19.44 ccm. Stickstoff (745 mm., 25° C.), entsprechend 99.1% des angewandten Harnstoffes.

VI. 10 ccm. derselben Harnstofflösung mit 5 ccm. Lauge¹⁾ versetzt und durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 20.35 ccm. Stickstoff (724 mm., 24° C.), entsprechend 101.4% des angewandten Harnstoffes.

VII. 5 ccm. derselben Harnstofflösung mit 5 ccm. Lauge¹⁾ versetzt und durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 10.02 ccm. Stickstoff (751 mm., 25° C.), entsprechend 99.77% des angewandten Harnstoffes.

VIII. 2.001 g chemisch reine Harnsäure wurde in vorschritts-

1) 350 g NaOH pro Liter.

mässiger Weise mit Permanganat oxydirt und das sehr schwach alkalische Oxydationsprodukt mit destillirtem Wasser auf 500 ccm. aufgefüllt.

a) 20 ccm. dieser Lösung mit 50 ccm. Wasser verdünnt und durch 20 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 23,94 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 99,4% der angewandten Harnsäure.

b) Versuch a) wiederholt: Es wurden erhalten 24,18 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 100,3% der angewandten Harnsäure.

c) Versuch a) wiederholt: Es wurden erhalten 23,86 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 99,45% der angewandten Harnsäure.

d) 25 ccm. des Oxydationsproduktes mit 50 ccm. Wasser verdünnt und durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 30,07 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 99,8% der angewandten Harnsäure.

e) Versuch d) wiederholt: Es wurden erhalten 29,99 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 99,6% der angewandten Harnsäure.

f) 20 ccm. des Oxydationsproduktes wurden durch 20 ccm. der concentrirten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 17,84 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 74,1% der angewandten Harnsäure.

g) Versuch f) wiederholt: Es wurden erhalten 18,03 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 74,8% der angewandten Harnsäure.

h) 20 ccm. des Oxydationsproduktes mit 100 ccm. Wasser versetzt und durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 23,86 ccm. Stickstoff (752 mm., 24° C.), entsprechend 99,05% der angewandten Harnsäure.

IX. 0,1026 g chemisch reine Harnsäure mit 10 ccm. Schwefelsäure (1,4) versetzt, oxydirt und nach beendigter Oxydation 0,19 Magnesiumoxyd zugesetzt — um annähernd denselben Salzgehalt zu erreichen, wie es bei der aus dem Harn abgetrennten Harnsäure der Fall ist —, mit einigen Tropfen Oxalsäure der geringe Ueberschuss an Permanganat entfernt, das Oxydationsprodukt auf circa 25 ccm. eingedampft, in das Schüttelgefäss des Azotometers gebracht, mit destillirtem Wasser das Becherglas zweimal ausgespült, unter Kühlung schwach alkalisch gemacht und durch 25 ccm. der verdünnten Natriumhypobromitlösung zersetzt. Es wurden erhalten 31,10 ccm. Stickstoff (749 mm., 25° C.), entsprechend 99,8% der angewandten Harnsäure. (Das Gesamtvolumen im Schüttelgefäss incl. 25 ccm. Bromlauge betrug circa 110 ccm.)

X. 0,0339 g Harnsäure, in gleicher Weise behandelt, lieferten 10,18 ccm. Stickstoff (746 mm., 25° C.), entsprechend 98,6% der angewandten Harnsäure.

XI. 0,0641 g Harnsäure, in gleicher Weise behandelt, lieferten 19,49 ccm. Stickstoff (746 mm., 25° C.), entsprechend 99,05% der angewandten Harnsäure.