

Ueber die Jolles'sche quantitative Harnsäurebestimmung.

Von

Dr. Gabriel Mátrai, emer. Universitätsassistent.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium des Dr. Gabriel Mátrai in Budapest.
(Der Redaction zugegangen am 13. März 1902.)

Ich beschäftigte mich gerade mit der quantitativen Bestimmung der Harnsäure, als über diesen Gegenstand eine Abhandlung von O. Folin und A. Shaffer¹⁾ erschien, in welcher auch über die Jolles'sche Bestimmung einige Bemerkungen anzutreffen sind.

Nachdem auch meine Versuchsergebnisse mit der Jolles'schen nicht übereinstimmen, beschloss ich, dieses Verfahren näher zu studiren. Zunächst machte ich es mir zur Aufgabe, einige der Jolles'schen Versuche nachzuprüfen, um mich von der Richtigkeit derselben zu überzeugen.

1. 4,2978 g²⁾ Harnsäure wurden in Wasser aufgeschlämmt, mit 60 ccm. Schwefelsäure (Dichte 1,4) angesäuert und mit der von ihm vorgeschriebenen concentrirten Kaliumpermanganatlösung (6 g auf 1 l.) oxydirt, so zwar, dass wir stets 5 ccm. Permanganatlösung hinzusetzten, bis die letzte Permanganatdosis selbst nach $\frac{1}{4}$ stündigem Kochen nicht mehr verschwand. Alsdann kann die Oxydation als vollendet angesehen werden und mit einer Oxalsäurelösung entfärbt werden. Nachher machen wir das Oxydationsprodukt alkalisch und giessen auf 1 l. auf. So schreibt Jolles den Gang seines Versuches vor, und trotzdem ich genau nach seiner Vorschrift verfahren bin,

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, Heft 6.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, Heft 3.

war die Flüssigkeitsmenge noch vor Vollendung der Oxydation auf 1 l. angewachsen, und war ich nicht in der Lage, den Versuch zu Ende zu führen.

Nachdem dieser Versuch nicht durchführbar war, machte ich mich an einen anderen in seiner Versuchsreihe heran.

II. 0,1026 g¹⁾ Harnsäure mischen wir mit 10 cem. Schwefelsäure (Dichte 1,4), oxydiren und versetzen nach Vollendung der Oxydation mit 0,19 g MgO und dampfen, nachdem wir mit einigen Tropfen Oxalsäure den Permanganatüberschuss entfernt haben, auf 25 cem. ein und bringen das Produkt in die Schüttelvorrichtung, wo wir es mit 25 cem. verdünnter Lösung von Natriumhypobromit (80 g Natriumhydrat und 25 g Brom auf 1 l.) zersetzen. Jolles fand 99,8% Harnsäure, während unser Ergebniss nur 22,46% war; in unserem Falle war das gefundene Volumen $N = 6,7$ cem. ($b = 767$, $t = 21^\circ$).

Es war also der von uns gefundene Harnsäurewerth nicht einmal der vierte Theil des Jolles'schen Resultates.

III. Zu 0,0863 g Harnsäure gaben wir Schwefelsäure (1,4 Dichte), oxydirten und bestimmten durch Versetzen mit Br-Lauge den N und es ergab sich als Resultat 0,0477, d. i. 55,27%.

Die Differenz zwischen unserer Beiden, unter den gleichen Verhältnissen ausgeführten Versuchen ist so auffallend, dass dies geradezu unbegreiflich erscheint.

Meiner bescheidenen Meinung nach scheint es, dass dieses Verfahren nicht geeignet ist, die Harnsäure quantitativ zu bestimmen.

Nach dem Erscheinen des vorhin citirten Folin'schen Artikels äusserte sich Jolles dahin,²⁾ dass es bei seiner Methode der quantitativen Umwandlung von Harnsäure zu Harnstoff zur Grundbedingung gehört, dass bei dem Oxydationsprocesse je 0,1 g Harnsäure ca. 500 cem. Wasser entspreche, d. h. dass dies der Grad der Verdünnung sein muss, so wir ein richtiges Resultat erreichen wollen.

Wenn dies aber eine so fundamentelle Bedingung seines

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, Heft 5 u. 6, S. 546.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, Heft 1, S. 31.

Verfahrens ist, wie ist es zu erklären, dass er hiervon in seiner ersten Publication (diese Zeitschrift, Bd. XXIX, Heft 3) keine Erwähnung gethan? Es muss angenommen werden, dass Jolles seine ersten Versuche mit Vernachlässigung dieser Grundbedingung ausgeführt hat und so in folgendes Dilemma gerathen: Entweder hat er die Harnsäurelösungen schon zur Zeit des ersten Artikels entsprechend diluirt oder nicht.

Hat er ersteres gethan, so musste er bei dem oben erwähnten unausführlichen Versuche (Nr. 1) nicht mit 1 l. (wie er angibt) Versuchsmaterial arbeiten, sondern laut der von ihm vorgeschriebenen Verdünnungsmethode (0,1 g Harnsäure auf 500 ccm. Wasser) ca. 21—22 l. (zu 4,2978 g Harnsäure) Wasser zur Ausführung der Oxydation verwenden. Ein solches Kochgefäss dürfte aber in dem Jolles'schen Laboratorium kaum vorhanden sein. Hat er aber nicht dieserart verdünnt, wie konnte er zu solch glänzendem Resultate gelangen, da nach ihm nur bei Beobachtung dieser Grundbedingung ein genaues Resultat zu erreichen ist?

Wohl kann man mit dieser durch Jolles angegebenen Modification etwas bessere Resultate erlangen, aber auch da bleiben meine Versuchsergebnisse von jenen glänzenden Erfolgen Jolles', die er mit 99,8% taxirt, sehr weit zurück; andererseits aber bringt sie eine neue Fehlerquelle in die Methode hinein, denn wenn wir nämlich mit einer so grossen Verdünnung arbeiten, dass wir 0,1 g Harnsäure in 500 ccm. Wasser lösen, so wird aus dem durch die Oxydation entstandenen Harnstoff zufolge Einwirkung von Br-Lauge nur ca. 2,5—3 ccm. N-Gas entwickelt, und da das Wasser stets etwas N absorbirt, kommt uns ein nicht unwesentlicher Theil des Nitrogens abhanden. Der hieraus resultirende Fehler würde sich bei grösserer Gasentwicklung beträchtlich reduciren.

Doch sehen wir, wie verwertet Jolles diese seine Grundbedingung (0,1 g Harnsäure auf 500 ccm. Wasser) bei der Bestimmung der Harnsäure aus dem Urin?

Er reflectirt absolut nicht auf dieselbe!¹⁾ (Ist aber dies

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, Heft 3, S. 240.

Grundbedingung bei den Versuchen mit reiner Harnsäure, so kann es auch hier nicht indifferent sein.) Ja, er kann auch gar nicht darauf reflectiren, denn er kann es erst nach der durchgeführten Bestimmung wissen, wie viel Harnsäure der Versuchsurin enthält!

Es ist wohl wahr, dass Jolles die Verdünnung nur in annähernden Daten angibt, da jedoch die Quantität der Harnsäure bei 50 ccm. Urin zwischen 0,018—0,033 g schwankt (ja selbst zwischen grösseren Grenzen sich bewegen kann), so ist die Verdünnung auch ungefähr schwer durchführbar. Aber wenn wir auch nach Wunsch Jolles' verdünnen könnten, müssten wir bei folgender Phase stecken bleiben: In einer seiner Publicationen (diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, Heft 5 u. 6) bemerkt er nämlich, dass das Gesamtvolumen der im Schüttelcylinder befindlichen Flüssigkeit niemals mehr ausmacht als 100—110 ccm., nachdem er das Oxydationsprodukt auf 25—35 ccm. eindampft.

Aus dem obigen Verdünnungsverhältnisse (0,1 : 500 ccm.) folgt, dass die Harnsäure vor der Oxydation mit 150—200 ccm. Wasser (je nach der Menge des verwendeten Urins) verdünnt werden muss. Mit der hinzugesetzten Schwefelsäure, weiter mit dem Permanganat steigt die Flüssigkeitsmenge auf 220 bis 225 ccm. auf (bei 150 auf 170) und so wir nun auf 25—35 ccm. eindampfen, zerfällt der Harnstoff, da die Schwefelsäure fortwährend concentrirter wird, wie bekannt, theilweise in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und dies wird, bis wir die Lösung alkalisch machen und in die Schüttelvorrichtung überführen, weiter zersetzt, NH_3 verflüchtigt sich und so tritt Nitrogen- resp. Harnsäureverlust ein.

Für eine weitere Fehlerquelle halte ich auch den Umstand, dass der Harnstoff in saurer Lösung mit KMnO_4 , wie bekannt, sich bei Nitrogenentwicklung zersetzt.

Allerdings bemerkt Jolles hierzu,¹⁾ dass er nicht Harnstoff, sondern Harnsäure mit Permanganat kocht. Wenn wir auch zugeben, dass, solange die Reaction nicht beendet ist, das KMnO_4 auf den bereits entstandenen Harnstoff nicht ein-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, Heft 1, S. 30.

wirkt, ist es doch unvermeidlich, dass wir in der letzten Phase der Oxydation Harnstoff kochen, denn wenn z. B. die Oxydation schon nach 2 Minuten vollzogen ist, wir aber nach Vorschrift 15 Minuten kochen, so wird in diesen 13 Minuten bereits Harnstoff gekocht.

Meine auf die gegenseitige Einwirkung von Harnstoff und Permanganat gerichteten Versuche sind folgende:

I. Ich wog 0,0436 g Harnstoff ab, setzte 5 ccm. H_2SO_4 (Dichte 1,4) und 10 ccm. n 20 $KMnO_4$ hinzu, nach $\frac{1}{4}$ stündigem Kochen noch H_2SO_4 hinzusetzend, titrirte ich mit Oxalsäure das überflüssige $KMnO_4$ zurück und fand, dass der Harnstoff 3,1 ccm. $KMnO_4$ zur Oxydation verbraucht hat, und so ist der Verlust 0,0018 g, d. i. 4,1%.

II. Zu 0,0690 g Harnstoff gab ich 20 ccm. H_2SO_4 und 10 ccm. n 20 $KMnO_4$, kochte $\frac{1}{2}$ Stunde, verfuhr wie bei dem ersten Versuche und fand, dass 7,5 ccm. n/20 $KMnO_4$ für die Oxydation nöthig war, und so ist der Verlust 0,0043 g Harnstoff, d. i. 7,17%. Es ist zu bemerken, dass diese Harnstoffmenge auf Harnsäure umgerechnet noch grössere Werthe gibt.

Es ist wohl möglich, dass die Differenzen in den Versuchen von Jolles und mir darin ihren Grund haben, dass Jolles einzelne feinere Details seines Verfahrens noch nicht mitgetheilt hat. Jedenfalls würde er mich sehr verpflichten, wenn er sein Verfahren bis in die feinsten Details beschreiben wollte.