

Ein Beitrag zur Kenntnis des Harnstoffgehaltes des menschlichen Harns und zur Methodik der Bestimmung desselben.

Von
Dr. Franz Erben, klin. Assistenten.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik des Herrn Prof. R. v. Jaksch in Prag.)
(Der Redaktion zugegangen am 29. April 1903.)

Herr Dr. Ovid Moor¹⁾ hat in einer Abhandlung „Über den wahren Harnstoffgehalt des menschlichen normalen Harnes und eine Methode, denselben zu bestimmen“ darauf hingewiesen, daß die bisherigen Methoden der Harnstoffbestimmung noch niemals in der Weise geprüft worden sind, daß der Harnstoff in so reiner Form aus dem Harn dargestellt wurde, daß man die direkt gefundene Menge mit der durch Titrierung ermittelten hätte vergleichen können. Seine Versuche, den Harnstoff aus dem Harn auf dem Wege einfacher Alkoholextraktion darzustellen, führten ihn zu dem Ergebnisse, daß neben dem Harnstoff noch eine zweite fettige Substanz vorhanden sei, die sich zum Unterschiede vom Harnstoff mit übermangansaurem Kali leicht oxydiere und oxydiert in Amylalkohol vollständig unlöslich sei.

Diese Substanz, an Menge ungefähr dem Harnstoffe gleich, sei bei allen bisherigen Methoden der Harnstoffbestimmung mitbestimmt worden. Der wirkliche Harnstoffgehalt des menschlichen Harnes sei demnach bisher überschätzt worden und das durch die Erkenntnis des wahren Harnstoffgehaltes entstandene Defizit sei durch die bisher unbekannte, fettige Substanz des Alkoholextraktes gedeckt, deren Untersuchung Herr Dr. Moor

¹⁾ Moor, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 44, S. 121, 1902

in einer zweiten Mitteilung verspricht. Diese Resultate sind natürlich recht überraschend, und es hat mich daher mein hochverehrter Chef, Herr Prof. Dr. R. v. Jaksch, mit der Aufgabe betraut, dieselben nachzuprüfen.

Ich versuchte also, den Harnstoff des Harnes quantitativ und so rein als möglich aus dem Harn zu isolieren. Der Weg, den ich dazu nach mehreren Vorversuchen, die ich übergehen will, einschlug, war folgender:

25 ccm Harn wurden mit 25 ccm der von Mörner-Sjöquist angegebenen Barytmischung ausgefällt und mit 500 ccm einer aus 2 Teilen absoluten Alkohols und 1 Teile über Natrium destillierten Äthers bestehenden Mischung versetzt, durchgeschüttelt und mindestens 24 Stunden stehen gelassen. Dann wurde filtriert, der Niederschlag mit derselben Alkohol-Äthermischung gewaschen und das Filtrat nach Zusatz von Magnesia usta bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur verdampft. Der Abdampfrückstand wurde mit warmem Alkohol extrahiert, der Extrakt wieder bei ca. 55° eingedampft. Der Rückstand, fast ganz aus Krystallen bestehend und nur ganz schwach bräunlich gefärbt, wurde in wenig Wasser gelöst und mit etwas frisch ausgeglühter Tierkohle entfärbt. Nach abermaligem Eindampfen und Wiederaufnehmen mit Wasser wurde nach dem Abdampfen des größten Teiles desselben langsam im evacuierten Schwefelsäureexsiccator auskrystallisieren gelassen.

Der Rückstand bestand ganz aus nadelförmigen Krystallen. Er wurde nach wochenlangem Trocknen im Schwefelsäureexsiccator bei Bruttemperatur und nachherigem ganz kurzen Trocknen bei 110° wasserfrei erhalten und so gewogen. Schöne, reine und ganz farblose Krystalle ohne irgend welche sichtbare Zwischensubstanz wurden nur dann erhalten, wenn vollständig reiner, ohne Rückstand verdampfender Alkohol absolutus und über Natrium destillierter Äther verwendet wurden.

Die Krystalle waren, wie schon gesagt, vollständig farblos. Eine amorphe Masse, in der sie etwa eingebettet gewesen wären, konnte auch mikroskopisch nicht entdeckt werden. Beim Erhitzen trat jedoch neben starker NH₃-Ent-

wicklung eine leichte Bräunung sowie ziemlich intensiver, urinöser Geruch auf, bei weiterem Erhitzen blieb neben fast nur aus ClNa mit einer Spur Cl_2Ba bestehender Asche ein wenig Kohle zurück (Harnstoff verbrennt ohne Kohleausscheidung). Mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt, trat nur eine ganz leichte Bräunung derselben ein. Bei einer Vergleichsprobe mit einem halben Milligramm Stärke trat intensive Kohleausscheidung, mit einem halben Milligramm Harnsäure eine etwas stärkere Braunfärbung ein, als der aus 5 ccm Harn (Nr. 12) dargestellte Harnstoff mit der gleichen Menge konz. Schwefelsäure gab. (Vollständig reiner Harnstoff färbt beim Erhitzen mit Schwefelsäure diese nicht braun.) Der Schmelzpunkt der gutgetrockneten Krystalle war etwas niedriger (130°) als der des reinen Harnstoffs (Kochsalzbeimengung).

Endlich reduzierte der aus 5 ccm Harn (Nr. 12) dargestellte Harnstoff in neutraler Lösung eine Menge von ca. 0,005 g *Zincum hypermanganicum* bei 40°C . im Verlaufe einer halben Stunde bei Überschuß an dem Permanganatsalz. (Reiner Harnstoff reduziert unter diesen Bedingungen noch nicht.) Es muß aber bemerkt werden, daß eben diese Probe, nachdem sie 24 Stunden mit Permanganat in Berührung war, worauf dann der Überschuß durch Alkohol zerstört und der ausgefallene braune Niederschlag abfiltriert war, nach dem Eindampfen bei 55°C . wieder ungefähr ebenso stark reduzierte, sodaß es gar nicht unmöglich ist, daß auch die erste Reduktion auf Zersetzungs- oder Umwandlungsprodukte des Harnstoffes zurückzuführen ist.

Der aus Harn auf die oben angegebene, sehr einfache Weise dargestellte Harnstoff kann also nicht als absolut rein bezeichnet werden, doch kann die Menge der Verunreinigung unmöglich mehr als einige Milligramme betragen, also sehr hoch gerechnet 1—2 % des Harnstoffes.

Was nun die gefundenen Zahlenwerte anlangt, so konnte erhalten werden

I. aus 25 ccm des Harnes Nr. 8:

1. 0,5126 g Krystalle mit 0,1040 g Asche, ein Fünftel derselben verbrauchte nach Kjeldahl 10,6 ccm n_4 Säure.

Also auf 100 cem Harn ergab die direkte Wägung **1,634 g**, die Berechnung aus der Stickstoffmenge nach Kjeldahl **1,590 g** Harnstoff.

2. 0,4744 g Krystalle mit 0,0525 g Asche und zufällig genau demselben N-Gehalt wie bei 1.

Also auf 100 cem Harn durch direkte Wägung **1,684 g**, nach der Berechnung aus dem Stickstoffgehalt **1,590 g** Harnstoff.

II. aus 25 cem des Harnes Nr. 12:

0,3931 g Krystalle mit 0,0500 g Asche, ein Fünftel derselben verbraucht nach Kjeldahl 9 cem $n/4$ Säure.

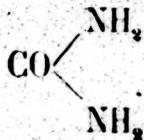
Also auf 100 cem Harn ergab die direkte Wägung **1,372 g**, die Berechnung aus der Stickstoffmenge der dargestellten Krystalle nach Kjeldahl **1,350 g** Harnstoff.

Die Krystalle waren schwefelfrei.

Es ergibt sich also auch aus diesen Zahlen eine Verunreinigung von ca. 2% des auf obige Weise aus Harn dargestellten Harnstoffes.

Wenn wir nun die Menge dieses Harnstoffes mit der nach Moor ermittelten vergleichen, so wurden im Harn Nr. 8 direkt dargestellt ca. 1,6%, nach Moor 1,4%, bei Harn Nr. 10 direkt dargestellt 1,3%, nach Moor 1,12% gefunden.

Daraus ergibt sich der Schluß, daß nach Moors Methode ein Teil des Harnstoffes verloren geht. Nur der einzige Einwand wäre möglich, daß neben dem gewöhnlichen Harnstoff



noch eine krystallisierte Verbindung von fast gleichem N-Gehalt vorhanden sei. Schwefelharnstoff ist ausgeschlossen, da beim Verpuffen mit Soda und Salpeter über der Spiritusflamme kein Schwefel nachzuweisen war.

Die Ursache dieses Verlustes dürfte darin liegen, daß Übermangansäure in alkalischer Lösung wohl reinen Harnstoff in kürzerer Zeit nicht oxydiert, denselben aber in einem so komplizierten Gemisch, wie im Harn, doch leichter angreift.

Als Analogon will ich nur das eine, jedem Chemiker bekannte Phänomen anführen, daß beim Titrieren von Oxalsäure in heißer, saurer Lösung mit übermangansaurem Kali die erste Portion der Titerflüssigkeit eine geraume Zeit, oft bis 30 Sekunden nicht reduziert wird, während später, nachdem

die Reaktion einmal eingeleitet ist, die Reduktion momentan stattfindet.

Inwieweit die bisher bekannten und geübten Harnstoffbestimmungsmethoden dem wahren Harnstoffwert des Harnes entsprechen, können meine obigen Versuche nicht entscheiden. Die dargestellte Menge betrug bei Harn Nr. 8 85⁰/₀, bei Harn Nr. 12 92⁰/₀ der nach Schöndorff ermittelten Menge. Wenn man die letzteren als die wahren Harnstoffwerte ansähe, ergäbe daher meine Darstellung einen Verlust von 15 resp. 8⁰/₀.

Einige vergleichende Bestimmungen nach den Methoden von Liebig-Pflüger, Mörner-Sjöquist und Schöndorff in der Modifikation v. Jakschs¹⁾ ergaben konstant die höchsten Werte nach Liebig-Pflüger, die niedrigsten nach Schöndorff, während die Resultate nach Mörner-Sjöquist in der Mitte stehen.

Moors Methode ergibt konstant kleinere Werte, relativ zu den Werten nach den anderen Methoden sehr unregelmäßige Werte, trotzdem die Harne 5—12 von demselben gesunden Individuum stammen.

Auch mehrere Bestimmungen aus ein und demselben Harn ergaben kein konstantes Resultat. Es fallen die angeführten Tatsachen sehr zugunsten der oben angedeuteten Verhältnisse in die Wagschale.

Bezüglich der Ausführung der Moorschen Methode muß ich erwähnen, daß ich den Abdampfrückstand des oxydierten Harnes nicht direkt mit Amyl-Ätylalkohol versetzte, weil sich dabei derselbe in eine schmierige Masse verwandelte, die sich mit der Alkoholmischung kaum quantitativ extrahieren läßt. Nach 12stündigem Trocknen des Rückstandes über Schwefelsäure hingegen konnte er mit der Alkoholmischung zu einem ziemlich feinen Pulver verrieben werden, das mit der kleinen Alkoholmenge sicher quantitativ extrahiert werden konnte.²⁾ Diese Modifikation erklärt auch, wie ich glaube, die im Vergleiche zu Moors Resultaten relativ höheren Werte, die ich erhalten habe.

1) Jaksch, Zeitschr. f. klin. Medizin, 47. 4, 1902.

2) Damit entfällt der Einwand Folins (Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, 1902 3. S. 549).

In der folgenden Tabelle sind die Resultata der vergleichenden Harnstoffbestimmungen kurz zusammengestellt.

Harn-Nr.	Liebig-Pflüger	Mörner-Sjöquist	Schöndorff	Moor
1	1.188	1.185	1.155	0.76
2	1.104	1.125	1.095	0.70
3	1.324	1.335	1.305	1.08
4	1.108	1.095	1.005	0.88
5	2.298	2.280	2.236	1.58
6	—	2.850	—	1.32
7	3.318	3.228	3.075	1.00
8	—	1.942	1.872	1.50
9	1.724	1.641	1.613	1.20, 1.24, 1.30
10	1.896	1.695	1.640	1.50
11	2.352	2.280	2.250	1.30
12	1.566	1.475	1.470	1.12

Nach diesen Zahlen und den Resultaten der direkten Harnstoffbestimmung sind wohl die Werte nach Schöndorff die richtigsten. Da diese Methode jedoch, wie ich aus eigener Erfahrung weiß, in der Anwendung auf den Harn, wie sie an der Klinik Prof. v. Jakschs geübt wird, recht kompliziert ist, während die beiden anderen, viel einfacheren (Liebig-Pflüger und Mörner-Sjöquist) so ziemlich die gleichen Resultate geben, so empfehlen sich die letzteren für die klinischen Beobachtungen, während Schöndorffs Methode vorläufig für wissenschaftliche Untersuchungen als die richtigste Methode angewendet zu werden verdient.

Belege.

I. Liebig-Pflüger. 50 cem Harn + 25 cem Barytmischung, 30 cem der Filtration mit 24 cem Silberlösung f. 27 cem des chlorfreien Filtrates. 13 cem Quecksilberlösung. Neutralisieren mit CaCO_3 .

Mörner. 5 cem Harn verbrauchen 7.9 resp. 7.9 cem n_4 Säure.

Schöndorff. 20 cem Harn mit 40 cem Phosphorwolframsäure gefällt. 15 cem (= 5 cem Harn) verbrauchen 7.75 resp. 7.65 cem n_4 Säure.

Moor. 3.8 cem.

2. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 18 ccm Ag-Lösung, 24 ccm verbrauchen 12 ccm Hg-Lösung (CaCO_3 zur Neutralisation).

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 7,55 resp. 7,45 n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 40 ccm Phosphorwolframsäure, 16 ccm verbrauchen 7,3 resp. 7,3 ccm n_4 Säure.

Moor. 3,5 ccm.

3. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 25 ccm Ag-Lösung, 27,5 ccm verbrauchen 14,3 ccm Hg-Lösung (CaCO_3 Neutralisation).

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 8,95 resp. 8,85 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn mit 48 ccm Phosphorwolframsäure, 17 ccm verbrauchen 8,7 resp. 8,7 ccm n_4 Säure.

Moor. 5,4 ccm.

4. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 25 ccm Ag-Lösung, 27,5 ccm verbrauchen 12,3 ccm Hg-Lösung (CaCO_3 zur Neutralisation).

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 7,3 resp. 7,3 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 40 ccm Phosphorwolframsäure, 15 ccm (= 5 ccm Harn) verbrauchen 6,7 resp. 6,7 ccm n_4 Säure.

Moor. 4,4 ccm.

5. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 30 ccm Ag-Lösung, 30 ccm verbrauchen 23,5 ccm Hg-Lösung (CaCO_3 zur Neutralisation).

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 15,1 resp. 15,3 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 68 ccm Phosphorwolframsäure, 22 ccm verbrauchen 15,0 resp. 14,8 ccm n_4 Säure.

Moor. 7,9 ccm.

6. Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 19,0 ccm n_4 Säure.

Moor. 6,6 ccm.

7. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 45 ccm Ag-Lösung, 37,5 ccm verbrauchen 33,5 ccm Hg-Lösung (CaCO_3).

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 21,5 resp. 21,5 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 68 ccm Phosphorwolframsäure, 22 ccm verbrauchen 20,2 resp. 20,2 ccm n_4 Säure.

Moor. 5,0 ccm.

8. Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 12,8 resp. 12,7 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 60 ccm Phosphorwolframsäure, 20 ccm verbrauchen 12,4 resp. 12,2 ccm n_4 Säure.

Moor. 7,0 ccm.

Darstellung 1: 25 ccm Harn gaben 0,5126 g krystallisierte Substanz. Dieselbe wurde in 25 ccm Wasser gelöst. Je 5 ccm dieser Lösung gaben 1. 0,0208 g Asche, 2. und 3. verbrauchten je 10,6 resp. 10,6 ccm n_4 Säure, 4. reduzierten ca. 5 mg Zinkpermanganat.

Darstellung 2: 25 ccm Harn gaben 0,4744 g krystallisierte Substanz. Dieselben wurden in 25 ccm Wasser gelöst. Je 5 ccm dieser Lösung gaben 1. 0,0105 g Asche, 2. und 3. verbrauchten je 10,6 resp. 10,6 ccm n_4 Säure. Diese Bestimmung ist nicht so genau als die erste, da die Krystalle nicht solange getrocknet wurden.

9. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 52 ccm Ag-Lösung.
41 ccm verbrauchen 19,0 ccm Hg-Lösung.

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 11,2 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn + 60 ccm Phosphorwolframsäure,
20 ccm verbrauchen 10,8 resp. 10,7 ccm n_4 Säure.

Moor. Parallelbestimmungen. 6,0, 6,2, 6,5.

10. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 30 ccm Ag-Lösung.
30 ccm verbrauchen 21,3 ccm Hg-Lösung.

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 11,4 resp. 11,2 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn mit 60 ccm Phosphorwolframsäure,
20 ccm verbrauchen 11,0 resp. 11,0 ccm n_4 Säure.

Moor. 7,5 ccm.

11. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 30 ccm Ag-Lösung.
30 ccm verbrauchen 24 ccm Hg-Lösung.

Mörner. 5 ccm Harn verbrauchen 15,3 resp. 15,1 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm Harn mit 64 ccm Phosphorwolframsäure,
21 ccm verbrauchen 14,95 resp. 15,05 ccm n_4 Säure.

Moor. 6,5 ccm.

12. Liebig-Pflüger. 30 ccm Filtrat mit 31,5 ccm Ag-Lösung.
30,7 ccm verbrauchen 18,4 ccm Hg-Lösung und 17,9 ccm Na_2CO_3 -Lösung.

Mörner. 5 ccm verbrauchen 10,1 ccm n_4 Säure.

Schöndorff. 20 ccm mit 52 ccm Phosphorwolframsäure, 18 ccm
verbrauchen 9,8 resp. 9,8 ccm n_4 Säure.

Moor. 5,6 ccm.

Darstellung: 25 ccm Harn gaben 0,3931 g Krystalle. Diese
wurden in 25 ccm Wasser gelöst. Je ein Fünftel dieser Lösung gab
1. 0,0100 g Asche, 2. und 3. verbrauchte 9,0 ccm resp. 9,0 n_4 Säure, 4. gab
nach Schmelzen mit Soda und Salpeter keinen Schwefelsäureniederschlag.