

aus Harnstoff entstehende Ammoniak in weniger als einer Stunde abzudestilliren.

Interessant ist bei dieser Sachlage die Thatsache, dass das Krystallwasser des Magnesiumchlorids unfähig ist, hydrolytische Spaltungen zu bewerkstelligen.

### Nachtrag zur vorstehenden Abhandlung.

Der Redaction zugegangen am 5. September 1902.

Einige Tage nach Absendung der obigen zweiten Mittheilung über die quantitative Bestimmung des Harnstoffs im Harn erhielt ich das letzte Heft dieser Zeitschrift, in welcher (S. 48) Arnold und C. Mentzel über eine Nachprüfung meiner Methode der Zersetzung des Harnstoffs durch kochendes Magnesiumchlorid und Salzsäure berichten.

1. Diese Forscher sprechen zuerst die Ansicht aus, dass bei allen quantitativen Bestimmungen, welche auf das Tagesquantum des Harns berechnet werden, 10 ccm Harn die allergeringste zur Analyse zulässige Menge ist, und haben es mir demnach zum Vorwurf gemacht, dass ich nur 3 ccm 2% iger Harnstofflösung für jede Harnstoffbestimmung benutzte und somit einen Versuchsfehler von etwa 1,5% hineingebracht habe, die der Zusatz von einem Tropfen zu viel oder zu wenig Harnstofflösung bedingen sollte.

Demgegenüber kann ich nur darthun, dass es sich bei uns niemals um einen Tropfen zu viel oder zu wenig handelt, denn wir benutzen immer für genaue Abmessungen solcher kleinen Flüssigkeitsmengen nicht die sogenannten Vollpipetten, sondern Normaimesspipetten von 5 ccm Inhalt, die in  $\frac{1}{20}$ -Cubikcentimeter getheilt sind. Mit solchen Pipetten kann man Fehler von  $\frac{1}{80}$  ccm mit Sicherheit vermeiden. Um eine solche Pipette auf ihre Genauigkeit bis auf  $\frac{1}{100}$  ccm zu prüfen, braucht man nur mit derselben Normalsäure abzumessen und die letztere mit  $\frac{1}{10}$  Normallauge zu titiren. Ich habe daher auch keine Schwierigkeit gehabt, Parallelbestim-

mungen zu machen, die bis auf 0,1—0,2 ccm  $^{1}_{10}$  Normallauge übereinstimmen.<sup>1)</sup>

10 ccm Harn für jede Harnstoffbestimmung anzuwenden, wie Arnold und Mentzel es thun, scheint mir nicht zweckmässig zu sein, erstens, weil dadurch öfters mehr als 100 ccm  $^{1}_{10}$  Normalsäure verbraucht werden müssen und zweitens, weil die dadurch bedingte grosse Menge des erhaltenen Ammoniaks die Genauigkeit des Titirens sehr beeinträchtigen kann, bei Benutzung von fast jedem genügend empfindlichen Indicator.

2. Arnold und Mentzel haben nun meine Methode zur Bestimmung des Harnstoffs einer Prüfung unterzogen und haben dabei Resultate erhalten, die scheinbar in unzweideutiger Weise gegen die Genauigkeit der Methode sprechen; namentlich haben sie immer zu wenig Ammoniak bekommen. Da nun die Methode mir bei Benutzung reiner Harnstofflösungen absolut genaue Resultate liefert, sind sicherlich diese von Arnold und Mentzel zu niedrig erhaltenen Werthe auf die eine oder andere ungeeignete Versuchsbedingung zurückzuführen. Möglicher Weise bin ich selbst daran Schuld, indem ich vielleicht in meiner ersten Abhandlung nicht genügend betonte, 1. wie gross die Gefahr ist, dass bei der Zersetzung des Harnstoffs alle zugesetzte Salzsäure und damit auch etwas Ammoniak weggekocht werden, 2. dass das nachherige Abdestilliren des Ammoniaks lange Zeit in Anspruch nimmt. Hoffentlich sind diese beiden Punkte in meiner obigen zweiten Abhandlung genügend beleuchtet.

Arnold und Mentzel haben nicht angegeben, wie lange Zeit sie das Abdestilliren des Ammoniaks fortsetzten und ob sie wirklich auch die letzten Spuren von Ammoniak abdestillirten. Da sie aber einen ganzen Liter Destillat erhielten, ist

1) Die Ursache, warum bei meinen Versuchen zuerst nur 3 ccm Harn für jede Harnstoffbestimmung zur Anwendung kamen, war die, dass ich früher viele Parallelbestimmungen auf gasvolumetrischem Wege ausführte. (Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 571). Bei solchen gasvolumetrischen Methoden ist es naturgemäss unmöglich, auch nur 5 ccm Harn für jede Bestimmung zu benutzen. In letzter Zeit aber habe ich gewöhnlich 5 ccm Harn für jede Harnstoffbestimmung in Arbeit genommen.

es sehr wahrscheinlich, dass sie das gesammte Ammoniak abdestillirten — nur darf man beim Destilliren nicht vergessen, dass die Dauer dieser Operation nur sehr wenig durch schnelles Kochen verkürzt werden kann. Die Dauer des Abdestillirens des gesammten Ammoniaks ist, wie schon in vorstehender Mittheilung betont wurde, etwa eine Stunde.<sup>1)</sup>

Sehr wahrscheinlich erscheint es mir demnach, dass die von Arnold, Mentzel und Behrens erhaltenen zu niedrigen Werthe dadurch bedingt sind, dass sie das Zerkochen des Harnstoffs nicht mit genügender Vorsicht ausführten. Nachdem das überschüssige Wasser aus der Harnstoff enthaltenden Magnesiumchloridmischung abgekocht ist, muss das nachherige Kochen bis zum Ende der Operation nur sehr gelinde fortgesetzt werden; denn, dass man sonst alle Salzsäure und somit auch mehr oder weniger Ammoniak verlieren muss, ist selbstverständlich. Während dieses Kochens darf z. B. niemals festes Magnesiumchlorid aus der kochenden Mischung ausfallen.<sup>2)</sup>

Um noch einmal zu zeigen, wie genaue Resultate durch meine Methode erhalten werden können, erlaube ich mir, aus den Protokollen meines Assistenten, Herrn Phil. A. Shaffer, einige Experimente vom letzten Juni wiederzugeben.

Eine reine Harnstofflösung wurde bereitet. 5 ccm dieser Lösung ergaben:

a) Nach Kjeldahl **45,5** ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

b) Gekocht nach Folin, aber nur 10 Minuten, mit 20 g Magnesiumchlorid und 5 ccm Salzsäure = 45,8 ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ , oder nach Abzug des Ammoniaks des Magnesiumchlorids

1) Diese Zeit kann in der That bedeutend abgekürzt werden in der Weise, dass man, nachdem die Zersetzung des Harnstoffs schon beendet ist, nach nochmaligen Zusatz von etwas Wasser und concentrirter Salzsäure das Kochen noch etwa 20 Minuten fortsetzt. Zeit aber erspart man durch ein solches Verfahren nur sehr wenig.

2) Dieses Kochen wird in unserem Laboratorium mittelst sogenannter «elektrischer Kocher», die auf drei verschiedene Temperaturen eingestellt werden können, ausgeführt. Mit Leuchtgas erhitzte eiserne Scheiben oder Sandbäder können gleich brauchbar sein, aber es empfiehlt sich nicht, die Harnstoff enthaltenden Erlenmeyer-Kolben direct auf freier Flamme oder auf Drahtnetzen zu erhitzen.

(0,8 ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ ) 45 ccm. Das Abdestilliren des Ammoniaks dauerte etwa  $1\frac{1}{4}$  Stunde und war auch dann nicht beendigt. (Die Zersetzung des Harnstoffs war demnach nach 10 Minuten langem Erhitzen noch nicht ganz beendigt.)

c) Nach 20 Minuten langem Kochen der Magnesiumchloridmischung wurde das gesammte Ammoniak in 45 Minuten abdestillirt. Erhalten wurden 46,2 ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ , also nach Abzug der Correctur (0,8 ccm) **45,4** ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

d) Nach 30 Minuten langem Kochen dauerte das Abdestilliren des Ammoniaks noch 45 Minuten. Erhalten wurde 46,3 ccm — 0,8 ccm = **45,5** ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

e) Nach 40 Minuten langem Erhitzen mit Magnesiumchlorid erforderte das Abdestilliren des gesammten Ammoniaks noch 45 Minuten. Erhalten wurde **46,2** ccm — 0,8 ccm = **45,4** ccm  $n_{10}$   $\text{NH}_3$ .

Gegenüber solchen Resultaten, zu denen ich noch eine ganze Reihe anderer hinzufügen könnte, glaube ich mit aller Sicherheit behaupten zu können, dass die unrichtigen Zahlen, die von den obengenannten Forschern erhalten wurden, auf die eine oder andere unrichtige Versuchsbedingung zurückzuführen sind.

3. Nachdem Arnold und Mentzel unrichtiger Weise zu der Schlussfolgerung gekommen waren, dass die obige Methode der Harnstoffbestimmung selbst für reine Harnstofflösungen und somit für die nach Mörner und Sjöquist oder nach Pflüger erhaltenen Harnstoff enthaltenden Filtrate unbrauchbar sei, glauben sie ferner bewiesen zu haben, dass die Methode jedenfalls nicht für Harn direct benutzt werden könne, weil andere Stickstoffsubstanzen des Harns, namentlich Harnsäure, Hippursäure und Kreatin, durch die von mir angegebenen Bedingungen theilweise zersetzt würden und bedeutende Mengen Ammoniak abgäben.

Hier soll sogleich die Möglichkeit zugegeben werden, dass die obige Methode der Harnstoffbestimmung sich in gewissen Fällen, wo es sich um äusserst genaue Resultate handelt, nicht direct auf Harn anwendbar erweisen mag. Ob dies aber wirklich der Fall ist oder nicht, darüber kann nur

die Erfahrung der Zukunft Aufschluss geben, denn Arnold und Mentzel sind auch hier unglücklicher Weise zu unrichtigen Resultaten und somit zu unrichtigen Schlussfolgerungen gelangt.

Durch Kochen von Harnsäure mit angesäuertem Magnesiumchlorid haben sie aus derselben von 2,05% bis zu 4,94% Stickstoff erhalten; hiernach würden 7—18% der Harnsäure unter Ammoniakbildung gespalten sein. Reine Harnsäure gibt nun aber bei den von mir angegebenen Bedingungen nicht eine Spur von Ammoniak. Wenn Arnold und Mentzel ihre Harnsäure durch zweimaliges Umkrystallisiren aus kochendem Wasser reinigen wollen, können sie sich leicht überzeugen, dass ihre Angaben bezüglich der Zersetzlichkeit der Harnsäure irrthümlich sind. Diese Thatsache ist übrigens auch aus ihren schon publicirten Resultaten ersichtlich, denn sie haben durch 2 stündiges Kochen der Harnsäure nicht mehr, sondern etwas weniger Ammoniak erhalten, als durch  $\frac{1}{2}$  stündiges Kochen derselben.

Das eben geschilderte Verhältniss zwischen der tatsächlichen Zersetzlichkeit der Harnsäure gegenüber der von Arnold und Mentzel gefundenen wiederholt sich nun auch bezüglich der Hippursäure. Aus 0,1024 g Hippursäure haben sie nämlich beim Kochen mit Magnesiumchlorid und Salzsäure 0,0042 g Stickstoff entsprechend 52% der angewendeten Hippursäure und aus 0,1524 g haben sie 0,00504 g Stickstoff entsprechend 42% derselben als Ammoniak erhalten. Meiner Erfahrung nach zersetzt sich nun beim Kochen mit angesäuertem Magnesiumchlorid reine Hippursäure ebenso wenig bis zu Ammoniak wie reine Harnsäure. Bei meinen Versuchen kam ein von Kahlbaum bezogenes Präparat zur Anwendung. 0,790 g dieser Hippursäure, also etwa sieben Mal so viel, wie Arnold und Mentzel benutzten oder mehr als in der ganzen Tagesmenge normalen Harns enthalten ist, ergab nach 1 stündigem Kochen mit 20 g Magnesiumchlorid und 5 ccm Salzsäure nur 0,2 ccm n. 10  $\text{NH}_3$ . Es ist wohl äusserst wahrscheinlich, dass diese kleine Menge Ammoniak auf eine kleine Verunreinigung und nicht auf Zersetzung der Hippursäure zurückzuführen ist. Dieselbe Schlussfolgerung kann in Wirklichkeit auch aus den

Resultaten von Arnold und Mentzel gezogen werden, denn zufälligerweise ist es noch einmal geschehen, dass sie mehr Ammoniak durch  $\frac{1}{2}$ stündiges als durch 2stündiges Kochen derselben erhielten.

Bezüglich des Kochens der Hippursäure mit Magnesiumchlorid möchte ich hinzufügen, dass dieselbe dadurch anscheinend ziemlich rasch in Glycocoll und Benzoesäure gespalten wird: um Ammoniakabgabe, wenigstens in Mengen, die irgend welche Bedeutung für die Harnstoffbestimmung haben, handelt es sich dabei aber nicht.

In der ganzen Abhandlung von Arnold und Mentzel bleibt somit bezüglich meiner Methode der Harnstoffbestimmung nur ein einziger Punkt übrig, den ich nicht im Stande bin, sogleich zu widerlegen, nämlich die Möglichkeit, dass das Kreatin des Harns sich beim Kochen mit Magnesiumchlorid zersetzen kann. Diese Substanz habe ich bis jetzt keiner Untersuchung unterzogen und kann demnach die Möglichkeit der Zersetzung derselben bei der Harnstoffbestimmung vorläufig nicht in Abrede stellen. Da Kreatin bezw. Kreatinin aber viel schwieriger in reinem Zustand zu erhalten ist als Harnsäure oder Hippursäure, da ferner Arnold und Mentzel gar keine Angabe über die Reinheit des von ihnen benutzten Kreatins gemacht haben, ist es wohl nicht unbillig, zu beanspruchen, dass kein allzu grosses Gewicht ihrem Befund, dass Kreatin bis zu 33% durch Kochen mit Magnesiumchlorid zersetzt wird, beigelegt werde, bis dieser Befund durch weitere Untersuchungen sich als richtig erweisen wird.

Wenn die Angabe von Arnold und Mentzel bezüglich des Kreatins sich als zuverlässig erweisen sollte, und wenn man die Tagesmenge des Kreatins bezw. Kreatinins als etwa 1.5 g schätzt, so würde dadurch die Harnstoffbestimmung durch directes Erhitzen des Harns mit Magnesiumchlorid auf die normale Tagesmenge etwa 0,3 g zu hoch ausfallen, was also einem Fehler von höchstens 1% entsprechen würde.

Otto Folin,

Waverley, Mass. U. S. A., 26. August 1902.