

Ueber Bestimmung der stickstoffhaltigen Urinbestandtheile mit Sublimat.

Von

Dr. Ernst Freund und Dr. Richard Fellner.

(Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt «Rudolfstiftung» in Wien.
Vorstand: Dr. E. Freund.)

(Der Redaction zugegangen am 17. August 1902.)

Die in neuerer Zeit eingehender berücksichtigte Wichtigkeit des gegenseitigen Verhältnisses der N-haltigen Harnbestandtheile lässt es als wünschenswerth erscheinen, ein Verfahren zu besitzen, das gestatten würde, die Grösse des Extractiv-N in der Form eines Niederschlages zu bestimmen und damit über jene Unsicherheit hinwegzukommen, mit der derzeit die Grösse des Extractiv-N nur aus der Differenz der bekannten stickstoffhaltigen Bestandtheile gegenüber dem Gesamt-N berechnet wird.

Nach einer Reihe von unbefriedigenden Versuchen mit Phosphorwolframsäure und Kupfersulfat-Natronlauge haben uns Versuche mit Sublimatfällung zufriedenstellende Ergebnisse geliefert.

Während Sublimat als Fällungsmittel für Harnsäure und Xanthinbasen bekannt ist und insbesondere zur Bestimmung der letzteren häufig verwendet wird, gilt Sublimat in wässriger Lösung als unverwendbar für die Bestimmung von Kreatinin¹⁾ und Harnstoff.²⁾ Wir haben uns nun zunächst über-

1) Siehe Huppert, Analyse des Harns, 1898, S. 397.

2) Bei der Liebig'schen Harnstoffbestimmung muss bekanntlich das Chlornatrium entfernt werden, damit nicht statt des fällenden Nitrats das nicht fällende Chlorid entsteht.

zeugt, dass die N-haltigen Bestandtheile des Urines bis auf äusserste Spuren in Fällung zu bringen sind, wenn man Urin mit der genügenden Menge gesättigter wässriger Sublimatlösung versetzt und mit kohlensaurem Natron im Ueberschuss versetzt.

Weitere Versuche haben uns dann gelehrt, dass sich die einzelnen stickstoffhaltigen Bestandtheile des Urins in verschiedene Fractionen des Sublimatniederschlages bringen lassen, wenn man ausser dem Sublimat noch Zusätze von Säuren und einzelnen Salzen vornimmt.

Zusatz von Sublimat allein zu einem schwach sauren Urin fällt sowohl Harnsäure als Xanthinbasen: die Empfindlichkeit dieser Fällung hängt wesentlich von den Aciditätsverhältnissen ab:

Entsteht, wie leicht begreiflich, durch Zusatz des Sublimats zu dem phosphathaltigen Harn freie Salzsäure, so wird die Bildung des Niederschlages verhindert oder beeinträchtigt.

Kommt es aber bei einem alkalischen Harn durch Zusatz der Sublimatlösung nur zu einer schwach sauren Reaction (Alizarinrothfärbung), so enthält die entstehende Fällung zwar alle Harnsäure und Xanthinbasen, aber auch geringe Mengen von Kreatinin.

Ein weiteres, beeinflussendes Moment ist die Menge des zugesetzten Sublimates. Will man zu vollständigen Fällungen und zu Verbindungen gleichartiger Zusammensetzung gelangen: so ist nicht nur ein Ueberschuss, sondern ein Ueberschuss, der in einem bestimmten Verhältniss zu den fällbaren Substanzen steht, zuzusetzen.

Nach unseren Untersuchungen ist dies der Fall, wenn so viel Sublimat zugesetzt wurde, dass auf Zusatz von Natriumcarbonat der entstehende Niederschlag weder weisse noch rothe, sondern gelbe Färbung zeigte.

Es muss demnach dem Zusatze des Sublimates immer eine diesbezügliche Prüfung vorhergehen. Nachdem hierbei kleine Unterschiede in der Sublimatmenge ohne Bedeutung sind, so genügt es, festzustellen, ob man zu 5 ccm Urin 5, 10, 15 oder mehr Cubikcentimeter Sublimatlösung setzen

muss, um mit Natriumcarbonat gelb gefärbten Niederschlag zu erhalten.

Gibt man nach dieser Feststellung zu Urin (50 ccm mit 5 Tropfen einer 1%igen Lösung von alizarinsulfonsaurem Natron versetzt) zunächst Salzsäure bis zu schwach saurer Reaction (Alizarinorangefärbung), dann die genügende Menge Sublimatlösung (wir verwendeten gesättigte wässrige Lösung) und setzt nun wenige Tropfen einer verdünnten Lösung von essigsäurem Natron nebst Essigsäure¹⁾ bis zum Verschwinden freier Salzsäure zu, dann entsteht ein Niederschlag, der Harnsäure sowie Xanthinbasen vollkommen in sich schliesst, von Kreatinin aber nicht einmal Spuren enthält.

Die Grösse des Zusatzes der Lösung von Essigsäure mit essigsäurem Natron kann genau unter Zuhülfenahme von Dimethylamidoazobenzol als Indicator bestimmt werden; es muss so lange zugetropft werden, bis ein herausgenommener Tropfen auf Zusatz von Dimethylamidoazobenzol keine orangerothe Färbung mehr zeigt.

Aus dem Filtrate von diesem ersten Niederschlage lässt sich das Kreatinin nebst dem Ammoniak durch Zusatz des gleichen Volumens einer 50%igen Lösung von essigsäurem Natron vollkommen ausfällen: Zusatz geringerer Mengen machten die Fällung zu einer ungenügenden.²⁾

Die getrennte Bestimmung des Kreatinins und Ammoniaks lässt sich dadurch erzielen, dass man den Niederschlag, der beide Substanzen enthält, in Salzsäure löst und in der erhaltenen Lösung einerseits Gesamtstickstoff bestimmt und in einem Theil der Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Jodkaliumlösung und Alkalisirung mit Kalilauge Ammoniak als Oxydimercuriammoniumjodid ausfällt und das Filtrat kjeldahlisirt: auch die Titration des Quecksilbergehaltes mittelst Cyankali und Silbernitrat lieferte zufriedenstellende Resultate.

Aus dem alloxurkörper-, kreatinin- und ammoniakfreien

1) wie dieselbe bei den Phosphorsäuretitrungen mit Uran üblich ist.

2) Siehe Huppert. Analyse des Harns. 1898, S. 397.

Filtrate haben wir nun Harnstoff auf verschiedene Weise zu fällen versucht.

Zusatz des doppelten Volumens einer 10%igen Lösung von phosphorsaurem Natron fällt einen grossen Theil des Harnstoffes, doch ist es bis nun uns nicht gelungen, diese Fällung zu einer vollkommenen Abscheidung zu gestalten.

Mit Natroncarbonat war wohl der Harnstoff vollkommen unlöslich zu machen, aber zugleich konnte sich überschüssiges Quecksilbercarbonat abscheiden.

Es ist nun bekannt, dass bei Gegenwart von reichlichen Mengen von Chloralkalimetallen Sublimatlösung durch Natron alkalisch gemacht werden kann, ohne dass Fällung erfolgt.¹⁾

Ebenso verhindert die Gegenwart von viel freier Säure die Entstehung von Quecksilberoxyd.²⁾ Thatsächlich versucht man, wenn man Sublimatlösung mit Natroncarbonatlösung versetzt, den entstandenen Niederschlag in Salzsäure löst, wieder alkalisirt und neuerdings in Salzsäure löst, vergebens durch Zusatz von kohlensaurem Natron einen Niederschlag von Quecksilbercarbonat zu erzielen: die Lösung bleibt auch bei alkalischer Reaction klar.

Das Unterbleiben dieses Niederschlages rührt nicht vielleicht von einem Lösungsvermögen des reichlich vorhandenen Kochsalzes her, da bei directem Zusatze der entsprechenden Mengen Kochsalzes die Bildung eines Niederschlages durch Natroncarbonat nicht unterbleibt: allerdings entsteht nicht der braune Niederschlag des gewöhnlichen Carbonates, sondern ein weisser Niederschlag.

Es hat sich uns nun gezeigt, dass auch einmaliger Zusatz relativ geringer Mengen rauchender Salzsäure diese Erscheinung herbeiführt und dass die hierbei entstehende Lösung bei Alkalisirung ein empfindliches Reagens für Harnstoff darstellt.

Diese Empfindlichkeit hängt von den Mengen der zugesetzten Salzsäure ab. Ein Ueberschuss verringert die Empfindlichkeit. Bei Zusatz von 3,5 ccm rauchender Salzsäure

1) Siehe Gmelin-Kraut, 1875, 3. Bd., S. 790.

2) Siehe Gmelin-Kraut, 1875, 3. Bd., S. 750.

zu 10 cem gesättigter wässeriger Sublimatlösung lässt sich ein Reagens erzielen, das in Harnstofflösungen von 0,002 bis 0,001 g Procent nach kurzer Zeit einen deutlichen Niederschlag erzeugt.

Wir sind nun derart vorgegangen, dass in einem Theil des Filtrates nach Entfernung des Kreatininammoniakniederschlages mittelst Cyantitrirung der Sublimatgehalt festgestellt wurde und dementsprechend in einer anderen Portion rauchende Salzsäure zugesetzt wurde: nach Alkalisirung mit Natroncarbonat, die derart vorgenommen wurde, dass zunächst Natroncarbonat in Pulver bis zur Neutralisirung eingetragen und dann noch das gleiche Volumen 10%iger Lösung von Natroncarbonat zugefügt wurde, fiel der Harnstoff als weisse Quecksilberverbindung quantitativ aus; im Filtrate (entsprechend 50 cem Harn) war Harnstoff nicht nachweisbar.

Aus dem Filtrate nach der Harnstofffällung liess sich durch Zufügung von Sublimatlösung ein reichlicher, gelbbrauner Niederschlag erzeugen, nach dessen Entfernung die Flüssigkeit sich als stickstofffrei erwies.

Der Niederschlag selbst ergab nach Entfernung des Quecksilbers mittelst Schwefelwasserstoff im Rückstand schöne, weisse Krystallnadeln, von denen ein Theil sich in kaltem Essigäther löste und nach den Reactionen Hippursäure war.

Ein Theil des Rückstandes war in kaltem Essigäther unlöslich, etwas löslich in warmem Essigäther, leicht löslich in Wasser und Alkohol, reagirte sauer, war stickstoffhaltig und gab weder die Reaction von Harnstoff, Harnsäure oder Xanthinbasen, noch die der Hippursäure oder des Kreatinins oder Ammoniaks; wir müssen denselben daher als einen Repräsentanten des Extractivstickstoffes auffassen.

Bei eiweisshaltigen Urinen zeigte sich die Entfernung desselben durch Kochen mit Essigsäure als Hinderniss für das Verfahren, da mit dem vermehrten Gehalt des essigsauren Natrons Kreatinin sich dem Alloxurkörperniederschlage beimgte.

Wir sind so vorgegangen, dass wir die Urine, nachdem sie mit Salzsäure bis zur Alizarinorangefärbung versetzt waren, also alles neutrale Salz in saures übergeführt war, aufkochten

und damit das Eiweiss vollkommen coagulirten und davon abfiltriren konnten.

Pepton, Urobilin und Albumosen mengen sich dem Niederschlage der Alloxurkörper bei. Zucker hindert das Verfahren in keinerlei Weise.

Auf Grund dieser Thatsachen sind wir damit beschäftigt, die Verhältnisse zu studiren, bei deren Einhaltung die genaue Bestimmung der einzelnen stickstoffhaltigen Bestandtheile des pathologischen Urines ermöglicht wäre, und wollen dabei nicht nur die Bestimmung des N-Gehaltes der einzelnen Fractionen, sondern auch die Titration des Quecksilbergehaltes derselben mittelst Cyan durchzuführen versuchen und dann in ausführlicher Weise die Belege bringen.