9. Carbaminsäure. Aminoameisensäure. $CH_3 \cdot NO_2$ oder $CO\begin{cases}OH\\NH_2\end{cases}$.

Diese kommt im freien Zustande im Harne nicht vor, sie zerfällt nach ihrer Abscheidung aus den Salzen in Ammoniak und in 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 Ammoniumcarbonat, wobei intermediär carbaminsaures Ammoniak auftritt, erklärt.

Die umständliche Darstellung, wozu J. Abel und E. Drechsel eine Vorschrift gegeben haben, zudem das noch nicht sichergestellte 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.

Auf eine von J. J. R. Macleod und H. D. Haskins[1]) ausgearbeitete Methode einer quantitativen Bestimmung sei hingewiesen.

10. Der Harnstoff. Aminoameisensäureamid. CON_2H_4 oder $CO\begin{cases}NH_2\\NH_2\end{cases}$.

Der Harnstoff — Carbamid — im Jahre 1773 von Rouelle im Harne entdeckt, ist der am reichlichsten im Harne vorkommende organische Stoff und der wichtigste der Endprodukte des Eiweißstoffwechsels. (S. 35 und 168.) Nach den Forschungen von Nencki, Salkowski, Schultzen, Schmiedeberg, R. Hofmeister, A. A. Epstein, ist es wahrscheinlich, daß der Harnstoff aus Aminosäuren, Zersetzungsprodukten des Eiweißmoleküls sich bildet. Bei der Oxydation werden diese Aminosäuren in Wasser, Kohlensäure und Ammoniak umgesetzt; aus den beiden letzteren entstehen in statu nascendi das carbaminsaure Ammonium, aus dem sich der Harnstoff unter Wasseraustritt oder Zersetzung in Harnstoff und Ammoniumcarbonat bildet.

$$CO\begin{cases}O\cdot NH_4\\NH_2\end{cases} - H_2O = CO\begin{cases}NH_2\\NH_2\end{cases} \quad \text{oder}$$

$$2\,CO\begin{cases}O\cdot NH_4\\NH_2\end{cases} = CO\begin{cases}NH_2\\NH_2\end{cases} + CO\begin{cases}O\cdot NH_4\\O\cdot NH_4\end{cases}.$$

Nach den Untersuchungen von Abderhalden und seinen Mitarbeitern können wie die Aminosäuren auch Polypeptide im Tierkörper zu Harnstoff abgebaut werden.

Mit der im vorstehenden genannten Ansicht würde auch die von E. Drechsel[2]) im Einklange stehen, der die Entstehung des Harnstoffes aus Eiweiß durch Hydrolyse ohne direkte Oxydation annimmt. R. Fosse bestätigt diese Angabe. Nun wissen wir, daß die Menge des so gebildeten Harnstoffes von dem Gehalte der Eiweißkörper an Arginin, einer Diaminosäure, abhängig ist, die bei der Einwirkung des Trypsins im Darmkanal entsteht und die sich wohl auch in den Geweben beim Abbau der Proteine bilden wird.

---

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 1905. **12.** 444.
[2]) Berl. Bericht. 1890. **23.** 3096.

Durch fermentative Spaltung der Eiweißstoffe gelang A. Kossel und H. D. Dakin[1]) ebenfalls die Gewinnung von Harnstoff aus Arginin; sie stellten ferner fest, daß die Harnstoffabspaltung von einem besonderen Fermente, Arginase genannt, veranlaßt wird. Auch die Bildung von milchsaurem Ammonium bei dem Eiweißzerfalle ist erwiesen und könnte auch aus diesem in der Leber kohlensaures Ammonium und daraus wieder Harnstoff gebildet werden.

Nach den Versuchen v. Schroeders vollzieht sich die Harnstoffbildung hauptsächlich in der Leber, wenn auch andere Organe daran beteiligt sein dürften und die Leber, wie Nencki, Pawlow u. a. 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 Menschenharne vorkommenden Harnstoffes ist eine verschiedene und hängt von der Nahrung ab. Im allgemeinen nimmt man an, daß der gesunde Mensch bei gemischter Nahrung in 24 Stunden 25—35 g (nach anderer Angabe 20—30 g) Harnstoff ausscheidet; die Frau scheidet etwas weniger aus (etwa 24—30 g). Der menschliche Harn enthält also ungefähr 2 % Harnstoff.

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—0,60 g in genannter Zeit ausscheiden.

Das Verhältnis des Stickstoffes des Harnstoffes zur gesamten Stickstoffmenge ist ungefähr 85 : 100 (Robins Koeffizient).

Dieser Koeffizient, Oxydationskoeffizient, läßt die größere oder geringere Intensität der Oxydationsvorgänge im Organismus erkennen; die Harnstoffbildung wird durch diese Vorgänge beeinflußt.

So kann eine Verminderung der Verhältniszahl, die nach anderen 91—94 : 100 betragen soll, eine unvollkommene, ungenügende Oxydation und eine Anhäufung anderer, dem Organismus nicht zuträglicher Stoffe anzeigen; bei Cholera sind z. B. Werte von 50—60 : 100 zu finden.

Über die Ambardsche Konstante siehe bei Chlornatrium S. 78.

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

Eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung Hyperazoturie findet, was eigentlich selbstverständlich ist, statt bei allen Krankheiten (akuten fieberhaften Krankheiten, Typhus, akuten Infektionskrankheiten), durch die ein Zerfall des Organeiweißes bedeutend gesteigert wird; die größte Ver-

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1904. **41.** 321; 1904. **42.** 181; Münch. med. Wochenschr. 1904. **50.** Nr 13.

mehrung des Harnstoffes kann man bei Diabetes mellitus finden; hier kann die absolute Menge das Vier- bis Fünffache der normalen Menge betragen, sie kann zum Teil aber wenigstens auch durch die Fleischkost bedingt sein (bis über 100 g täglich). Medikamente (Coffein, Chinin, Natrium salicylicum), Kaffee, Kochsalz, Borax, Glaubersalz, Dampfbäder, Elektrizität bewirken gleichfalls eine mehr oder weniger vermehrte Ausscheidung.

Verminderung des Harnstoffes, Hypazoturie, tritt ein bei degenerativen Leberleiden, so bei der akuten gelben Leberatrophie, nach Phosphorvergiftungen, und zwar in so auffallender Weise, daß manchmal überhaupt gar keine Ausscheidung mehr beobachtet wird; 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 Harne ausgeschiedene Menge Stickstoff ausschließlich der aufgenommenen Nahrung und nicht dem Körpereiweiß entstammt, zu gedenken, die darauf beruht, daß eine verminderte Kochsalzausscheidung, die bei Gesunden ungefähr die Hälfte des Harnstoffes beträgt und eine vermehrte Stickstoffausscheidung darauf schließen lassen, daß in diesem Falle der Stickstoff aus dem Körpereiweiß stammt.

Darstellung aus dem Harne.

Man dampft Harn bis zum leichten Sirup auf dem Wasserbade ein, versetzt den Rückstand in der Kälte (durch Einstellen in Eiswasser) mit reiner farbloser, ebenfalls abgekühlter Salpetersäure im Überschusse und trennt den entstandenen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff rasch von der Mutterlauge durch Absaugen auf einem Filter; der salpetersaure Harnstoff wird mit Salpetersäure ausgewaschen und zwischen Filtrierpapier abgepreßt. Den in etwas Wasser gelösten salpetersauren Harnstoff zerlegt man mit kohlensaurem Baryt und zieht aus der getrockneten Masse den Harnstoff mit absolutem Alkohol aus. Man entfärbt die alkoholische Lösung mit Tierkohle und filtriert warm. Aus dem Filtrate krystallisiert dann der Harnstoff beim Erkalten in meistens farblosen Nadeln aus, die durch Absaugen von der Flüssigkeit befreit werden und durch Auflösen in Alkoholäther nötigenfalls noch weiter gereinigt werden können.

Man kann den Harnstoff auch als oxalsauren Harnstoff nach dem Verfahren von Freund und Töpfer (s. S. 187) isolieren; hier kann man größere Mengen Harn in Arbeit nehmen.

Eigenschaften.

Der Harnstoff krystallisiert in wasserfreien, langen, wasserhellen, vierseitigen rhombischen Prismen, die durch ein oder zwei schiefe Endflächen geschlossen sind. Der Harnstoff ist leicht löslich in Wasser und Alkohol — die Lösungen reagieren neutral —, er löst sich auch in wasser- und alkoholhaltigem Äther, unlöslich ist er in reinem Äther, Essigäther und Chloroform und besitzt einen bitterlichen kühlen, salpeterähnlichen Geschmack. Sein Schmelzpunkt liegt bei 132°.

Als basischer Körper verbindet sich der sehr reaktionsfähige Harnstoff mit vielen Säuren und liefert mit ihnen krystallisierende Salze, von denen besonders das salpetersaure und oxalsaure Salz wegen ihrer Schwerlöslichkeit zum Nachweise des Harnstoffes wichtig sind. Der Harnstoff zeigt neutrale Reaktion, mit Säuren gibt er Salze, die sauer reagieren. Mit Salzen (Chlornatrium, Chlorammonium, den Nitraten der Schwermetalle) vereinigt sich der Harnstoff zu krystallisierenden Verbindungen, von denen die mit salpetersaurem Quecksilberoxyd für die quantitative Bestimmung des Harnstoffes empfohlen wurden; Mercurinitrat 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; diese Eigenschaft des Harnstoffes bildete den Ausgangspunkt für die nun nicht mehr in Anwendung kommende Harnstoffbestimmung nach Liebig. Mit Palladiumchlorür gibt der Harnstoff ein schwerlösliches Salz, $2CO \cdot (NH_2)_2 \cdot PdCl_2$.

Mit einer Lösung von unterchlorig- oder unterbromigsaurem Salz, ebenso mit salpetriger Säure zusammengebracht, zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser. Auf der Zerlegung des Harnstoffes durch Natriumhypobromit beruht die Bestimmung des Harnstoffes nach Hüfner mit den vielen hier empfohlenen Verfahren und Apparaten (Ureometern). Beim längeren Erhitzen auf 130° entsteht Biuret, Ammoniak und Cyansäure.

Beim Erwärmen einer Harnstofflösung — in wässeriger Lösung ist der Harnstoff nicht beständig, er zerfällt schon bei niederer Temperatur teilweise in das isomere Ammoniumcyanat und dann unter Wasseraufnahme weiter in Ammoniumcarbonat — zerfällt der Harnstoff in Kohlensäure und Ammoniak; durch Zusatz von Alkalien und besonders von Säuren wird diese Hydrolyse befördert, im Autoklaven mit 20%iger Salzsäure oder Schwefelsäure auf 150° erhitzt, wird der Harnstoff im Verlaufe von 2 Stunden quantitativ gespalten.

Die Fähigkeit, Harnstoff zu hydrolysieren, kommt auch sehr vielen Bakterien, vor allem Mikrococcus ureae Past., nicht jedoch dem Bacter. col. comm. zu; dagegen greift das Bact. fluorescenz liquefaciens den Harn ungemein rasch an, es tritt die erwähnte Spaltung ein, ohne daß die übrigen stickstoffhaltigen Bestandteile verändert werden. Die Hydrolyse wird weiter durch die Gegenwart eines Enzyms, der Urease, die sehr verbreitet ist in Pflanzensamen, besonders in dem der Papilionaceen und hier vor allem in

der Sojabohne (Glycine, Soja hispida) veranlaßt. Die Sojabohnen und die Urease werden neuerdings zur quantitativen Bestimmung des Harnstoffes verwendet.

Qualitativer Nachweis.

Hat man eine qualitative Prüfung auf Harnstoff vorzunehmen oder die Frage zu entscheiden, ob irgendeine Flüssigkeit Harn ist oder nicht (Erkennung als Harn), so benützt 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 Krystallisation beiseite. Unter dem Mikroskope sieht man dann entweder einzelne rhombische Tafeln (Fig. 35), oft auch solche, deren stumpfe Winkel durch Flächen in hexagonale Tafeln umgewandelt werden, oder der Harnstoff scheidet sich in sechsseitigen Täfelchen aus, deren Ränder sich dachziegelartig decken.

   Zum Unterschiede von Cystin und von den sechsseitigen Tafeln der Harnsäure sind die Krystalle des salpetersauren Harnstoffes in Wasser löslich.

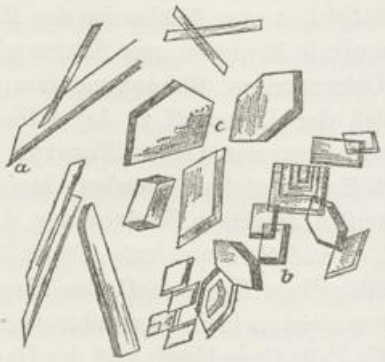

Fig. 35.

a Harnstoff.
b Salpetersaurer } Harnstoff.
c Oxalsaurer }

Zur Erkennung einer Flüssigkeit als Harn empfiehlt C. F. Reichardt[1]) folgendes Verfahren: Auf einen Objektträger tröpfelt man 1 Tropfen 1%ige Lösung $AuCl_3NaCl + 2\,H_2O$, 1 Tropfen 1%ige Lösung von KJ (frisch bereitet) und 2 Tropfen der Flüssigkeit. Man trocknet über Schwefelsäure und untersucht nach 12 Stunden; wenn die Flüssigkeit Harn ist, werden Harnsäure, Harnstoff und Kreatinin in außerordentlich deutlichen Krystallformen erkannt. Nach 2—3 Tagen nach der Aufbewahrung der Präparate im Exsiccator nehmen die Harnsäurekrystalle (Doppelwetzsteinform) ab, die Harnstoffdoppelverbindungen treten in seidenglänzenden Prismen mit Einlagerung blaugefärbter Jodkörper mehr hervor.

2. Wird konzentrierte Harnstofflösung oder konzentrierter Harn mit gesättigter Oxalsäurelösung zusammengebracht, so scheidet sich oxalsaurer Harnstoff ($(CON_2H_4)_2 \cdot C_2H_2O_4 + H_2O$) in Krystallen aus, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind; meist findet man in mikroskopischen Präparaten die prismatische Form (Fig. 35).

   In alkoholischer oder amylalkoholischer Lösung wird Harnstoff durch eine ätherische Lösung von Oxalsäure als krystallinisches Harnstoffoxalat gefällt (Brücke).

3. Eine charakteristische Reaktion ist die Biuretreaktion. Man erhitzt einige Kryställchen des wie oben angegeben hergestellten Harnstoffes in einem trockenen Reagenzglase gelinde, bis sie in ihrer

[1]) Pharm. Ztg. 1909. **54.** 1007.

ganzen Masse geschmolzen sind und kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar ist; hiebei entsteht zunächst durch Zusammentritt von 2 Molek. Harnstoff unter Austritt von Ammoniak Ammoniak und Biuret (NH_2—CO—NH—CO—NH_2), das Amid der Allophansäure. Daneben bildet sich noch aus 3 Molek. Harnstoff unter Abspaltung von 3 Molek. Ammoniak Cyanursäure. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, es werden etwas stark 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 Zusatze 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 Furfurollösung 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 (H. Schiff).[1])

D. Ganassini[2]) löst 5 Tropfen Furfurol in 2 ccm 96 %igem Alkohol und gibt 2 ccm Wasser und 1 ccm konz. Salzsäure hinzu; man läßt eine Stunde stehen. Wenige Tropfen dieser Lösung geben mit einer Spur Harnstoff eine prächtig purpurrote, allmählich in violett übergehende Färbung. Nach den Versuchen des Verf. gelingt die Ausführung der Reaktion nur mit unreinem Furfurol; die die Reaktion auslösende Verunreinigung wäre Aceton.

5. Nach Fenton[3]) gibt Methylfuril ($C_4H_3O \cdot CO \cdot CO \cdot C_4H_2O \cdot CH_3$) oder der Ketoaldehyd ($CHO \cdot C_4H_2 \cdot O \cdot CO \cdot C_4H_2 \cdot O \cdot CH_3$) mit Harnstoff nach Zusatz einer Spur Phosphoroxychlorid und Acetylchlorid eine schöne blaue Färbung. Noch 0,01 mg Harnstoff soll nachweisbar sein.

6. Harnstoff in verd. Salzsäure gibt, im Überschusse mit 40 %igem Formaldehyd versetzt, einen weißen unlöslichen Niederschlag von Diformaldehydharnstoff (Goldschmidt).[4]) May, Jaffé haben diese Reaktion schon früher angegeben. Nach L. de Jager[5]) schadet ein Überschuß von Salzsäure weniger, als ein Zuviel an Formaldehyd. Eine maximale Fällung kommt zustande mit 200—300 mg Formalin und 1 ccm Salzsäure (25 %ig), d. i. 3—4 Molek. Formalin auf 6 Molek. Salzsäure.

7. Nach E. Lüdy[6]) versetzt man den alkoholischen Auszug des eingedampften Harnes mit einer alkoholischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd in geringem Überschusse und dampft auf dem Wasserbade ein. Der trockene Rückstand wird mit Alkohol erwärmt, der

[1]) Berl. Bericht. 1877. **10.** 773.
[2]) Boll. Chim. Farm. 1920. **59.** 3.
[3]) Proc. chem. Soc. 1903. **18.** 243; Zeitschr. angew. Chem. 1903. 991.
[4]) Berl. Bericht. 1896. **29.** 2438.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1910. **64.** 110.
[6]) Monatshefte f. Chem. 1890. **10.** 303. 310.

Alkohol abgegossen und diese Behandlung mit Alkohol noch 2—3mal wiederholt, bis der Alkohol mit Phenylhydrazinlösung keine Reaktion mehr gibt. Vorhandener Harnstoff ist in o-Nitrobenzilidendiureid übergegangen, einen weißen pulverigen Körper, der mit einer verdünnten Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin und etwa 5—10 Tropfen einer etwa 10%igen Schwefelsäure versetzt und zum Sieden erhitzt eine Rotfärbung gibt. — Bildung des Phenylhydrazons des o-Nitrobenzaldehyds, das aus dem gebildeten o-Nitrobenzilidendiureid frei wird. Das bei der Reaktion zugegebene o-Nitrobenzaldehyd muß ganz entfernt sein!

Beurteilung.

Die angeführten Reaktionen sind für den Nachweis kennzeichnend und genügend. In der zur Identifizierung vorliegenden Flüssigkeit könnte man noch auf Harnsäure (Abscheiden dieser durch Zusatz von Salzsäure zur Flüssigkeit und Murexidprobe der ausgeschiedenen Krystalle), sowie auf die Anwesenheit von Kreatinin prüfen.

Quantitative Bestimmung des Harnstoffes.

Die hiezu dienenden Methoden haben im allgemeinen das gemeinsam, 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 in der Weise vornimmt, die eine eingreifende Änderung und Zersetzung der anderen Bestandteile möglichst vermeidet.

Hier mag erwähnt sein, daß nach den Versuchen F. Lippichs[1]) die Hauptmenge des nach Pflüger-Schöndorff, nach Mörner-Sjöqvist bestimmten Harnstoffes zweifellos Carbamid ist, daß eine vom Harnstoff äußerst schwer trennbare Substanz, wie Moor angab (Urein), dem Harnstoff im menschlichen Harne nicht beigemischt ist und daß der Harnstoffgehalt des menschlichen Harnes keineswegs wesentlich überschätzt worden ist. Nach Moor trifft dies für Harne von niederem spezifischem Gewichte, nicht aber für solche mit höherem spezifischem Gewichte (1,025—1,030) zu; letztere sollen Urein enthalten.

1. Die Methode von E. Pflüger, K. Bohland-L. Bleibtreu[2]) mit den Modifikationen nach Gumlich[3]), B. Schöndorff.[4])

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 Ammoniumphosphat 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 Folin[5]) 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, Pflaundler[6]) ist die unvollständige Ausfällung des Harnstoffes nur

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1906. **48.** 160. 577
[2]) Archiv Physiol. 1886. **38.** 575. 1889. **44.** 78.
[3]) Zeitschr. physiol. Chem. 1893. **17.** 10.
[4]) Archiv Physiol. 1895. **62.** 1. 51.
[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32.** 505.
[6]) Ebenda. 1900. **30.** 75.

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 Alloxyproteinsäure und der Antoxyproteinsäure), vielleicht auch ein Teil des Kreatininstickstoffes vorhanden. Es wird aber wohl überhaupt unmöglich sein, den Harnstoffstickstoff so ganz für sich allein zu gewinnen.

Zuckerhaltiger Harn soll sich nach G. Satta[1]) für diese Methode nicht eignen; die Methode ist aber auch bei solchem Harne verwendbar, man muß nur dafür sorgen, daß der Harn auf etwa 1% Zuckergehalt gebracht und daß genügend Kalkhydrat zugesetzt ist (B. Schöndorff).[2])

Ausführung der Bestimmung.

Erforderliche Lösungen.

Salzsäurehaltige Phosphorwolframsäurelösung.

100 ccm Salzsäure von 1,124 spezif. Gew. + 900 ccm Phosphorwolframsäurelösung 1 : 10 (Phosphorwolframsäure Merck).

Die Phosphorwolframsalzsäure darf bei längerem Stehen in einer 2—4%igen Harnstofflösung keine Fällung veranlassen; vorhandenes Ammoniak muß vollständig ausgefällt werden.

Man titriert, um die zum Ausfällen der Harnsäure usw. nötige Menge des Fällungsmittels kennen zu lernen, 10 ccm Harn mit der in einer Bürette befindlichen Phosphorwolframsäuremischung so lange, bis in 1 ccm der **klar** filtrierten Lösung auf Zusatz von 3 Tropfen der Phosphorwolframsäure keine Trübung mehr eintritt.

Man vermischt dann in einem graduierten Meßzylinder 50—100 ccm Harn (Harn über 1,017 spezifisches Gewicht wird mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt) mit dem bei der Vorprobe ermittelten Volumen der Phosphorwolframsäure, füllt mit Salzsäure (1 : 10) auf 150 oder 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. 66). Die gleiche Menge des Filtrates (10 ccm ursprünglichen Harns entsprechend) wird zur Überführung des Harnstoffes in Ammoniak in einem Destillierkolben mit ungefähr 10 g krystallisierter Phosphorsäure oder der entsprechenden Menge konzentrierter flüssiger Phosphorsäure versetzt und $4^1/_2$—5 Stunden, nach Ch. Sallerin 7 Stunden, im Trockenschranke auf 140—150° erhitzt; der Harnstoff wird hiedurch 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 20%ige Natronlauge im Überschusse hinzu und destilliert in der bei der Bestimmung nach der Kjeldahlschen Methode angegebenen Weise (S. 171). Das Destillat wird in $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure aufgefangen und wie bei der Kjeldahlschen Bestimmung titriert. Man muß so lange destillieren, bis das Destillat neutral reagiert; man kann auch zum Destillationsrückstande Wasser hinzugeben und nochmals destillieren. Von

[1]) Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1905. **6.** 358.
[2]) Archiv Physiol. 1907. **117.** 275.

der gefundenen und berechneten Stickstoffmenge ist die nach Schlösing gefundene in Abzug zu bringen; der Rest wird auf Harnstoff berechnet.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10} \text{ n-Säure} = 0{,}001401 \text{ g N.}$$
$$= 0{,}00300 \text{ g Harnstoff.}$$

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

P. A. Levene und G. M. Meyer[1]) pipettieren 12,5 ccm Harn in einen graduierten Zylinder und geben eine 10%ige Phosphorwolframsäurelösung in 10%iger Schwefelsäure in geringem Überschusse hinzu. Nach 24stündigem Stehen füllt man mit 10%iger Schwefelsäure auf 50 ccm auf, filtriert und erhitzt 20 ccm im Autoklaven nach Benedikt und Gephart. Der Inhalt der Röhre wird in einen Destillierkolben gespült, der vorhandene körnige Niederschlag in Alkali gelöst, die Lösung alkalisch gemacht und destilliert. Nach Ch. G. L. Wolf und E. Oesterberg erhält man nach Benedikts und Gepharts Methode aber unrichtigere, höhere Werte; auch F. W. Gill, F. G. Allison und H. S. Grindley[2]) fanden unrichtige Werte; sie geben ein Verfahren an, das eine Kombination der Methoden von Benedikt, Gephart und Folin darstellt.

V. Henriques und S. A. Gammeltoft[3]) haben bei der Prüfung der verschiedenen Verfahren der Harnstoffbestimmung mit der Methode von Levene und Meyer die besten Resultate erhalten. Sie bestimmen zuerst in 5 ccm Harn die Menge einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure in ${}^1/_2$ n-Schwefelsäure, die nötig ist, um eben eine vollständige Fällung hervorzurufen (s oben). Man mißt dann 10 ccm Harn ab, setzt die nötige Menge Phosphorwolframsäurelösung zu, füllt mit der ${}^1/_2$ n-Schwefelsäure auf 100 ccm auf, schüttelt und filtriert nach erfolgtem Absetzen des Niederschlages. Vom Filtrate bringt man 2mal je 10 ccm in einem Probierglas (Jenaer Glas) mit Zinnfolie bedeckt in einen Autoklaven, erhitzt $1^1/_2$ Stunden auf 150° und bestimmt das gebildete Ammoniak durch Titration in bekannter Weise, nachdem man es entweder nach Zusatz von Soda durch Durchleiten von Luft oder nach Zusatz von methylalkoholischer Bariumhydratlösung durch Destillation im Vakuum übergetrieben hat.

Das Verfahren von Henriques-Gammeltoft bezeichnen J. Bang (a. a. O.), H. T. P. Rasmussen[4]) als zuverlässig.

2. Die Methode nach K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.[5])

Allgemeines und Prinzip.

Die Genannten haben an Stelle der Phosphorwolframsäure eine gesättigte Chlorbariumlösung mit 5% Barythydrat 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 Camerer und Söldner[6]), Salaskin und Zaleski[7]) begreift der hiebei gewonnene Stickstoff außer dem des Kreatinins und Allantoins auch den der Hippursäure in sich. Die Fehlerquelle wird dadurch umgangen, daß der nach dem Abdampfen des Ätheralkohols erhaltene Rückstand nach dem Entfernen von Ammoniak nicht direkt zur Kjeldahlschen Bestimmung verwendet, sondern daß der Harnstoff hydrolysiert wird, wobei eine Zersetzung der Hippursäure und des Kreatinins vermieden werden kann. Die Letztgenannten erhitzen zu dieser Zerlegung den Harnstoff im zugeschmolzenen Rohre, Braunstein[8]) verwendet Phosphorsäure, Mörner das von Folin[9]) empfohlene Magnesiumchlorid und Salzsäure.

A. Ausführung der Bestimmung nach Braunstein.

In einem Kolben werden 5 ccm — in einer genauen Bürette genau abgemessen — eiweißfreier Harn mit 5 ccm einer gesättigten Chlorbariumlösung, die 5% Barythydrat aufgelöst enthält, zusammengebracht; ferner werden 100 ccm einer Mischung, aus 2 Teilen 96%igem Weingeist und 1 Teil Äther bestehend, hinzugegeben, das Gefäß wird verschlossen und 12 Stunden

---

[1]) Journ. Amer. Chem. Soc. 1909. **31.** 717; Chem. Ztg. Rep. 1909. **33.** 402.
[2]) Ebenda. 1909. **31.** 1078; Chem. Centralbl. 1909. **80.** II. 2044.
[3]) Skand. Archiv Physiol. 1911. **25.** 153; Chem. Centralbl. 1911. **82.** I. 1450.
[4]) Skand. Archiv Physiol. 1913. **30.** 191.
[5]) Ebenda. 1891. **2.** 438.
[6]) Zeitschr. Biolog. 1899. **38.** 227.
[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1897. **28.** 73.
[8]) Ebenda. 1900. **31.** 381.
[9]) Ebenda. 1901. **32.** 504; 1902. **36.** 333; 1903. **37.** 548.

stehen gelassen; der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit 50 ccm Alkoholäther nötigenfalls mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe ausgewaschen. Aus dem klaren Filtrate wird bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur auf dem Wasserbade der Äther-Alkohol abdestilliert; die zurückbleibende Flüssigkeit bringt man verlustlos unter Nachspülen mit etwas Wasser in eine Schale und engt sie bei einer nicht über 60° betragenden Temperatur auf dem Wasserbade auf etwa 20—25 ccm ein; man gibt dann etwas Wasser und gebrannte Magnesia zu und dampft zur Entfernung des präformierten Ammoniaks so lange ein, bis die Dämpfe keine alkalische Reaktion mehr zeigen. Die Flüssigkeit spült man mit Wasser in einen Rundkolben und wäscht die Schale wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nach; zu dem Kolbeninhalte, den man auf 10—15 ccm eingeengt hat, bringt man 10 g krystallisierte Phosphorsäure, erhitzt $5^1/_2$ Stunden im Trockenkasten (Thermostaten) auf 140—145° (bei dieser Temperatur wird das Glykokoll der Hippursäure nicht zerlegt), löst den Rückstand nach dem Erkalten in Wasser und destilliert nach Zusatz von 60—70 ccm etwa 28%iger Kali- oder Natronlauge das aus dem Harnstoff gebildete Ammoniak in bekannter Weise ab:

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10} \text{ n-Säure} = 0{,}001401 \text{ g N.}$$
$$= 0{,}003 \text{ g Harnstoff.}$$

B. Ausführung der Bestimmung nach K. H. Mörner.[1])

Um die etwa vorhandenen und sich störend geltend machenden Kohlenhydrate zu entfernen, werden 5 ccm Harn, genauestens gemessen, mit 1,5 bis 2,0 g gepulvertem Baryumhydroxyd und nach wiederholtem Umschütteln, um das Baryumhydroxyd möglichst zu lösen, mit 100 ccm der Alkohol-Äthermischung (2 Vol. Alkohol von 96—97% und 1 Vol. Äther) versetzt. Nach etwa 24stündigem Stehen filtriert man, wäscht den Niederschlag aus und dampft das Filtrat, aus dem man durch Abdestillieren auf dem Wasserbade, wie oben, den Alkohol-Äther wieder gewonnen hat, nach Zusatz von Magnesiumoxyd bei etwa 50° ein; hiebei wird aller etwa vorhandene Zucker entfernt. Man nimmt den Rückstand mit Wasser und etwas Salzsäure auf, bringt die Lösung in einen 200 ccm fassenden Kolben, spült nach, setzt 2 ccm Salzsäure (1,124 spez. Gew.) hinzu und trocknet auf dem Wasserbade ein. Zum Rückstande gibt man 20 g krystallisiertes ammoniakfreies Magnesiumchlorid und 2 ccm konz. Salzsäure (D. = 1,124) und kocht den Inhalt des Kolbens unter Zugabe von Siedesteinchen oder dergl. auf einem Drahtnetze unter Benützung eines zweckentsprechenden Rückflußkühlers mindestens 2 Stunden lang. Der Kolbeninhalt wird mit Wasser verdünnt, in einen Destillierkolben nach Kjeldahl gespült, der erstere Kolben noch mit Wasser nachgewaschen, so daß etwa $^3/_4$ Liter Flüssigkeit erhalten werden und aus dieser Flüssigkeit nach Zusatz von 22 ccm 10%iger Lauge das Ammoniak in der angegebenen Weise abdestilliert und in 60—80 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefel-

[1]) Skand. Archiv Physiol. 1903. **14.** 300.

säure aufgefangen. Die Destillation beansprucht etwa 1 Stunde, bis alles Ammoniak übergegangen ist. Das Destillat wird zur Entfernung der Kohlensäure aufgekocht und nach dem Erkalten die im Überschusse zugesetzte $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure zurücktitriert. Als Indicator wird Lackmoid-Malachitgrün (10 g Lackmoid in 150 ccm Alkohol und 10—15 ccm 2 %iger alkoholischer Malachitgrünlösung) empfohlen. Man kann auch Lackmus oder Luteol verwenden.

C. Ausführung der Bestimmung nach S. Salaskin und J. Zaleski[1]).

Es wird anfangs ebenso verfahren, wie bei der Ausführung der Bestimmung nach A, nur werden 75 ccm Alkohol-Äthermischung verwendet. Die Flüssigkeit wird mit Hilfe der Wasserluftpumpe direkt in ein besonderes Destillationsgefäß (Fig. 36) filtriert und der Niederschlag mit der gleichen Mischung von Alkohol und Äther ausgewaschen. Der Alkohol-Äther wird aus dem Apparate mit einem durch Schwefelsäure getrockneten, auf 80° erwärmten Luftstrom im Vakuum entfernt; der Apparat wird im Wasserbade von 40° erwärmt; zur Entfernung der Flüssigkeit bis auf etwa 10 ccm sind 6—8 Stunden nötig. Man gibt dann 0,2—0,3 g Magnesiumoxyd hinzu und entfernt in gleicher Weise das Ammoniak, was 4—6 Stunden in Anspruch nimmt. Man bringt an den Wänden entlang 4 ccm Salzsäure (1,124 spez. Gew.) in den Apparat und füllt dann mit Wasser bis zu einem bestimmten Volumen im Apparate (bis zum obersten Strich sind es 26 ccm) auf. Nach dem Umschütteln und Filtrieren werden abgemessene Mengen des Filtrates (10—20 ccm) in Röhren eingeschmolzen und diese im Schießofen 3 Stunden lang auf 130—140° erhitzt. Nach dem Abkühlen spült man den Inhalt der Röhren in Destillationskolben und destilliert das gebildete Ammoniak nach Zusatz von Magnesiumoxyd in vorgelegte Säure ab usw.

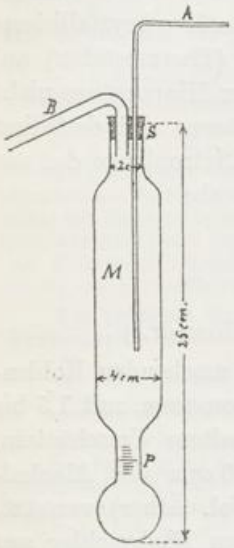

Fig. 36.

Beurteilung.

Die Methode nach Mörner und Sjöqvist in den angegebenen Ausführungen genügt allen Anforderungen auf Genauigkeit. Von W. Wiechowski[2]) wird diese Bestimmung des Harnstoffes, besonders in der Ausführung nach Mörner als die exakteste bezeichnet. C. Arnold und C. Mentzel, A. Chrustaler u. a. haben vorzügliche Ergebnisse erzielt. Ich finde die Ausführung nach A (Braunstein) einfacher und bequemer; bei Verwendung von Magnesiumchlorid zur Hydrolisierung des Harnstoffes muß dieses vorher auf einen etwaigen Gehalt an Ammoniak geprüft sein, da es ammoniakfrei schwer zu erhalten ist. Die Ausführung nach Salaskin und Zaleski ist wegen der im eingeschmolzenen Rohre vorzunehmenden Hydrolisierung des Harnstoffes umständlicher.

Bemerkt mag sein, daß H. D. Haskins die Verfahren 1 und 2 kombiniert hat.

D. Ausführung nach K. Spiro.[3])

Prinzip.

Hier wird die Bestimmung des Ammoniaks sehr zweckmäßig mit der des Harnstoffes verbunden.

25 ccm Harn werden in einen Äräometerzylinder mit $1^1/_2$ g Ätzbaryt und mit einer niedrigen Schicht Petroleum (auch Toluol oder Alkohol) versetzt; das vorhandene präformierte Ammoniak wird durch einen Luftstrom in die vorgelegte Säure geleitet (Seite 67). Der von Ammoniak befreite Harn wird mit der Alkoholäthermischung auf 400 ccm verdünnt; nach dem Umschütteln wird filtriert, ein Teil des Filtrates (etwa 80 ccm) wird bei niederer Temperatur eingedunstet und der Rückstand nach einem der angegebenen Verfahren zur Zerlegung des Harnstoffes weiter behandelt.

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1899. **28.** 73.
[2]) Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes; 11. Aufl. Wiesbaden 1910.
[3]) Beiträge chem. Physiol. u. Patholog. 1907. **9.** 481; Chem. Centralbl. 1907. **78.** II. 947.

3. Das Verfahren nach O. Folin.[1])

Prinzip.

Zur Zerlegung des Harnstoffes wird Salzsäure und krystallisiertes Magnesiumchlorid ($MgCl_2 + 6H_2O$) verwendet, das bei 112—115° schmilzt und bei 150—160° siedet; bei dieser Temperatur findet die Hydrolyse des Harnstoffes in kurzer Zeit statt, während andererseits Kreatinin und Hippursäure eine wesentliche Zersetzung nicht erfahren. Das entstandene Ammoniak wird in bekannter Weise abdestilliert.

Ausführung der Bestimmung.

3 ccm Harn werden mit 20 g krystallisiertem Magnesiumchlorid und 2 ccm konzentrierter Salzsäure in einem mit einem sog. doppelten Sicherheitsrohr (Rückflußrohr mit 3 Kugeln) versehenen Erlenmeyerkolben zum Kochen erhitzt und etwa $^3/_4$—1 Stunde im Sieden erhalten. Das gebogene Sicherheitsrohr hat 3 Kugeln, deren oberste natürlich mit einer Öffnung versehen ist und dient dazu, daß die Salzsäure nicht entweicht, sondern sich in den Kugeln wieder verdichtet, sammelt und zurückfließt. Wenn die Flüssigkeit stark schäumt, gibt man ein kleines Stückchen Paraffin in den Kolben; zu beachten ist, daß während des ruhigen Siedens Salzsäure im Überschusse vorhanden ist. (Man kann etwas Lackmus oder Alizarinrot in den Kolben bringen.) Nach erfolgtem Aufschließen des Harnstoffes wird die warme Schmelze mit Wasser aufgenommen, die Lösung in einen Destillierkolben gebracht, mit 7 ccm 20%iger Natronlauge versetzt und wie mehrmals angegeben destilliert. Die Destillation ist auch hier erst nach 1 Stunde als beendet anzusehen. Folin läßt etwa 350 ccm abdestillieren, um die letzte Spur Ammoniak auszutreiben. Das Destillat wird zur Entfernung der Kohlensäure aufgekocht, erkalten gelassen und die im Überschusse zugesetzte $^1/_{10}$n-Säure zurücktitriert. Das präformiert im Harne vorhandene Ammoniak wird in einer besonderen Harnmenge bestimmt und dieser Wert vom gefundenen in Abzug gebracht.

Beurteilung.

Die Methode liefert ebenfalls gute Ergebnisse; nicht zu vergessen ist, daß das im Magnesiumchlorid enthaltene Ammoniak, das vorher bestimmt wird, in Abzug zu bringen ist.

4. Die Bestimmung des Harnstoffes mit Urease.

Die von Takeuchi in der Sojabohne entdeckte Urease verwandelt, wie schon S. 177 erwähnt, Harnstoff unter Wasseraufnahme in Ammoniumcarbonat. E. K. Marshall[2]) hat die Eigenschaft der Urease für eine Bestimmung und zwar für eine einfache klinische von Harnstoff im Harne benutzt und empfohlen. Er gab folgende Ausführung an:

5 ccm Harn verdünnt man mit Wasser auf 100—125 ccm, fügt 2 ccm Sojabohnenextrakt hinzu und einige Tropfen Toluol, läßt über Nacht stehen und titriert das gebildete Ammoniumcarbonat mit $^n/_{10}$ Salzsäure, Methylorange als Indikator. Eine zweite Harnprobe (ebenfalls 5 ccm) behandelt man in gleicher Weise, nur daß man dieser Probe keine Enzymlösung zusetzt; das Ergebnis der zweiten Titration zieht man von dem ersten ab.

Mit diesem Verfahren beschäftigen sich eine ganze Reihe von Arbeiten; von diesen zahlreichen vorgeschlagenen Verbesserungen ist auch nach J. Bangs (a. a. O.) Ansicht die von D. van Slyke und Gl. E. Cullen[3]) angegebene Ausführung in vielen Beziehungen die beste für den klinischen Gebrauch. Marshall hat das Verfahren in der erwähnten Ausführung aufgegeben, da bei der von ihm geübten und angegebenen Arbeitsweise der Farbenumschlag nicht in der wünschenswerten Schärfe eintrat.

---

[1]) l. c.
[2]) Journ. of Biol. Chem. 1913 **14.** 28; **15.** 495.
[3]) Journ. of Biol. Chem. 1914. **19.** 211; Deutsch. med. Wochenschr. 1914 **40.** 1219.

Ausführung des Verfahrens.

1 ccm Harn wird genau abgemessen und in einen Zylinder, ähnlich wie ein Aräometerzylinder, von etwa 26—30 cm Höhe und 4—5 cm innerem Durchmesser gebracht; hiezu setzt man 10 ccm einer 6 %igen Kaliumphosphatlösung (KH_2PO_4), 2 ccm 10 %iger Ureaselösung und zur Verhinderung des Schäumens einige ccm flüssiges Paraffin oder noch besser 2 Tropfen Kaprylalkohol. Diesen Zylinder verschließt man mit einem doppelt durchbohrten Stopfen, in dessen einer Bohrung sich ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr befindet; der längere Schenkel muß in die im Zylinder befindliche Flüssigkeit bis fast auf den Boden des Gefäßes eintauchen; das eintauchende Ende kann kugelförmig aufgeblasen und mit einer Reihe kleiner Löcher versehen sein (wie bei der Ammoniakbestimmung nach Folin, S. 68); in die andere Bohrung bringt man ebenfalls ein rechtwinklig gebogenes Rohr mit kürzeren gleichen Schenkeln, das zur Verbindung mit dem zweiten Zylinder dient. Dieser zweite Zylinder wird mit genau 10—15 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure und 15—20 ccm Wasser gefüllt und mit der gleichen Vorrichtung wie der erste Zylinder verschlossen; zur Vorsicht kann man noch einen dritten Zylinder, nochmals mit etwa 5 ccm $^n/_{10}$ Säure und 25 ccm Wasser gefüllt, anschließen, um die Gewißheit zu haben, daß alles Ammoniak absorbiert wird. Der letzte Zylinder wird mit der Saugpumpe in Verbindung gebracht, vor den ersten Zylinder, den Entwicklungszylinder, bringt man eine Gaswaschflasche mit konz. Schwefelsäure, um die durchzusaugende Luft von vorhandenem Ammoniak zu reinigen. Man verbindet alle Flaschen und Zylinder luftdicht, läßt 15 bis 20 Minuten bei etwa 20° stehen und saugt zuerst vorsichtig eine halbe Minute lang Luft durch, um das Ammoniak, das sich möglicherweise in der Luft über dem Harne befindet, in die Säure überzuführen. Nun bringt man in den Entwicklungszylinder zum Harne 8—10 g Soda und saugt während einer halben Stunde mit der Saugpumpe Luft durch den Apparat, damit alles Ammoniak übergeht. Die in den beiden Zylindern befindliche Säure wird nach Zusatz von Methylrot wie üblich titriert (Umschlag in kanariengelb). Vorgelegte ccm $^n/_{10}$ Säure — der bei der Titration verbrauchten ccm $^n/_{10}$ Lauge = die für Ammoniak verbrauchten ccm.

$$1 \text{ ccm } {}^n/_{10} \text{ Säure} = 0{,}0030 \text{ g Harnstoff.}$$

Zu bemerken ist, daß nach dem Verfahren Harnstoff und Ammoniak zusammen bestimmt werden; es muß deshalb stets noch in einer weiteren Harnprobe der schon vorher vorhandene Ammoniakgehalt bestimmt und in Abzug gebracht werden.

Aufmerksam machen möchte ich, daß man die Urease oder das Sojabohnenmehl auf die Wirksamkeit prüfen muß.

Zur Bereitung von Soja-Urease in fester Form findet sich bei J. Bang folgende Vorschrift angegeben:

100 g Sojamehl werden mit 500 ccm Wasser verrührt. Nach 2stündigem Stehen und öfterem Umschütteln in dieser Zeit trennt man den Bodensatz durch Zentrifugieren von der Lösung; aus dieser wird die Urease durch Zufügen von mindestens 10 Volumen Aceton ausgefällt und nach dem Absitzen abfiltriert. Man trennt den Niederschlag vom Filter, preßt ihn zwischen Filtrier

papier ab und trocknet im Exsiccator. 100 ccm Filtrat liefern etwa 2 g Ausbeute. Zum Gebrauche stellt man eine 10%ige Lösung her. Die Urease erhält man selbstverständlich auch bei Kahlbaum, Merck u. a.

Mit dem Ureaseverfahren beschäftigten sich folgende Arbeiten:

A. Hahn und J. Saphra, Deutsch. med. Wochenschr. 1914. **40.** 430. Verfahren ganz ähnlich wie das ursprünglich von Marshall angegebene; es werden 1 g Harn, 10 ccm Wasser, ein Stäubchen Urease, 5 Tropfen Toluol verwendet, 20 Stunden stehen gelassen; 1 Probe ohne Urease. — Béla v. Horváth und H. Kadlitz, Ebenda. 1916. **42.** 414. — J. S. White und J. G. Williams, Pharm. Journ. 1916. [4]. **42.** 323, lassen 25 ccm Harn mit 4—5 g Sojabohnenpulver über Nacht stehen mit etwas Xylol usw. — H. Westers, Pharm. Centralh. 1916. **57.** 423, nimmt 5 ccm Harn, 50 ccm Wasser und 25 ccm eines Glycerin-Wasserauszuges des Sojamehles usw. — C. P. Mom, Pharm. Weekbl. 1916. 72; Pharm. Centralh. 1917. **58.** 187. — J. B. Summier und A. Bodansky, Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 57. Nach der Zersetzung des Harnes (1 ccm) wird ein Eiweißfällungsmittel, mit Salzsäure versetzte Quecksilberkaliumjodidlösung zugefügt, zentrifugiert und ein abgemessener Teil der überstehenden Flüssigkeit neßlerisiert. — O. Folin und G. J. Youngburg, Journ. Biol. Chem. 1919. **38.** 111. — A. M. Roman, Journ. of Urol. 1921. **4.** 531. — W. Strohmann und S. Flintzer, Zentralbl. inn. Mediz. 1921. **42.** 545. — G. Luigi Malerba, Rif. med. 1921. **37.** 362; Chem. Centralbl. 1921. **92.** IV. 848. — E. L. Kennawey, Brit. Journ. of exp. Patholog. 1920. **1.** 135. — J. Carra, Bioch. e Therap. sperim. 1921. **8.** 225.

Beurteilung.

Das Ureaseverfahren ist brauchbar und empfiehlt sich besonders für klinische Untersuchungen.

5a. 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%igem Alkohol auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet; der Rückstand wird mehrmals mit wasserfreiem Alkohol unter Zerreiben des Rückstandes ausgezogen, die Lösungen werden 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 absetzen läßt. Die ätherische Lösung wird vorsichtig durch ein Filter abgegossen, die Krystalle werden im Kölbchen mit 60—80 ccm Äther in mehreren Anteilen nachgewaschen und die Waschflüssigkeiten auf dasselbe Filter gegeben. Nach dem Abdunsten des Äthers wird das Filter auf das Kjeldahlsche Kölbchen gesetzt, der im Filter befindliche oxalsaure Harnstoff mit Wasser gelöst, das Filter nachgewaschen und die Lösung nach Zusatz von Phenolphthalein als Indicator bis zur schwachen Rotfärbung titriert.

$$1 \text{ ccm } {}^1/_{10}\text{n-KOH} = 0{,}006 \text{ g Harnstoff.}$$

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

Beurteilung.

Während A. Jolles[2]) gute Resultate damit erhalten hat, findet H. Pollack[3]) die Methode nicht genau, da beim Eindampfen durch die sauren Phosphate etwas Harnstoff zersetzt wird und der oxalsaure Harnstoff in Ätheralkohol nicht ganz unlöslich ist; auch soll sich die Oxalsäure aus dem Niederschlage nicht ganz auswaschen lassen.

5b. Bestimmung als Dixanthylharnstoff nach R. Fosse.[4])

10 ccm des auf das zehnfache verdünnten Harnes, 35 ccm Eisessig werden mit 5 ccm einer 10%igen methylalkoholischen Lösung von Xanthydrol, Diphenopyrenol, und zwar in 5 gleichen Teilen, stets je 1 ccm, in Zwischenräumen von 10 Minuten versetzt. Nach Ablauf einer Stunde vom letzten Xanthydrolzusatz saugt man die Krystalle von Xanthylharnstoff über einer Siebscheibe auf einem gehärteten Filter ab, wäscht mit einigen ccm Äthylalkohol, trocknet Filter samt Niederschlag im Trockenschranke bei 100—105°, hebt die sich leicht ablösenden Krystalle vom Filter ab

---

[1]) Wien. klin. Rundschau. 1899. **13.** 371.
[2]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 137.
[3]) Archiv Physiol. 1901. **83.** 232; Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 140.
[4]) Compt. rend. 1914. **158.** 1076. 1588; **159.** 253; Journ. d. Pharm. Chem. 1917. 256.

und wägt. (Es wird ein silberner Trichter und eine konkav geformte Siebscheibe aus Silber zum Sammeln verwendet, was unnötig erscheint). Die erhaltenen Krystalle sind Dixanthylharnsoff:

$$O < (C_6H_4)_2 > CH \cdot NH \cdot CO$$
$$NH \cdot CH < (C_6H_4)_2 > O.$$

Bei der Bestimmung kleiner Harnstoffmengen für Verdünnungen über $1^0/_{00}$ (0,1 — 1 g Stickstoff im Liter) soll man eine der folgenden Arbeitsweisen wählen.

1. Die genau abgemessene Menge der Harnstofflösung verdünnt man mit dem doppelten Volumen Eisessig und setzt dreimal in Zwischenräumen von je 10 Minuten je $^1/_{20}$ Vol. einer $10^0/_0$-igen methylalkoholischen Xanthydrollösung zu; nach einer Stunde nach dem letzten Zusatz wird abfiltriert.

2. Man versetzt das Gemisch aus 1 Vol. Harnstofflösung und 2 Vol. Eisessig mit $^1/_{20}$ Vol. des Gesamtvolumens an $10^0/_0$iger methylalkoholischer Xanthydrollösung und filtriert nach 1 Stunde ab.

Beurteilung.

Nach J. Carra[1]) gäbe dieses Verfahren sehr genaue Werte; es ist nur etwas sehr umständlich. Genau und bequem wird das Ureaseverfahren bezeichnet, das Hypobromitverfahren genügt nicht für wissenschaftliche Zwecke.

6. Verfahren, die auf der Bestimmung des Stickstoffes beruhen.

Die Eigenschaft des Harnstoffes, mit einer alkalischen Lösung von unterbromigsaurem Salz bei gewöhnlicher Temperatur in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser zu zerfallen, wurde für die Bestimmung des Harnstoffstickstoffes verwendet, indem die Kohlensäure von dem im Überschusse vorhandenen Ätzkali gebunden, der freigewordene Stickstoff in geeigneten Apparaten (Azotometer, Ureometer) gemessen und daraus der Stickstoff berechnet wurde. Eine große Anzahl solcher Ureometer, die sämtlich auf diesem Prinzipe beruhen, ermöglicht das direkte Ablesen der Harnstoffmenge für 1 ccm verwendeten Harn oder dergl.

Der Erfolg hat aber gelehrt, daß das Verfahren nicht einwandfrei ist und für wissenschaftliche Zwecke nicht genügt, da es mit verschiedenen Fehlerquellen behaftet ist; so wird einerseits bei der Zersetzung des Harnstoffes nicht aller Stickstoff frei — statt 371,37 ccm (0° und 760 mm Hg) N nur 354, 33 ccm (Hüfner) —, andererseits geben wieder andere Harnbestandteile Stickstoff ab, auch entstehen Zwischenprodukte, wie Hydrazin (Schestakon). Das Verfahren ist verlassen worden. Für klinische Zwecke, zur Orientierung, für tägliche vergleichende Bestimmungen mag das Verfahren in einem der zahlreichen empfohlenen Apparate (Ureometer) in Anwendung kommen. Den Apparaten liegt meist eine Anweisung zur Ausführung der Bestimmung bei.

Die Verfahren von Knop-Hüfner[2]), von A. Jolles[3]), von A. Kowarsky[4]) u. a. beruhen auf der Stickstoffermittlung.

E. Kraft empfiehlt für die klinischen Zwecke die Verwendung des Ureometers von Gade.[5]) Einen brauchbaren Stickstoffbestimmungsapparat, den man sich selbst herstellen kann, beschreibt F. Mezger[6]).

Jedenfalls ist es angebracht, den Harn erst nach der Vorbehandlung mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure, wie es Jolles u. Kowarsky, auch Marie Krogh[7]) empfehlen, zu verwenden.

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 im Millonschen Reagens sowohl auf die Harnsäure, als auch auf eine Reihe von Purinbasen unter Bildung von Alloxan und Harnstoff einwirkt (A. Jolles).

F. Haesler ermittelt die bei der Reaktion mit Bromlauge entstehende Kohlensäure und berechnet daraus die Harnstoffmenge.

---

[1]) Bioch. e Terap. sperim. 1921. **8.** 225; Chem. Centralbl. 1922. 93. II. 468.

[2]) Zeitschr. physiol. Chem. 1877. **1.** 350.

[3]) Zeitschr. analyt. Chem. 1900. **39.** 143; siehe auch Chem. Ztg. 1913. **37.** 1200. Dem Apparate von Jolles-Goeckel, von Dr. H. Goeckel, Berlin NW. 6, Luisenstraße 21 zu beziehen, liegt Gebrauchsanweisung bei. Tabelle ist Seite 189 aufgenommen.

[4]) M. Klopstock und A. Kowarsky, Praktik. der klin., chem., mikr. u. bakt. Untersuchungsmethoden. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1920. Das benützte Ureometer ist von Ernst Leitz in Berlin zu beziehen.

[5]) Von P. Altmann, Berlin NW. hergestellt.

[6]) Pharm. Centralh. 1921. **62.** 719.

[7]) Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **84.** 379.

Tabelle zur Harnstoffbestimmung nach dem Verfahren von Jolles mit dem Azotometer von Jolles-Goeckel.

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

Wahl der Methode.

Handelt es sich um eine genaue Bestimmung des Gesamtstickstoffes, dann ist die Kjeldahlsche Methode in Anwendung zu ziehen. Für klinische Zwecke kann die Formoltitrierung benützt werden. Bei der Bestimmung des Harnstoffes als solchen geben uns die Methoden 1, 2 (diese in den 4 verschiedenen Ausführungen), 3 und die unter 4 aufgeführten Verfahren der Bestimmung unter Verwendung von Urease brauchbare Ergebnisse. Die Methoden 1—3 sind, wie schon gesagt, als sehr genau zu bezeichnen; die Bestimmungen unter 4 sind leicht und rasch ausführbar. Die Stickstoff-(Harnstoff-)Bestimmung mit den Ureometer, Azotometer benannten, in den verschiedenartigsten Formen hergestellten Apparaten kann für klinische Zwecke, zur Orientierung, für täglich vorzunehmende Vergleichsbestimmungen benützt werden; man arbeitet sich am besten mit einem Apparate ein, dessen größere oder geringere Genauigkeit man mit einer 1%igen Harnstofflösung feststellt.

Verfahren zu einem annähernden Überblick der Stickstoffverteilung im Harne.

Die genaue Verteilung des Stickstoffes auf die einzelnen stickstoffhaltigen Bestandteile kann nur durch eine gesonderte und einwandfreie Bestimmung

dieser ermittelt werden. Für viele orientierende Versuche genügt eine annähernde Übersicht, die nach den beiden im nachfolgenden aufgeführten Verfahren gewonnen werden kann; diese Übersicht kann in häufigen oder gewissen Fällen wertvolle Aufschlüsse bei verschiedenen Krankheiten geben und uns über die Produkte der Eiweißzersetzung im Organismus unterrichten.

1. Von M. Pfaundler[1]) angegebenes Verfahren.

Das Prinzip und die Ausführung der Methode.

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

1. Ermittelung 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 (= etwa 24,5%) + 800 ccm destilliertes Wasser) gefällt. Nach 24stündigem Stehen der Proben in ammoniakfreier Atmosphäre wird durch ein aschearmes, stickstofffreies Filter in einen Erlenmeyerkolben klar filtriert, der Niederschlag mit Hilfe des Filtrates quantitativ übergespült und zwei- bis dreimal mit der zur Fällung verwendeten Lösung gewaschen. Hiebei darf sich das Filtrat nicht mehr trüben. Filter mit Niederschlag wird hierauf gleichfalls in einen Erlenmeyerkolben gebracht und gleich dem Filtrate mit etwa 10 g krystallisierter 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. 181 ausgeführt, verfahren und fand ein 6—7stünd. Erhitzen genügend; M. Krüger und J. Schmid erhitzten zur Zersetzung des Harnstoffes [Hydrolisierung] 3—4 Stunden mit dem halben Volumen konz. H_2SO_4 auf 160—180°, diese Temperatur halte ich für etwas zu hoch.)

   Nach spontaner Abkühlung der beiden Proben werden sie mit heißem Wasser in einen Rundkolben aus Hartglas von etwa 1 Liter Inhalt (Schottenkolben) gespült, mit stickstofffreier Natronlauge zunächst vorsichtig annähernd neutralisiert und mit einem großen Überschusse von geglühter Magnesia bis zur deutlichen alkalischen Reaktion versetzt; das Ammoniak wird in eine mit entsprechender Menge $^1/_{10}$n-Säure (50—75 ccm) beschickte Vorlage wie beim Kjeldahlschen Verfahren abdestilliert. Die Zersetzung mit Phosphorsäure kann auch 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 Vorlage mit Säure abdestilliert, wobei in der Regel noch einige Kubikzentimeter $^1/_{10}$n-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 zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt.

   Die Anwesenheit von viel Phosphorsäure und Phosphorwolframsäure macht die Kjeldahlsche Bestimmung insofern unangenehm, als sich an den Kolbenwandungen feste Teile ansetzen, die ein Springen der Kolben veranlassen können; man muß größere Mengen Zersetzungssäure nehmen. Man kann diese Bestimmung aber umgehen. Hat man nämlich in einer zweiten Probe des Harnes — 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. Z. B.:

Gesamtstickstoff im Filtrate	138,516 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure und Magnesiabehandlung leicht abspaltbar f_1	130,578 „
Festgebundener Stickstoff f_2 = ...	7,938

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1900. **30.** 75.

Gesamtstickstoff des Filterrückstandes	25,592 mg
Stickstoff durch Phosphorsäure und Magnesiabehandlung 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, allerdings nur in zwei Fällen, mit eigenem normalem Harne Untersuchungen vorgenommen und fand die Angaben Pf. bestätigt.

Der Gesamtstickstoff des eiweiß- und albumosefreien Harnes 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 Carbaminsäure, des Rhodans und ein Teil des Stickstoffes der Harnsäure, der Purinbasen, des Kreatinins, des Harnmucoides, der Eiweißkörper, auch des sog. Nucleoalbumins des normalen Harnes.

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

Stickstoffrest jener bei 1. angeführten Substanzen, die, wie Harnsäure, nur einen Teil des Stickstoffes festgebunden enthalten, ferner der Stickstoff der Diamine, der Diaminosäuren 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 oder Filtrat), d. h. der gesamte Stickstoff des Harnstoffes, des Allantoins, der Oxalursäure, gegebenenfalls ein Teil des Kreatininstickstoffes.

Hier erscheint auch etwas mehr als die Hälfte des Oxyproteinsäurenstickstoffes, 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 oder Filtrat), der Aminosäuren und ihrer Derivate, also des Glykokolls (Hippursäure), der Taurin- und Cystinabkömmlinge, Leucin, Tyrosin und Cystin im pathologischen Harne.

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.

2. Ein ganz ähnliches Verfahren zur Bestimmung des Aminosäurenstickstoffes geben M. Krüger und J. Schmid[1]) an; es beruht auf den schon von Pfaundler angegebenen Voraussetzungen.

Es werden 30 ccm Harn mit 3 ccm 10%iger Salzsäure und der, wie S. 181 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 oder einer solchen Menge, die 5 ccm Harn entspricht, wird

a) der Gesamtstickstoff (Harnstoffstickstoff + Aminosäurenstickstoff) nach Kjeldahl und

b) der Harnstoffstickstoff allein durch Erhitzen mit dem halben Volumen konz. Schwefelsäure während 3—4 Stunden (die Zeit des Anwärmens nicht eingerechnet) auf 160—180° und Destillation nach dem Übersättigen[2]) mit Natronlauge (für 5 ccm konz. Schwefelsäure genügen 20—22 ccm 33%iger Natronlauge) bestimmt. Differenz zwischen a) und b) gibt den Aminosäurenstickstoff.

---

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

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

Ein drittes Verfahren geben E. Freund und R. Fellerer[1]) an; sie bedienen sich hiebei des Sublimates.

Beurteilung.

Ganz eindeutig ist nach W. Wiechowski[2]) die Aufteilung nicht, da wohl die Trennung durch Phosphorwolframsäure annähernd vollständig ist, viele der stickstoffhaltigen Harnbestandteile jedoch einen Teil ihres Stickstoffes fest, einen anderen dagegen locker gebunden enthalten.

Ein größerer Überschuß an Phosphorwolframsäure soll wegen der Löslichkeit des Niederschlages in dieser vermieden werden. Der Harn ist zu verdünnen, so daß der Harnstoffgehalt etwa 2% beträgt, um einer Fällung von Harnstoff und von Aminosäuren in konzentrierter Lösung vorzubeugen. Zuckerhaltigen Harn muß man nach Schöndorff[3]) bis auf etwa 1% Zuckergehalt verdünnen und die Phosphorwolframsäure durch viel Ätzkalk entfernen.

Kolloidaler Stickstoff.

Nach v. Jaksch weiß man, daß durchschnittlich 97% des durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffes und 87,5% des Gesamtstickstoffes aus Harnstickstoff, und 6,8% des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes aus Purinkörpern und Ammoniakstickstoff und 2,56% des Gesamtstickstoffes aus Aminosäurenstickstoff bestehen. Unter dem Reste von stickstoffhaltigen Substanzen befindet sich das stickstoffhaltige Harnkolloid.

Zum Nachweis des kolloidalen Stickstoffes hat zuerst E. Salkowski ein Verfahren angegeben, weiter haben darüber H. Pribram und J. Loewy, Eliacheff, Sasaki, Savarè und Ebbecke, Gross und Reh, K. Kojo, G. Dumitrescu, M. P. Semenow Versuche angestellt. Letzterer, H. Pribram und J. Loewy, P. L. J. de Bloeme, S. P. Swart und A. J. L. Terwen besprechen seine Bedeutung für die klinische Carcinomdiagnostik.

Salkowski[4]) fand, daß im Harne Carcinomkranker der Stickstoff der alkoholunlöslichen oder kolloidalen Substanzen im Verhältnis zur Menge des im normalen Harne vorhandenen kolloidalen Stickstoffes vermehrt ist, daß die Menge des kolloidalen Stickstoffs im normalen Harne etwa 3—4% des Gesamtstickstoffes beträgt, während im Harne an Carcinom Erkrankter diese Menge 7—8% ausmachte. Er gab zur Bestimmung des kolloidalen Stickstoffes folgendes Verfahren an: Von frischem, eiweißfreiem, sauer reagierendem Harn — sonst Zusatz einiger Tropfen Essigsäure — werden 100 ccm auf dem Wasserbade auf etwa 10 ccm eingedampft; hat der Harn ein höheres spezifisches Gewicht als 1,15, so nimmt man nur 50 ccm. Nach dem Erkalten bringt man 100 ccm absoluten Alkohol zu dem eingedampften Harne; der Inhalt der Schale muß aber noch flüssig, nicht krystallinisch erstarrt sein, da sonst der Harnstoff nicht völlig entfernt werden kann; den Alkohol gibt man allmählich unter beständigem Umrühren hinzu. Man läßt eine Stunde stehen, filtriert auf einem kleinen Filterchen ab, wäscht mit absolutem Alkohol — besonders den Filterrand berücksichtigen — bis zur vollständigen Entfernung des Harnstoffes (ohne Unterbrechung des Auswaschens) — Kontrolle, 10 ccm des Waschalkohols dampft man ein, löst in etwas Wasser und setzt frisch bereitete, klare Bromlauge (einige ccm Brom in etwa 20 ccm Natronlauge von 1,340 und Zugabe der mehrfachen Menge Wassers) hinzu; es darf sich keine Entwicklung von Gasbläschen (Stickstoff) bemerkbar machen, sonst ist noch Harnstoff vorhanden und man muß weiter auswaschen — und löst den Filterrückstand in wenig lauwarmem Wasser vollständig unter gründlichem Nachwaschen des Filters. In der Lösung nimmt man die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in bekannter Weise vor. Der gefundene Stickstoff, von Salkowski kolloidaler Stickstoff (KN) benannt, wird auch als Proteinsäurestickstoff angesehen. Das Verfahren muß sehr genau vorgenommen werden, es liefert auch leicht zu hohe Werte.

K. Kojo[5]), Gross und Reh[6]) haben Verfahren angegeben, wobei zuerst die Phosphate durch eine alkalische Chlorbariumlösung (1 Teil 10%iger Bariumchloridlösung und 2 Teile kaltgesättigtes Barytwasser) vollständig ausgefällt werden; das genau neutralisierte Filtrat wird mit Bleiessig behandelt, solange ein Niederschlag entsteht (30—35 ccm); in dem gut ausgewaschenen Niederschlage — das Waschwasser darf mit Mercurinitrat keine Harnstofffällung mehr geben — wird der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Kojo empfahl noch ein sog. Zinkverfahren; hier werden 100 ccm Harn vorsichtig genau mit Kalkmilch schwach alkalisch gemacht und mit Chlorkalziumlösung ausgefällt; der Niederschlag wird abfiltriert, gut ausgewaschen, das Filtrat mit Essigsäure versetzt in einer Menge, daß noch schwach alkalische Reaktion vorherrscht, und dieses mit wässeriger 10%iger Zinksulfat- oder

---

[1]) Zeitschr. physiol. Chem. 1902. **36.** 401.

[2]) In Analyse des Harnes in Neubauer-Hupperts Lehrbuch. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910. I.

[3]) Archiv Physiol. 1907. **117.** 375.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1910. **47.** Nr. 38. Separatabdr.

[5]) Zeitschr. physiol. Chem. 1911. **73.** 416.

[6]) Med. Klinik. 1911. **7.** 778.

Zinkchloridlösung gefällt (etwa 30 ccm sind nötig). Der abfiltrierte und ausgewaschene Niederschlag dient zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Kojo gibt noch ein direktes Verfahren an, bei dem der mit Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzte Harn direkt, ohne vorherige Entfernung der Phosphate, mit Zinkchlorid oder Zinksulfat gefällt und in der ausgewaschenen Fällung der Stickstoff ermittelt wird.

Das Auswaschen nimmt man am besten mit verdünnter Zinksulfat- oder Zinkchloridlösung vor.

Nach Kojo erhielten die durch Zinksalz, durch Bleiessig erhaltenen Niederschläge beim Kranken weit mehr Stickstoff, als beim Gesunden.

Pribram und Loewy[1]) geben auf Grund der von ihnen gemachten Erfahrungen an, daß die Kolloidvermehrung nicht kennzeichnend ist für das Vorhandensein eines malignen Tumors, geändert ist die Ausscheidung bei Sekretionsstörungen der Verdauungsorgane, wohl mit der Störung im Abbau des Nahrungseiweißes zusammenhängend; Erkrankungen der Leber und der Nieren können oft zur Kolloidvermehrung führen; die bei akuten, fieberhaften Erkrankungen beobachtete vermehrte Kolloidausscheidung ist wohl in einem erhöhten toxischen Eiweißzerfall bedingt, leicht erhöhte Werte fanden sich bei Erkrankungen, die auf Störungen der inneren Sekretion (Morb. Basedowii) beruhen; in ziemlich erhöhtem Maße vermehrt findet sich das stickstoffhaltige Harnkolloid vor bei Diabetes insipidus, in enormem Maße vermehrt bei Diabetes mellitus.

P. L. J. de Bloeme und Mitarbeiter fanden bei Carcinomen keine erhöhten Werte.

11. Baumstarks Körper. $C_3H_8N_2O$ oder $\begin{array}{l} CH_2 . NH_2 \\ | \\ CH_2 . CO . NH_2 \end{array}$.

Als ein Harnstoff, in dem CO durch $CO—C_2H_4$ ersetzt ist, oder als das Diamid der Fleischmilchsäure könnte der von F. Baumstark[2]) isolierte stickstoffhaltige Körper aufgefaßt werden.

Dieser wurde im ikterischen und auch im normalen Harne gefunden.

Darstellung.

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

Den zurückbleibenden Sirup versetzt man mit Ammoniak im Überschusse und mit basisch-essigsaurem Blei, filtriert die Flüssigkeit vom Bleiniederschlage ab, entfernt das Blei im Filtrate durch Schwefelwasserstoff und dampft die vom Schwefelblei abfiltrierte Lösung ein. Neben Harnstoff bleiben Krystalle ausgeschieden, die in Alkohol unlöslich sind; diese werden durch Alkohol vom Harnstoff getrennt und aus heißem Wasser umkrystallisiert.

Eigenschaften.

Baumstarks Körper krystallisiert in weißen Säulen, über 250° schmelzend; er ist leicht löslich in heißem, schwer in kaltem Wasser und in Alkohol. In absolutem Alkohol und Äther ist er unlöslich. Mit Säuren bildet er leicht lösliche Salze, auch wird er durch Quecksilbernitrat, wie der Harnstoff, gefällt. Mit salpetriger Säure behandelt, entsteht aus ihm eine Milchsäure.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1912. **69.** 239.

[2]) Berl. Bericht. 1874. **6.** 883. 1378; Annal. Chem. 1874. **173.** 342.