

besonders darauf eingearbeitet sein, wenn man zufriedenstellende Resultate bekommen will. Eine häufige Anwendung wird diese Methode wohl kaum mehr finden, da alle zur Bestimmung des Harnstoffes dienenden Methoden einfacher in ihrer Ausführung sind.

J. H. Long hat gefunden, was aber schon bekannt ist, daß auch Kreatinin, Harnsäure, Ammoniak mit dem Quecksilbernitrat Verbindungen geben können und hat die für die im Harne vorhandenen normalen Mengen notwendigen Kubikzentimeter der Quecksilberlösung festgestellt; für 10 ccm Harn werden 2 ccm der Lösung für das Ammoniak, die Harnsäure und das Kreatinin verbraucht. Diese 2 ccm wären, wenn man nicht den Gesamtstickstoffgehalt, sondern den Harnstoff wissen wollte, von den verbrauchten Kubikzentimetern der Quecksilberlösung in Abzug zu bringen.

11. Karbaminsäure. $\text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2$.

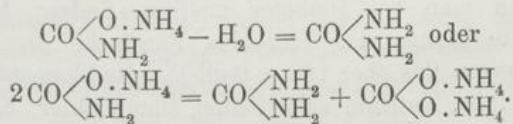
Diese kommt im freien Zustande im Harne nicht vor, sie zerfällt nach ihrer Abscheidung aus den Salzen in Ammoniak und Kohlensäure.

Sie soll sich, wenn auch nicht regelmäßig, im normalen Harne vorfinden; ihre Herkunft in physiologischer Richtung ist noch unsicher und unentschieden, würde aber vielleicht durch die Bildungsweise des Harnstoffes aus Ammoniumkarbonat, wobei intermediär karbaminsaures Ammoniak auftritt, erklärt.

Die umständliche Darstellung, zudem das noch nicht sicher gestellte Vorkommen der präformierten Säure und der Mangel einer charakteristischen beweisenden Reaktion lassen eine weitere eingehende Betrachtung unnötig erscheinen, zumal dieser Säure eine besondere Bedeutung nicht zukommt.

12. Der Harnstoff. CON_2H_4 oder $\text{CO} \begin{smallmatrix} \text{NH}_2 \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix}$.

Der Harnstoff — Karbamid — ist der am reichlichsten im Harne vorkommende organische Stoff. (S. 25). Was die Entstehung des Harnstoffes betrifft, so ist es nach den Forschungen von Schmiedeberg sehr wahrscheinlich, wenn nicht sicher, daß der Harnstoff aus Amidosäuren, Zersetzungsprodukten des Eiweißmoleküls sich bildet. Bei der Oxydation werden diese Amidosäuren in Wasser, Kohlensäure und Ammoniak umgesetzt; aus den beiden letzteren entstehen in statu nascendi das karbaminsaure Ammon, aus dem sich der Harnstoff unter Wasseraustritt oder Zersetzung in Harnstoff und Ammonkarbonat bildet.



Mit der im vorstehenden genannten Ansicht würde auch diejenige von E. Drechsel im Einklange stehen, der die Entstehung des Harnstoffes aus Eiweiß durch Hydrolyse ohne direkte Oxydation annimmt. Auch die Bildung von milchsaurem Ammon bei dem Eiweißzerfalle ist erwiesen und könnte auch aus diesem in der Leber Kohlensaures Ammon und daraus wieder Harnstoff gebildet werden.

Nach den Versuchen v. Schroeders beteiligt sich an der Harnstoffbildung hauptsächlich die Leber, wenn auch andere Organe daran beteiligt sein dürften und die Leber, wie Nencki und Pawlow gefunden haben, nicht als ausschließlicher Ort der Harnstoffbildung anzusehen ist. Als Ausscheidungsorgane müssen die Nieren betrachtet werden.

Am reichlichsten kommt der Harnstoff im Harne der Menschen und der Carnivoren vor; im Harne der Amphibien und Vögel tritt die Harnsäure in den Vordergrund und nimmt die Stelle des Harnstoffes ein.

Die Menge des im normalen Menschenharn vorkommenden Harnstoffes ist eine wesentlich verschiedene und hängt hauptsächlich von der Nahrung ab. Im allgemeinen nimmt man an, daß der gesunde Mensch in 24 Stunden 25—35 g Harnstoff ausscheidet; die Frau scheidet etwas weniger aus.

Absolut geringer ist die Harnstoffausscheidung bei Kindern, dagegen ist sie auf das Körpergewicht bezogen relativ viel größer; so scheiden z. B. Kinder zwischen 3 und 6 Jahren in 24 Stunden 1 g Harnstoff aus, während Erwachsene nur 0,37 bis 0,60 g in genannter Zeit ausscheiden.

In pathologischen Fällen kann sowohl eine Vermehrung oder Verminderung der Harnstoffproduktion eintreten, ja die Sekretion kann sogar ganz aufhören.

Eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung findet, was eigentlich selbstverständlich ist, statt bei allen Krankheiten (akuten fieberhaften Krankheiten, Typhus, akuten Infektionskrankheiten), durch welche ein Zerfall des Organeiweißes bedeutend gesteigert wird; die größte Vermehrung des Harnstoffes kann man bei Diabetes mellitus finden; hier kann die absolute Menge das Vier- bis Fünffache der normalen Menge betragen (bis über 100 g täglich). Medikamente (Kaffee, Koffein, Chinin, Natrium salicylicum), Dampfbäder, Elektrizität

bewirken gleichfalls eine mehr oder weniger vermehrte Ausscheidung.

Verminderung des Harnstoffes tritt ein bei der akuten gelben Leberatrophie und zwar in so auffallender Weise, daß manchmal überhaupt gar keine Ausscheidung mehr beobachtet wurde; hier bilden sich infolge der mangelhaften Oxydation der Eiweißkörper die Vorstufen des Harnstoffes, das Leucin und Tyrosin. Vermindert findet man den Harnstoff ferner bei Nierenkrankheiten, bei denen die Epithelien der gewundenen Harnkanälchen in Mitleidenschaft gezogen sind; hier wird der Harnstoff nicht vollständig durch den Harn entleert, sondern teilweise im Körper im Blute zurückgehalten und auf anormalem Wege (Haut, Sputum, Erbrechen) entleert (urämische Erscheinungen). Nach Landois soll die urämische Erscheinung in einer toxischen Einwirkung solcher Substanzen auf das Gehirn zu suchen sein, die normalerweise durch den Harn entleert werden sollten.

Noch wäre der von Salkowski angegebenen Beurteilung zur Entscheidung der Frage, ob die im Harn ausgeschiedene Menge Stickstoff ausschließlich der aufgenommenen Nahrung und nicht dem Körpereweiß entstammt, zu gedenken, die darauf basiert, daß eine verminderte Kochsalzausscheidung, die bei Gesunden die Hälfte des Harnstoffes beträgt, und eine vermehrte Stickstoffausscheidung darauf schließen läßt, daß in diesem Falle der Stickstoff aus dem Körpereweiß stammt.

Darstellung aus dem Harn.

Man dampft eine Menge Harn bis zum leichten Sirup auf dem Wasserbade ein, versetzt den Rückstand in der Kälte (durch Einstellen in Eiswasser) mit überschüssiger reiner, farbloser, ebenfalls abgekühlter Salpetersäure und trennt den entstandenen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff rasch von der Mutterlauge durch Absaugen auf einem Filter, Auswaschen mit Salpetersäure und Pressen zwischen Filtrierpapier. Den in etwas Wasser gelösten salpetersauren Harnstoff zerlegt man mit kohlensaurem Baryt und zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mittels absolutem Alkohol aus. Man entfärbt die alkoholische Lösung mit Tierkohle und filtriert warm. Aus dem Filtrate kristallisiert dann der Harnstoff beim Erkalten in meistens farblosen Nadeln aus, die durch Absaugen von der

Flüssigkeit befreit werden und dann durch Auflösen in Alkohol-äther eventuell noch weiter gereinigt werden können.

Eigenschaften.

Der Harnstoff kristallisiert in wasserfreien, langen, wasserhellen, vierseitigen Prismen, die durch ein oder zwei schiefe Endflächen geschlossen sind. Der Harnstoff ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther und besitzt einen bitterlichen kühlen, salpeterähnlichen Geschmack. Sein Schmelzpunkt liegt bei 130—132°.

Als basischer Körper verbindet sich der Harnstoff mit vielen Säuren und liefert mit ihnen kristallisierende Salze, von denen besonders das salpetersaure und oxalsaure Salz wegen ihrer Schwerlöslichkeit zum Nachweise des Harnstoffes wichtig sind. Mit Salzen (Chlornatrium, Chlorammonium, den Nitraten der Schwermetalle) vereinigt sich der Harnstoff zu kristallisierenden Verbindungen, von denen die mit salpetersaurem Quecksilberoxyd für die quantitative Bestimmung des Harnstoffes von Bedeutung ist; salpetersaures Quecksilberoxyd gibt mit Harnstofflösungen einen weißen, flockigen Niederschlag, der je nach der Konzentration der Flüssigkeit 1, 2 und 3 Äquivalente Quecksilberoxyd auf ein Äquivalent Harnstoff enthält.

Mit einer Lösung von unterchlorig- oder unterbromigsaurem Salz, ebenso mit salpetriger Säure zusammengebracht, zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser.

Qualitativer Nachweis.

Hat man eine qualitative Prüfung auf Harnstoff vorzunehmen oder die Frage zu entscheiden, ob irgend eine Flüssigkeit Harn ist oder nicht (Identifizierung als Harn), so benutzt man folgende Reaktionen.

1. Hat man nur wenig Flüssigkeit, so bringt man einige Tropfen auf einen Objektträger, setzt einen Tropfen Salpetersäure zu, erwärmt den Objektträger vorsichtig über einer Spiritus- oder Gasflamme und stellt zur Kristallisation beiseite. Unter dem Mikroskope sieht man dann entweder einzelne rhombische Tafeln (Fig. 22), oft auch solche, deren stumpfe Winkel durch Flächen in hexagonale Tafeln umgewandelt werden, oder der Harn-

stoff scheidet sich in sechsseitigen Täfelchen aus, deren Ränder sich dachziegelartig decken.

2. Wird konzentrierte Harnstofflösung oder konzentrierter Harn mit gesättigter Oxalsäurelösung zusammengebracht, so scheidet sich oxalsaurer Harnstoff in Kristallen aus, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind; meist findet man in mikroskopischen Präparaten die prismatische Form (Fig. 22).

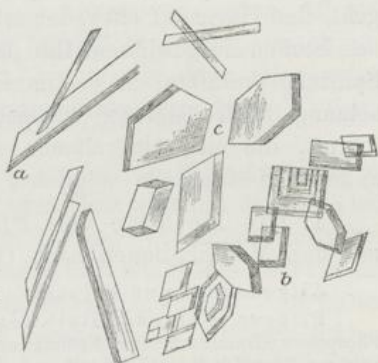


Fig. 22.

a Harnstoff.	} Harnstoff.
b Salpetersaurer	
c Oxalsaurer	

3. Eine charakteristische Reaktion ist die Biuretreaktion. Man erhitzt zu dieser Reaktion einige Kriställchen des wie oben angegeben hergestellten Harnstoffes in einem trockenen Reagensglas gelinde, bis sie in ihrer ganzen

Masse geschmolzen sind und kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist; hierbei entsteht zunächst Ammoniak und Biuret, das Amid der Allophansäure. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, etwas verdünnte Natronlauge oder Kalilauge und vorerst 1—2 Tropfen einer verdünnten Kupfersulfatlösung zugesetzt; die Lösung färbt sich anfangs rosa, dann, je weiter man mit dem Zusatz des Kupfersalzes fortschreitet, rotviolett und endlich blauviolett.

4. Übergießt man in einem Porzellanschälchen eine geringe Menge Harnstoff mit einem Tropfen einer fast konzentrierten frisch bereiteten Furfurolösung und fügt sogleich einen Tropfen Salzsäure von 1,10 spezifischem Gewicht (20 %) zu, so tritt rasch eine gelbe, dann grüne, blaue und endlich violett werdende Färbung auf, die nach wenigen Minuten in ein gesättigtes Purpurviolett sich umwandelt (Schiff).

Beurteilung.

Die angeführten Reaktionen sind für den Nachweis äußerst charakteristisch und genügend.

Quantitative Bestimmung des Harnstoffes.

Die zur quantitativen Bestimmung dienenden Methoden haben im allgemeinen das gemeinsame, daß man darauf ausgeht, den Harnstoff entweder möglichst frei von anderen störenden Stoffen zu gewinnen, ihn dann zu zersetzen und eines der Spaltungsprodukte zu bestimmen, oder daß man diese Zersetzung (Hydrolisierung) wenigstens mit solchen Agentien vornimmt, die eine eingreifende Änderung und Zersetzung der anderen Bestandteile möglichst vermeiden.

1. Die Methode von Pflüger, Bohland-Bleibtreu¹⁾ mit den Modifikationen nach Gumlich²⁾-Schöndorff³⁾

Allgemeines und Prinzip.

Pflüger, Bohland, Bleibtreu haben den Harn mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure zur Entfernung von anderen störenden stickstoffhaltigen Bestandteilen behandelt und im Filtrate den vorhandenen Harnstoff durch Erhitzen mit Phosphorsäure hydrolisiert; aus dem gebildeten Ammonphosphat wurde das Ammoniak durch Lauge freigemacht und abdestilliert. Zugleich war noch im Filtrate direkt eine Ammoniakbestimmung auszuführen, dieser Wert von dem gefundenen Gesamtammoniak in Abzug zu bringen und der Rest auf Harnstoff zu berechnen.

K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist, M. Chassevant fanden nun, daß bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure unter Umständen, wenn der Harn reichlich Harnstoff enthält, etwas Harnstoff mit ausgefällt werden kann; das Gleiche beobachtete auch Folin⁴⁾ besonders bei Pneumonieharnen, die Eiweiß und größere Mengen Ammoniak enthielten; auch trotz der von Gumlich empfohlenen Verdünnung war die Ausfällung des Harnstoffes durch Phosphorwolframsäure nicht vollständig zu verhindern. Diese Beobachtungen haben sämtlich ihre Richtigkeit; nach den Versuchen von Schöndorff, Pfaundler⁵⁾ ist die unvollständige Ausfällung des Harnstoffes nur in der Qualität der zur Verwendung kommenden Phosphorwolframsäurepräparate zu suchen, von denen einzelne geringe Mengen Harnstoff mit ausschieden, Ammoniak aber wieder nur unvollständig fällten. Mercksches Präparat fällt Ammoniak quantitativ, so daß nach Gumlich die besondere Ammoniakbestimmung unnötig wird. Hierin sind nach meiner Ansicht wohl die sich widersprechenden Urteile über die Anwendung der Phosphorwolframsäure zu suchen. Im Filtrate ist außer Harnstoff allerdings der Stickstoff des Allantoins, der Oxalursäure und ein Teil der Oxyproteinsäure (wohl auch der Alloxypoteinsäure) eventuell auch ein Teil des Kreatininstickstoffes vorhanden. Es wird aber wohl überhaupt unmöglich sein, den Harnstoffstickstoff so ganz für sich allein zu gewinnen.

¹⁾ Pflügers Archiv 1886. 38. 575.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1893. 17. 10.

³⁾ Arch. ges. Physiolog. 1896. 1. 62.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 505.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 30. 75.

Ausführung der Bestimmung.

Erforderliche Lösungen.

Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäurelösung.

100 ccm Salzsäure von 1,124 spez. Gew. + 900 ccm Phosphorwolframsäurelösung Merck 1:10.

Man titriert, um die zum Ausfällen der Harnsäure u. s. w. nötige Menge des Fällungsmittels kennen zu lernen, 10 ccm Harn mit der in einer Bürette befindlichen Phosphorwolframsäuremischung solange, bis in 1 ccm der klar filtrierten Lösung 3 Tropfen der Phosphorwolframsäure keine Trübung mehr eintreten lassen.

Man vermischt dann in einem graduierten Meßzylinder 50 bis 100 ccm Harn (Harn über 1,017 spez. Gew. wird mit dem gleichen Vol. Wasser verdünnt) mit dem bei der Vorprobe ermittelten Volumen der Phosphorwolframsäure, füllt mit Salzsäure (1:10) auf 150 bzw. 300 ccm auf, läßt 24 Stunden stehen, filtriert — am besten durch ein doppeltes Filter — ab, vermischt das vollkommen klare Filtrat mit Kalkhydratpulver bis zur alkalischen Reaktion und läßt bedeckt stehen, bis die blaue Farbe verschwunden ist. Von dem Filtrate verwendet man die 10 ccm des zu prüfenden Harnes entsprechende Menge zur Ammoniakbestimmung nach Schlösing (S. 45). Die gleiche Menge des Filtrates (10 ccm ursprünglichen Harns entsprechend) wird zur Überführung des Harnstoffes in Ammoniak in einem Destillierkolben mit ungefähr 10 g kristallisierter Phosphorsäure oder der entsprechenden Menge konzentrierter flüssiger Phosphorsäure versetzt und nach Ch. Sallerin 7 Stunden im Trockenschranke auf 150—155° erhitzt; der Harnstoff wird hierdurch in Kohlensäure und Ammoniak gespalten; letzteres wird an Phosphorsäure gebunden. Nach dem Erkalten verdünnt man mit Wasser, gibt zum Freimachen des an die Phosphorsäure gebundenen Ammoniaks Natronlauge im Überschusse hinzu und destilliert in der bei der Bestimmung nach der Kjeldahlschen Methode angegebenen Weise (S. 109). Das Destillat wird in $\frac{1}{10}$ Schwefelsäure aufgefangen und wie bei der Kjeldahlschen Bestimmung titriert. Von der gefundenen und berechneten Stickstoffmenge ist die nach Schlösing gefundene in Abzug zu bringen; der Rest wird auf Harnstoff berechnet.

$$\begin{aligned} 1 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ N-Säure} &= 0,001404 \text{ N.} \\ &= 0,00301 \text{ Harnstoff.} \end{aligned}$$

Mit Bezug auf das oben Erwähnte kann die Ammoniakbestimmung in Wegfall kommen, wenn man eine Phosphorwolframsäure wählt, die alles Ammoniak fällt. (Gumlich.)

2. Die Methode nach K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.¹⁾

Allgemeines und Prinzip.

Die Genannten haben an Stelle der Phosphorwolframsäure eine gesättigte Chlorbariumlösung mit 5% Baryhydrat angewendet und bringen mit Ätheralkohol den Harnstoff in Lösung; in dem Rückstande der Ätheralkohollösung wird nach dem Entfernen des präformierten Ammoniaks die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen. Nach Cammerer und Söldner²⁾, Salaskin und Zaleski³⁾ begreift der hierbei gewonnene Stickstoff außer dem des Kreatinins und Allantoinen auch den der Hippursäure in sich. Die Fehlerquelle wird dadurch umgangen, daß der nach dem Abdampfen des Ätheralkohols erhaltene Rückstand nicht direkt zur Kjeldahlschen Bestimmung verwendet, sondern daß der Harnstoff ebenfalls hydrolysiert wird. Die Letztgenannten erhitzen zu dieser Zerlegung den Harnstoff im zugeschmolzenen Rohr, Braunstein⁴⁾ verwendet Phosphorsäure, Folin⁵⁾ Magnesiumchlorid.

Ausführung der Bestimmung.

In einem Kolben werden 5 ccm eiweißfreier Harn mit 5 ccm einer gesättigten Chlorbariumlösung, die 5% Baryhydrat aufgelöst enthält, zusammengebracht; ferner werden 100 ccm einer Mischung, aus 2 Teilen 96% Weingeist und 1 Teil Äther bestehend, hinzugegeben, das Gefäß wird verschlossen und 12 Stunden stehen gelassen; nach dieser Zeit wäscht man den ausgeschiedenen und auf einem Filter gesammelten Niederschlag mit Alkoholäther eventuell mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe aus; das Filtrat engt man in einer Schale bei einer nicht über 60° betragenden Temperatur auf dem Wasserbade auf ca. 20—25 ccm ein, gibt etwas Wasser und gebrannte Magnesia zu und dampft zur Entfernung des präformierten Ammoniaks solange ein, bis die Dämpfe keine alkalische Reaktion mehr zeigen. Die eingeeengte Flüssigkeit spült man mit Wasser in einen Rundkolben, wäscht die Schale wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nach und verfährt wie bei 1. angegeben.

Beurteilung.

Nach Ch. Sallerin (s. oben) genügt diese Methode zur Bestimmung des Harnstoffes im Urin allen Anforderungen in Bezug auf Genauigkeit, auch findet, entgegen den Angaben von Berthelot und André, beim Abdampfen der Harn-

¹⁾ Skand. Arch. Physiol. 1891. 2. 438.

²⁾ Zeitschr. Biolog. 38. 227.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1897. 28. 73.

⁴⁾ Ebenda. 1900. 31. 381.

⁵⁾ Ebenda. 1901. 32. 504.

stofflösung unter Zusatz geringer Mengen Magnesiumoxyds kein Verlust durch Zersetzungen statt. C. Arnold und C. Mentzel haben ebenfalls mit der Methode von Mörner-Sjöqvist vorzügliche Ergebnisse erzielt; sie verwenden aber, was auch ich nur befürworten möchte, statt der 5 ccm 10 ccm Harn.

Wie erwähnt, zersetzt Folin den Harnstoff durch Erhitzen mit salzsäurehaltigem Magnesiumchlorid. Es muß aber, da das Magnesiumchlorid des Handels nie ammoniakfrei zu erlangen ist, auch von diesem der Ammoniakgehalt gekannt und bestimmt sein. Auch sonst ist das Verfahren etwas umständlicher, als das beschriebene.

3. Bestimmung nach E. Freund und G. Töpfer.¹⁾

Prinzip.

Der Harnstoff wird als oxalsaurer Harnstoff isoliert und als solcher für die Bestimmung herangezogen.

Ausführung.

5 ccm Harn von normaler Konzentration werden unter Zusatz von 5 ccm 95% Alkohol auf dem Wasserbade zur Trockene verdunstet, mehrmals mit wasserfreiem Alkohol unter Zerreiben des Rückstandes ausgezogen und die Lösungen in ein Kjeldahlsches Kölbchen filtriert. Der Alkohol wird auf dem Wasserbade vorsichtig bis auf Spuren abgedunstet und der Rückstand mit etwa 70 ccm gesättigter ätherischer Oxalsäurelösung vermischt, worauf man den entstehenden Niederschlag absitzen läßt. Die ätherische Lösung wird vorsichtig durch ein Filter abgegossen, die Kristalle im Kölbchen mit 60 bis 80 ccm Äther in mehreren Anteilen nachgewaschen und die Waschflüssigkeit auf dasselbe Filter gegeben. Nach dem Abdunsten des Äthers wird das Filter auf das Kjeldahlsche Kölbchen gesetzt, der im Filter befindliche oxalsaurer Harnstoff mit Wasser gelöst, nachgewaschen und die Lösung nach Zusatz von Phenolphthalein als Indikator bis zur schwachen Rotfärbung titriert.

$$1 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ KOH} = 0,003 \text{ g Harnstoff.}$$

Zur Bestätigung dieses Ergebnisses wird der Kolbeninhalt nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure eingedampft und der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterzogen.

Beurteilung.

Während A. Jolles²⁾ gute Resultate damit erhalten hat, findet H. Pollack³⁾ die Methode nicht genau, da beim Eindampfen durch die sauren Phosphate etwas Harnstoff zersetzt wird und der oxalsaurer Harnstoff in Ätheralkohol nicht ganz unlöslich ist; auch soll sich die Oxalsäure aus dem Niederschlage nicht ganz auswaschen lassen.

¹⁾ Wien. klin. Rundschau. 899. 371.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1900. 39. 137.

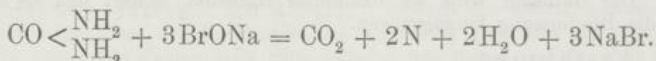
³⁾ Pflügers Arch. 83. 232.

A. Jolles¹⁾ hat den getrockneten oxalsäuren Harnstoff in Wasser gelöst, die Lösung im Azotometer mit Bromlauge zersetzt und aus dem entwickelten N den Harnstoff berechnet (s. Tabelle S. 129).

4. Bestimmung des Harnstoffes für klinische Zwecke.

Diese Bestimmungen beruhen auf folgendem Prinzip:

Der Harnstoff zersetzt sich mit einer alkalischen Lösung von unterbromigsaurem Natron in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser, von welchen die Kohlensäure von dem im Überschuß vorhandenen Ätznatron gebunden wird, während man den entweichenden Stickstoff in geeigneten Apparaten mißt.



a) Am besten empfiehlt sich das Verfahren von A. Jolles.²⁾

Erforderliche Lösungen.

1. Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure Merck (S. 123).
2. Natronlauge ca. 25 %.
3. Bromlauge. Man löst 100 g Natriumhydroxyd in 250 ccm Wasser und setzt zu der erkalteten Lösung 25 g Brom hinzu. Die Lösung ist im Dunkeln und an einem kühlen Orte zu verwahren; zu jeder Harnstoffbestimmung ist eine neue Probe der Lauge (keine schon verwendete) zu benutzen.

10 ccm des filtrierten Harnes werden in einem Maßkölbchen von 100 ccm Inhalt mit ca. 30 ccm destilliertem Wasser und einer zur Fällung ausreichenden Menge salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure versetzt; die zum Ausfällen der Harnsäure u. s. w. nötige Menge des Fällungsmittels hat man vorher, wie S. 123 angegeben, festgestellt. Das Kölbchen wird nunmehr auf dem Wasserbade ca. eine Viertelstunde unter öfterem Umschütteln erwärmt, 4 Stunden stehen gelassen, dann mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und die Lösung umgeschüttelt.

Dann filtriert man — das Filtrat muß klar ablaufen, ein trübes Filtrat ist wieder aufs Filter zu gießen — durch ein trockenes Filter und entnimmt vom Filtrate genau 25 ccm = 2,5 des ursprünglichen Harnes. Diese Flüssigkeitsmenge gibt man in das Schüttelgefäß c des Azotometers (Fig. 23)³⁾ und setzt unter Umrühren und Kühlung solange vorsichtig

¹⁾ Zeitschr. anal. Chem. 1900. 39. 140.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1900. 39. 143.

³⁾ Das Azotometer mit Barometer und Thermometer liefert die optisch-mechanische Werkstätte von C. Reichert, Wien VIII, Bennogasse 24–26 (Preis 100 Kronen, ohne Barometer und Thermometer 60 Kronen).

Lauge hinzu, bis die Lösung alkalische Reaktion zeigt. Nunmehr bringt man in das kleine Hartgummigefäß 30 ccm der Bromlauge und stellt dieses Gefäß, am besten mittels einer Pinzette, so vorsichtig in das Schüttelgefäß hinein, daß keine Vermengung der beiden Flüssigkeiten statt hat. Man füllt die beiden Meßröhren des Azotometers mit destilliertem Wasser und setzt den mit den beiden Glasröhren versehenen Gummistopfen fest auf das Gefäß *c*, daß die Lage des Stopfens beim späteren Schütteln sich nicht ändern kann; von den Glasröhren steht die eine mit dem Azotometer durch einen Gummischlauch in Verbindung, die andere ist mit einem nach außen abzuschließenden Schlauch versehen. Sobald beide Flüssigkeitssäulen in den Röhren dasselbe Niveau zeigen, wird das freie Schlauchende *b* am Gummistopfen durch einen passenden Quetschhahn bei *a* vorsichtig geschlossen, und alsdann der Wasserstand

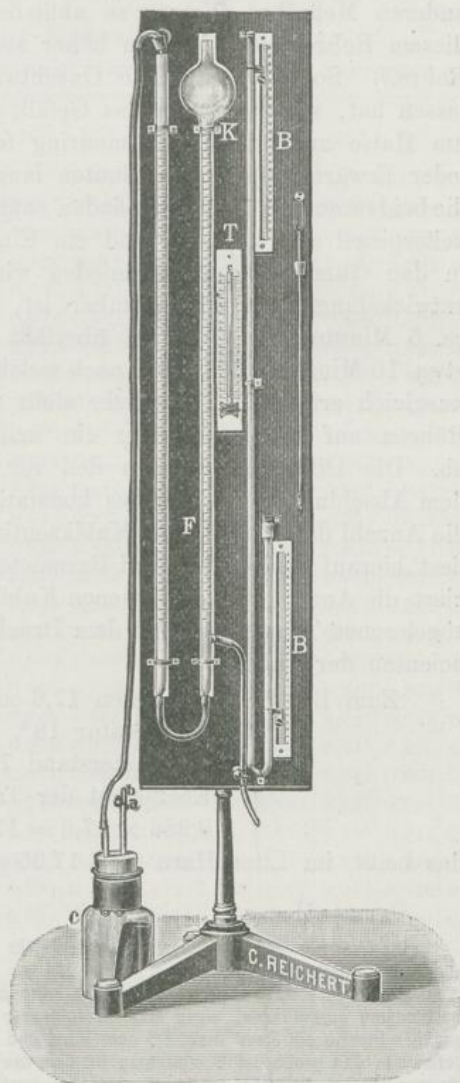


Fig. 23.

in der Meßröhre genau abgelesen. Darauf wird das Schüttelgefäß so geneigt, daß beide Flüssigkeiten sich mischen, wobei sofort eine lebhafte Gasentwicklung eintritt. Man läßt alsdann in dem

Maße, als die Flüssigkeit in dem einen Rohre steigt, durch das unten mit Quetschhahn versehene Ausflußrohr an der anderen Meßröhre Wasser so abfließen, daß das Wasser in diesem Rohre um 1—2 ccm höher steht als in dem anderen Rohre.¹⁾ Sobald die starke Gasentwicklung etwas nachgelassen hat, schüttelt man das Gefäß, indem man es an dem am Halse angebrachten Gummiring festhält (zur Vermeidung jeder Erwärmung), einige Minuten lang mit der Vorsicht, daß die beiden aufgebogenen Glasenden entgegengesetzt dem Flüssigkeitsspiegel sich befinden und ein Eindringen von Flüssigkeit in den Gummischlauch vermieden wird. Sobald keine Gasentwicklung mehr wahrnehmbar ist, was in der Regel nach ca. 5 Minuten der Fall ist, überläßt man das Schüttelgefäß etwa 10 Minuten der Ruhe, nach welcher Zeit der Temperaturengleich erfolgt ist. Nunmehr stellt man das Wasser in den Röhren auf gleiches Niveau ein und liest den Wasserstand ab. Die Differenz zwischen den vor dem Beginn und nach dem Abschlusse des Versuches konstatierten Ablesungen ergibt die Anzahl der entwickelten Kubikzentimeter Stickstoffgas. Man liest hierauf Temperatur und Barometerstand ab und multipliziert die Anzahl der abgelesenen Kubikzentimeter mit dem der abgelesenen Temperatur und dem Drucke entsprechenden Koeffizienten der Tabelle.

Zum Beispiel: Abgelesen 17,6 ccm,
Temperatur 18°,
Barometerstand 758.
Koeffizient der Tabelle 0,986.
 $0,986 \times 17,6 = 17,35$

das heißt, im Liter Harn sind 17,35 g Harnstoff enthalten.

Beurteilung.

Die Methode gibt sehr brauchbare Resultate und sollte für klinische Zwecke allgemeine Anwendung finden.

Für rasch orientierende Zwecke kann man in ca. 12—15 Minuten eine Bestimmung durchführen, wenn man in folgender Weise verfährt. Mittels einer genauen Pipette entnimmt man 2,5 ccm Harn und bringt ihn in das kleine Schüttelgefäß. In das große Gefäß mißt man 30 ccm der Bromlauge, die mit destilliertem Wasser auf ca. 100 ccm verdünnt wird und bestimmt und berechnet den Stick-

¹⁾ Stellt man nach beendeter Gasentwicklung beide Flüssigkeiten auf gleiches Niveau ein, so bildet sich nach erfolgter Abkühlung im Schüttelgefäße ein etwas luftverdünnter Raum, wodurch ein Niveau-Unterschied in beiden Maßröhren eintritt.

stoff
sich
hält

1 ccm

Barometer- stand	10
700	0,9
2	0,9
4	0,9
6	0,9
8	0,9
710	0,9
12	0,9
14	0,9
16	0,9
18	0,9
720	0,9
22	0,9
24	0,9
26	0,9
28	0,9
730	0,9
32	0,9
34	0,9
36	0,9
38	0,9
740	0,9
42	1,0
44	1,0
46	1,0
48	1,0
750	1,0
52	1,0
54	1,0
56	1,0
58	1,0
760	1,0
62	1,0
64	1,0
66	1,0
68	1,0
770	1,0

Sp

stoff in der oben angegebenen Weise. Den Apparat, das Azotometer, kann man sich übrigens auch selbst zusammenstellen; doch sind die richtigen Größenverhältnisse des Entwicklungsgefäßes zu berücksichtigen.

Tabelle zur Harnstoffbestimmung.

1 ccm Stickstoff entspricht Grammen Harnstoff im Liter. — Temperatur in °C.

Barometerstand	10°	12°	14°	15°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	23°	25°
700	0,943	0,934	0,926	0,922	0,917	0,913	0,909	0,904	0,900	0,895	0,886	0,877
2	0,945	0,937	0,929	0,925	0,920	0,916	0,911	0,907	0,903	0,898	0,889	0,879
4	0,948	0,940	0,932	0,927	0,923	0,919	0,914	0,909	0,905	0,901	0,891	0,882
6	0,951	0,943	0,934	0,930	0,926	0,921	0,917	0,912	0,908	0,903	0,894	0,885
8	0,954	0,945	0,937	0,932	0,928	0,924	0,920	0,915	0,910	0,906	0,897	0,887
710	0,957	0,948	0,939	0,935	0,931	0,927	0,922	0,917	0,913	0,909	0,899	0,890
12	0,959	0,951	0,942	0,938	0,933	0,929	0,925	0,920	0,916	0,911	0,902	0,892
14	0,962	0,953	0,945	0,941	0,936	0,932	0,927	0,923	0,919	0,914	0,904	0,895
16	0,964	0,956	0,948	0,944	0,938	0,934	0,930	0,926	0,921	0,916	0,907	0,897
18	0,967	0,959	0,951	0,946	0,941	0,937	0,933	0,928	0,924	0,919	0,910	0,900
720	0,970	0,962	0,953	0,949	0,944	0,940	0,935	0,931	0,927	0,921	0,912	0,903
22	0,973	0,964	0,956	0,951	0,947	0,943	0,938	0,933	0,929	0,924	0,915	0,905
24	0,975	0,967	0,958	0,954	0,950	0,945	0,940	0,936	0,932	0,927	0,917	0,908
26	0,978	0,970	0,961	0,957	0,952	0,948	0,943	0,938	0,934	0,930	0,920	0,910
28	0,981	0,973	0,964	0,959	0,955	0,951	0,946	0,941	0,937	0,933	0,922	0,913
730	0,984	0,975	0,967	0,962	0,957	0,954	0,949	0,944	0,939	0,935	0,925	0,915
32	0,987	0,978	0,969	0,965	0,960	0,956	0,951	0,947	0,942	0,938	0,928	0,918
34	0,989	0,981	0,972	0,968	0,963	0,959	0,954	0,950	0,945	0,940	0,931	0,921
36	0,992	0,983	0,975	0,970	0,966	0,961	0,957	0,952	0,947	0,943	0,933	0,923
38	0,995	0,986	0,977	0,973	0,969	0,964	0,959	0,955	0,950	0,945	0,936	0,926
740	0,998	0,989	0,980	0,975	0,971	0,967	0,962	0,957	0,952	0,948	0,938	0,928
42	1,000	0,992	0,982	0,978	0,974	0,969	0,964	0,960	0,955	0,951	0,941	0,931
44	1,003	0,994	0,985	0,981	0,976	0,972	0,967	0,962	0,958	0,953	0,944	0,934
46	1,005	0,997	0,988	0,983	0,979	0,975	0,970	0,965	0,961	0,956	0,946	0,937
48	1,008	0,999	0,991	0,986	0,981	0,977	0,973	0,968	0,963	0,958	0,949	0,939
750	1,011	1,002	0,993	0,989	0,984	0,980	0,975	0,970	0,966	0,961	0,951	0,942
52	1,014	1,005	0,996	0,992	0,987	0,982	0,978	0,973	0,968	0,963	0,954	0,945
54	1,017	1,008	0,999	0,994	0,990	0,985	0,981	0,975	0,971	0,966	0,957	0,947
56	1,019	1,011	1,001	0,997	0,992	0,988	0,983	0,978	0,974	0,969	0,959	0,950
58	1,022	1,013	1,004	0,999	0,995	0,991	0,986	0,981	0,976	0,971	0,962	0,952
760	1,025	1,016	1,007	1,002	0,998	0,993	0,988	0,984	0,979	0,974	0,964	0,955
62	1,028	1,018	1,010	1,005	1,000	0,996	0,991	0,987	0,981	0,976	0,967	0,957
64	1,030	1,021	1,012	1,008	1,003	0,999	0,993	0,989	0,984	0,979	0,969	0,960
66	1,033	1,024	1,015	1,011	1,006	1,001	0,996	0,992	0,987	0,981	0,972	0,963
68	1,036	1,027	1,017	1,013	1,008	1,004	0,999	0,994	0,989	0,984	0,974	0,965
770	1,039	1,029	1,020	1,016	1,011	1,006	1,002	0,997	0,992	0,987	0,977	0,968

b) Die Methode nach Knop-Hüfner.

Für die Ausführung dieser Methode sind die verschiedensten Modifikationen erfunden und eine große Anzahl von Apparaten (Ureometern, Azotometern) konstruiert worden. Eine Beschreibung dieser vielen verschiedenen Apparate kann natürlich nicht gegeben werden, dieselbe muß sich nur auf die bekanntesten und brauchbarsten beschränken; übrigens sind allen diesen Ureometern Gebrauchsanweisungen beigegeben.

Erforderliche Lösung.

Man stellt sich eine Natronlauge her, die in 500 ccm Wasser 200 g Natronhydrat aufgelöst enthält. Beim Gebrauche mischt man 175 g dieser Lauge unter Abkühlung — man stellt das Mischgefäß in Eiswasser — mit 12,5 ccm Brom.

Man muß die Mischung stets frisch darstellen, da sie sich nur wenige Tage hält.

Ausführung der Methode.

Bedingungen sind:

1. Man soll möglichst einen Harn verwenden, der ca. 1% Harnstoff enthält; konzentrierte Harn verdünnt man nach dem Ausfall eines Vorversuches entsprechend.
2. Der Harnbehälter der Apparate muß vollkommen trocken sein; man trocknet nach dem Waschen mit Wasser durch Abspülen mit Alkohol und dann mit Äther.
3. Zum Füllen des Eudiometers, der Meßröhre, verwendet man am zweckmäßigsten und sichersten die schon gebrauchte Bromlauge.
4. Der Harn muß frei sein von Eiweiß und Zucker.

Das Hüfnersche Ureometer (Fig. 24).

Das ungefähr 100 ccm fassende bauchige Gefäß *B* steht mittels eines weit gebohrten Hahnes mit dem 5 ccm enthaltenden kolbenförmigen Ansatzstück *A* in Verbindung. Das Volumen des Gefäßes *A* einschließlich der Hahnbohrung muß man vorerst genau feststellen, was durch Ausmessen mit einer Meßpipette mit Wasser geschieht. Der Raum *A* inkl. der Hahnbohrung soll womöglich nicht über 6 ccm fassen.

Das obere etwas verjüngte Ende von *B* umschließt vermittelt eines Korkverschlusses der Hals einer Glasschale *C*, in welche das verjüngte Ende von *B* einige Zentimeter hoch emporragt; auf dieses verjüngte Ende *B* wird das Eudiometer *D* zum Aufsammeln des entwickelten Stickstoffes gebracht; dieses Eudiometer, in einem Halter bei der Ausführung des Versuches leicht zu befestigen, faßt 50—100 ccm und ist in $\frac{1}{10}$ Kubikzentimeter eingeteilt.

Mit Hilfe eines langhalsigen Trichters, dessen Spitze bis in die Hahnbohrung reicht, füllt man mit dem am zweckmäßigsten zu gleichen Teilen mit Wasser verdünnten Harn Gefäß *A* samt der Hahnbohrung genau an, schließt dann den Hahn und reinigt durch Ausspülen mit Wasser das Gefäß *B* von etwa anhängenden Harntropfen. Nun füllt man das Gefäß *B* und größtenteils die Schale *C* mit der Knopschen Bromlauge, gibt das mit der gleichen oder einer schon gebrauchten Bromlauge vollkommen angefüllte Eudiometer — man verschließt das gefüllte Meßrohr mit dem Daumen und öffnet es erst unter der Flüssigkeit in der Schale — über das verjüngte Ende von *B* und schiebt das letztere 2—3 cm in die Röhre hinein. Das Eudiometerrohr befestigt man nun im Halter. Das Gefäß *B* darf keine Luftblasen mehr enthalten; man öffnet dann den Hahn, wodurch eine Vermischung des Harnes mit der Lauge und alsbald eine lebhaft Gasentwicklung stattfindet. Ist diese Gasentwicklung zu Ende, was nach 20 bis 30 Minuten erfolgt ist, dann läßt man noch ca. $\frac{1}{4}$ Stunde stehen, zieht das

verjüngte Ende von *B* zurück, hebt das Eudiometer mittels eines Glaslöffels, oder indem man das untere Ende unter der Flüssigkeit mit dem Daumen verschließt, heraus und bringt das Rohr in einen mit luftfreiem, ausgekochtem, erkaltetem Wasser gefüllten Cylinder, stellt es so, daß das Niveau der Flüssigkeit in der Röhre mit dem Niveau des Wassers im Cylinder zusammenfällt und liest nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen das Volumen des Gases ab.

Man bestimmt weiter die Lufttemperatur, notiert den Barometerstand und liest das Gewicht eines Kubikzentimeter Stickstoffs mit Hilfe der Tabelle S. 112 u. 113 ab. Man multipliziert das abgelesene Gasvolumen mit dem in der Tabelle gefundenen Gewichte von 1 ccm Stickstoff; diese Menge *N* mit 2,14 multipliziert gibt die entsprechende Harnstoffmenge, da man für 7 Teile (Gramm) Stickstoff 15 Teile Harnstoff zu nehmen hat oder es sind, von dem Volumen des Stickstoffs ausgehend, 370 ccm *N* bei 0° C. und 760 mm Barometerstand = 1 g Harnstoff.

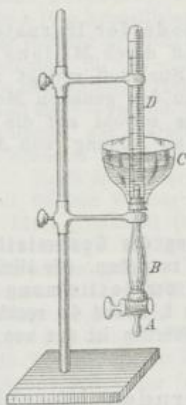


Fig. 24.

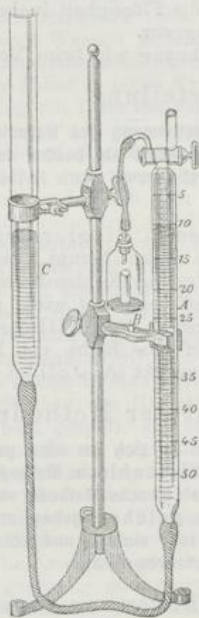


Fig. 25.

Die Vornahme in anderen Apparaten, dem Knopschen Azotometer (dem von Jolles verwendeten), in dem von Lunge konstruierten Ureometer ist eine weit genauere und angenehmere, da man bei Verwendung dieser Azotometer die Finger nicht mit der Lauge in Berührung zu bringen braucht.

Die Entwicklung des zu messenden gasförmigen Zersetzungsproduktes, des Stickstoffes, wird in dem Lungeschen Ureometer, Fig. 25, wie in dem schon S. 127 beschriebenen, von A. Jolles verwendeten, sehr bequemen Azotometer, nicht innerhalb der Meßröhre *A*, sondern außerhalb derselben, in einem besonderen Zersetzungsgefäße *B* vorgenommen. Dieses Entwicklungsgefäß ist eine kleine weithalsige Flasche, die mit einem einfach durchbohrten weichen Kautschukpfropfen verschlossen und durch ein kurzes Stück starkwandigen Schlauches mit dem seitlich angebogenen Hahnansatz dicht verbunden werden kann. Auf dem Boden des Gefäßes steht, ein für allemal

darauf festgeschmolzen, ein zylindrisches, oben offenes Hohlgefäß zur Aufnahme der Zersetzungsflüssigkeit (5 ccm des 1% Harnstoff enthaltenden Harnes), während der bleibende Hohlraum im Gefäß zur Aufnahme der stets frisch bereiteten Bromlauge dient. Man schließt nach Beschickung, wie angegeben, das Entwicklungsgefäß, verbindet es bei normaler Stellung des Hahnes mit dessen seitlich abgebogenem Rohransatz, stellt den Spiegel der in den Röhrenschenkeln enthaltenen schon gebrauchten Bromlauge auf den Nullpunkt ein und öffnet endlich den Hahn einen Augenblick nach aussen, um den Inhalt des Apparates unter atmosphärischen Druck zu bringen. Nun bewirkt man durch Neigen des Entwicklungsgefäßes das Ausfließen des Harnes zur Bromlauge und somit die Gasentwicklung; der entwickelte Stickstoff tritt in die Meßröhre ein; zuletzt veranlaßt man durch vorsichtiges Bewegen ein Eintreten der Bromlauge in das innere Gefäß, um die letzten Reste Harn gar zu zersetzen. Nach dem Aufhören einer Gasentwicklung stellt man die Flüssigkeit in beiden Röhrenschenkeln gleich hoch und nimmt die Ablesung vor.

Berechnung wie beim Versuche nach Hüfner.

Beurteilung.

Die Bestimmung des Harnstoffes nach der Hüfnerschen Methode ist nicht genau. Man nimmt am besten den, wie in a) angegeben, vorbereiteten Harn und führt die Bestimmung nach Jolles in dem Azotometer oder Lungeschen Ureometer aus.

Die von E. Riegler empfohlene Methode der Harnstoffbestimmung, die darauf beruht, daß der Harnstoff durch Millons Reagens in gleiche Volumina Kohlensäureanhydrid und Stickstoff zerlegt und daraus der Harnstoff berechnet wird, gehört nicht zu den genauen Methoden, da die Salpetersäure des Millonschen Reagenses sowohl auf die Harnsäure, als auch auf eine Reihe von Purinbasen unter Bildung von Alloxan und Harnstoff einwirkt (A. Jolles).

Wahl der Methode.

Handelt es sich um eine genaue Bestimmung des Gesamtstickstoffes, dann ist die Kjeldahlsche Methode in Anwendung zu ziehen. Für klinische Zwecke genügt die Jollessche Methode vollkommen. Bei der Bestimmung des Harnstoffes als solchen geben uns die Methoden 1, 2 und 4a recht brauchbare Ergebnisse; sehr einfach und schnell in der Ausführung ist das von Jolles angegebene Verfahren (4a).

Verfahren zu einem annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harn.

Das von M. Pfaundler¹⁾ angegebene Verfahren macht es möglich, einen annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harn zu gewinnen; da die Ergebnisse in häufigen Fällen wertvolle Aufschlüsse bei verschiedenen Krankheiten ergeben können, abgesehen davon, daß wir auch über die Produkte der Eiweißzersetzung im Organismus besser orientiert werden, soll die Methode, die ich auch prüfte, im Nachstehenden eingehendere Erwähnung finden.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 30. 75.

Das Prinzip und die Ausführung der Methode.

Der 24stündige Harn wird über Chloroform aufgefangen, alsbald nach der Entleerung mit stickstofffreier Salzsäure angesäuert und durch Verdünnung mit ungefähr einem halben Teile Wasser auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Allfällige Niederschläge werden vor Entnahme der Proben gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt. Damit werden nun folgende Bestimmungen vorgenommen:

1. Ermittlung des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahl in bekannter Weise.
2. und 3. Bestimmung des Ammoniak- und leicht abspaltbaren Stickstoffes (n_1 und f_1 Niederschlag und Flüssigkeit). 20 ccm des, wie angegeben, vorbereiteten Harnes werden mit etwa 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung (100 g Phosphorwolframsäure — Merck + 100 ccm Salzsäure spez. Gew. 1,124 (= ca. 24,5 %) + 800 ccm destilliertes Wasser) gefällt. Nach 24stündigem Stehen der Proben in ammoniakfreier Atmosphäre wird durch ein aschearmes, stickstoffreies Filter in einen Erlenmeyer-Kolben klar filtriert, der Niederschlag mit Hilfe des Filtrates quantitativ übergespült und zwei bis dreimal mit der zur Fällung verwendeten Lösung gewaschen. Hierbei darf sich das Filtrat nicht mehr trüben. Filter mit Niederschlag wird hierauf gleichfalls in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht und gleich dem Filtrate mit etwa 10 g kristallisierter Phosphorsäure (oder dem gleichen Gewichte der leichter erhältlichen Metaphosphorsäure) versetzt. Beide Kolben kommen für 18—20 Stunden in einen auf 150° eingestellten Trockenkasten. (Ich habe, wie S. 123 ausgeführt, verfahren und fand ein 6—7stünd. Erhitzen genügend; M. Krüger und J. Schmid erhitzten zur Zersetzung des Harnstoffes (Hydrolisierung) 3 bis 4 Stunden mit dem halben Volumen konz. H_2SO_4 auf 160—180°.)

Nach spontaner Abkühlung der beiden Proben werden dieselben mit heißem Wasser in einen Rundkolben aus Hartglas von etwa 1 Liter Kapazität (Schotten-Kolben) gespült, mit stickstofffreier Natronlauge zunächst vorsichtig annähernd neutralisiert, hierauf mit einem großen Überschuß von geglühter Magnesia bis zur deutlichen alkalischen Reaktion versetzt und in eine mit entsprechender Menge $\frac{1}{10}$ Säure (50—75 ccm) beschickte Vorlage wie beim Kjeldahlschen Verfahren abdestilliert. Selbstverständlich kann die Zersetzung mit Phosphorsäure im Destillationskolben direkt erfolgen, wenn der Trockenkasten geräumig genug ist. Zur Verhinderung des Stoßens bei der Destillation setzt man etwas geglühten gepulverten Bimsstein zu. Nach beendeter erster Destillation und erfolgter Abkühlung des Kolbens wird dieser nochmals mit Wasser aufgefüllt und der Inhalt in eine zweite kleine Säurevorlage abdestilliert, wobei in der Regel noch einige Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ Säure neutralisiert werden.

4. und 5. Bestimmung des durch Säure nicht abspaltbaren Stickstoffes im Niederschlage, wie in der Fällung nach der Phosphorwolframsäurebehandlung (n_2 und f_2).

Nach beendeter zweiter Destillation werden die beiden Kolbenrückstände behufs Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt.

Die Anwesenheit von viel Phosphorsäure und Phosphorwolframsäure macht die Kjeldahlsche Bestimmung unangenehm; man muß größere Mengen Zersetzungssäure nehmen. Man kann diese Bestimmung aber umgehen. Hat man nämlich in einer zweiten Probe des Harns — die man gleich in der angegebenen Weise mitbehandelt — die Bestimmung des Gesamtstickstoffes des

Phosphorwolframsäurefiltrates sowohl, wie des Niederschlages gleich nach Kjeldahl vorgenommen, so läßt sich der durch Säuren nicht abspaltbare Stickstoff aus der Differenz berechnen. Zum Beispiel:

Gesamtstickstoff im Filtrate	138,516 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure u. Magnesia- behandlung leicht abspaltbar f_1	130,578 „
Festgebundener Stickstoff f_2 =	7,938.
Gesamtstickstoff des Filterrück- standes	25,592 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure u. Magnesia- behandlung leicht abspaltbar n_1	14,238 „
Festgebundener Stickstoff n_2 =	11,354.

Diese vier Bestimmungen also n_1 , n_2 und f_1 , f_2 müssen sich zum Gesamtstickstoffe des direkt verwendeten Harnes ergänzen. Die Differenz beträgt nach Pfaundler tatsächlich nur 1–2%. Man vergesse nicht, die stattgefundene Verdünnung des Harnes bei der Berechnung in Betracht zu ziehen. Ich habe auch, allerdings nur in zwei Fällen, mit eigenem Harn Untersuchungen vorgenommen und fand die Angaben Pf. bestätigt.

Der Gesamtstickstoff des eiweiß- und albumosefreien Stickstoffes wird auf diese Weise also in vier Fraktionen bestimmt.

1. Fraktion n_1 . Durch Phosphorsäure abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen (Niederschlag). Also der gesamte Stickstoff des Ammoniaks, der Karbaminsäure, des Rhodans und ein Teil des Stickstoffes der Harnsäure, der Purinbasen, des Kreatinins, des Harnmucoides, der Eiweißkörper, bzw. des Nukleolalbumins des normalen Harnes.

2. Fraktion n_2 . Durch Phosphorsäure nicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Körper (Niederschlag).

Stickstoffrest jener bei 1. angeführten Substanzen, welche, wie Harnsäure, nur einen Teil des Stickstoffes festgebunden enthalten, ferner der Stickstoff der Diamine, der Diamidosäuren und wohl auch der etwa vorkommenden Ptomaine. $n_1 + n_2$ = gesamter durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff.

3. Fraktion f_1 . Leicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper (Flüssigkeit bzw. Filtrat), d. h. der gesamte Stickstoff des Harnstoffes, des Allantoins, der Oxalursäure, eventuell ein Teil des Kreatininstickstoffes.

Hier erscheint auch etwas mehr als die Hälfte des Oxyproteinsäurestickstoffes, vorausgesetzt, daß sich die Oxyproteinsäure (s. d.) bezüglich der Stickstoffabspaltbarkeit nicht anders verhält, als es die mit dem reinen Salze von Pfaundler angestellten Versuche ergeben haben.

4. Fraktion f_2 . Festgebundener Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper (Flüssigkeit bezw. Filtrat), Amidosäuren und ihrer Derivate, also das Glykokoll (Hippursäure), Taurin- und Cystin-abkömmlinge, Leucin, Tyrosin und Cystin im pathologischen Harn.

Hier ist auch der Rest der Oxyproteinsäure zu suchen.

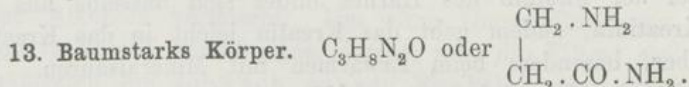
In eiweiß- und albumosehaltigen Harnen müßte die 1. Fraktion durch den Amidostickstoff der Proteinsubstanzen, die 2. (n_2) durch den „Mono- und Diamidostickstoff“ (Hausmann) vermehrt werden.

Ein ganz ähnliches Verfahren zur Bestimmung des Amidosäurenstickstoffes geben M. Krüger und J. Schmid¹⁾ an; dasselbe beruht auf den schon von Pfandler angegebenen Voraussetzungen.

Es werden 30 ccm Harn mit 3 ccm 10% Salzsäure und der, wie S. 123 angegeben, berechneten Menge an Phosphorwolframsäurelösung gefällt; nach 2 Minuten wird abfiltriert; mit dem Filtrate werden folgende Bestimmungen ausgeführt, nachdem man in 5 ccm des ursprünglichen Harnes eine Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen hat.

In je 10 ccm des Filtrates resp. einer solchen Menge, welche 5 ccm Harn entspricht, wird

- a) der Gesamtstickstoff (Harnstoffstickstoff + Amidosäurenstickstoff) nach Kjeldahl und
- b) der Harnstoffstickstoff allein durch Erhitzen mit dem halben Volumen konz. Schwefelsäure während 3–4 Stunden auf 160 bis 180° und Destillation nach dem Übersättigen²⁾ mit Natronlauge (für 5 ccm konz. Schwefelsäure genügen 20–22 ccm 33% Natronlauge). Differenz zwischen a) und b) gibt den Amidosäurenstickstoff.



Als ein Harnstoff, in dem CO durch CO—C₂H₄ ersetzt ist, oder als das Diamid der Fleischmilchsäure könnte der von Baumstark isolierte stickstoffhaltige Körper aufgefaßt werden.

Derselbe wurde im ikterischen und auch im normalen Harn gefunden.

Darstellung.

Der eingedickte sirupartige Harn wird warm mit viel absolutem Alkohol vermischt, die Lösung wird filtriert und aus dem Verdunstungsrückstande dieses alkoholischen Auszuges nach dem Ansäuern mit Äther die Hippursäure durch Ausschütteln entfernt.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **31**. 556.

²⁾ Wenn Cystin vorhanden ist, macht man mit Lauge annähernd neutral und gibt überschüssige frisch ausgeglühte Magnesia hinzu.