

Eine Bestimmungsmethode für Harnsäure und Beobachtungen an Harnsäurelösungen

von

Ignaz Kreidl.

Aus dem chemischen Laboratorium des Prof. A. Lieben an der
k. k. Universität in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 2. März 1893.)

Das ursprüngliche Thema vorliegender Arbeit war, die Löslichkeit der Harnsäure und ihrer Salze in Wasser festzustellen. Ich verwendete hierzu eine Harnsäure, welche aus der käuflichen durch Lösen in concentrirter H_2SO_4 und Ausfällen mit Wasser gereinigt wurde. Die Verbrennung ergab folgendes Resultat:

	Gefunden	Berechnet für $C_5H_4N_4O_3$
C.....	35·63 ⁰ / ₀	35·71 ⁰ / ₀
H.....	2·40	2·38

Die sauren Salze wurden nach der von Bensch und Allan (A. 65, 181) angegebenen Methode dargestellt.

Da es bei derartigen Löslichkeitsbestimmungen sehr wünschenswerth erscheint, eine möglichst einfache Bestimmung des in Lösung befindlichen Körpers vornehmen zu können und die Titration der Harnsäure mit $KMnO_4$ zu keinen genügenden Resultaten führte, so versuchte ich eine neue Methode in Anwendung zu bringen. Ehe ich auf die Beschreibung derselben eingehe, möchte ich noch kurz erwähnen, dass Harnsäure mit Nessler'schem Reagens einen dem Gewichte der Säure proportionalen Niederschlag gibt. Titrationsversuche, mit diesem Reagens ausgeführt, konnten jedoch keine befriedigenden Resultate ergeben, da der Endpunkt der Operation schwer

erkennbar ist, selbst wenn man die Tropfenprobe mit Ammoniak vornimmt.

Die von mir ausgeführten Harnsäurebestimmungen wurden mit Jod vorgenommen; doch bin ich dabei von dem von Huppert (Arch. für Heilkunde, 5, 1864) beschriebenen Verfahren wesentlich abgewichen und in folgender Weise vorgegangen:

Es wird eine $\frac{1}{30}$ Normal-Jodlösung in Jodkalium und eine dieser Lösung entsprechende $\frac{1}{30}$ Normal-Thiosulfatlösung hergestellt. Nun lässt man, nachdem man zu der zu titirenden Harnsäurelösung einen mässigen Überschuss von KOH (ich verwendete immer Normallösungen) hinzugefügt hat, einen ziemlich bedeutenden Überschuss von Jodlösung aus der Gay Lussac-Bürette zufließen. Dass genug Jod vorhanden ist, erkennt man an der schwachen Gelbfärbung der Lösung. Nun lässt man $\frac{3}{4}$ Stunde stehen, setzt dann HCl zu, und zwar mehr als der früher zugefügten Kalilauge entsprechen würde. Das zur Veränderung der Harnsäure nicht verwendete Jod scheidet sich nun aus und wird auf die gewöhnliche Art unter Zusatz von Stärke (lösliche) mit Thiosulfat zurücktitirt.

Man kann auf diese Art die kleinsten Mengen von Harnsäure bestimmen und ist, wie durch zahlreiche Versuche bestätigt wurde, ganz unabhängig von dem Grade der Verdünnung der Harnsäurelösung. Wie bei den späteren Versuchen über die Zersetzung der Harnsäure in N- oder CO₂-Atmosphäre festgestellt wurde, ist es angezeigt, vor der Titration die angeführten Gase wieder durch Luft zu verdrängen, da die Resultate bei Anwesenheit von N, CO₂ und O etwas verändert ausfallen.

Auffallend ist bei oben beschriebener Methode nur folgender Umstand: Lässt man nach Zusatz von KOH und Jodlösung keine $\frac{3}{4}$ Stunde stehen, sondern titirt, nachdem mit HCl versetzt wurde, sofort, so findet man die zur Veränderung der Harnsäure nothwendige Jodmenge bedeutend grösser, eine Erscheinung, die auf ein eigenthümliches Verhalten des Harnsäuremoleküls hinweist.

Bei sofortiger Titration consumirt 1 Molekül C₅H₄N₄O₃ 3·5 Atome Jod.

Nach $\frac{3}{4}$ Stunden consumirt 1 Molekül C₅H₄N₄O₃ 2·3 Atome Jod.

Selbstverständlich lassen sich auch die Salze der Harnsäure auf die angegebene Art bestimmen. Folgende Beispiele mögen die Genauigkeit der Methode darthun. Die benützten Titerflüssigkeiten hatten folgenden Gehalt:

1 cm^3 Jodlösung enthält 0·00418 g Jod
 1 cm^3 Jodlösung entspricht 0·00237 g Harnsäure.

Harnsäure wurde gewogen **0·0357 g**; hierauf zugesetzt 50 cm^3 H_2O , 5 cm^3 KOH, 22·95 cm^3 Jodlösung und nach $\frac{3}{4}$ Stunden 7 cm^3 HCl. Zum Zurücktitriren wurden verbraucht 7·4 cm^3 Thiosulfat, entsprechend 7·7 cm^3 Jodlösung. Es wurden also 15·25 cm^3 Jodlösung für die Harnsäure verbraucht, deren Menge sich berechnet:

$$15\cdot25 \times 0\cdot00237 = 0\cdot0361 \text{ g.}$$

Harnsäure gewogen	Verbrauchte Jodlösung	Harnsäure gefunden
0·0651 g	27·25 cm^3	0·0645 g
0·0175 g	7·43 cm^3	0·0176 g
0·098 g	41·2 cm^3	0·0976 g
Saures Harnsaureres Kalium gewogen		Saures Harnsaureres Kalium gefunden
0·0922 g	31·64 cm^3	0·0919 g
0·0595 g	20·55 cm^3	0·0594 g

Harnsäure gewogen 0·0349 g; hinzugegeben:

20 cm^3 H_2O verbraucht	15·00 cm^3 Jodlösung
40 cm^3 »	» 14·95 cm^3 »
80 cm^3 »	» 15·05 cm^3 »
150 cm^3 »	» 14·88 cm^3 »
500 cm^3 »	» 15·00 cm^3 »
1000 cm^3 »	» 14·9 cm^3 »

Nachdem auf diese Art die Möglichkeit der Anwendung dieser Methode erprobt wurde, schritt ich an die Ausführung der Löslichkeitsbestimmungen. Diese ergaben jedoch keine übereinstimmenden Resultate, und zwar nicht nur in den Fällen, bei denen ich für dieselbe Temperatur theils die

Erwärmungs-, theils die Abkühlungsmethode in Anwendung brachte, sondern auch dann, wo unter ganz gleichen Umständen gearbeitet wurde. Für die erstgenannten Abweichungen geben Blarez und Deniges in ihren Löslichkeitsbestimmungen (Compt. rend., 104, 1847—1849) als Ursache die Bildung von Hydraten an. In Folge der anderen Nichtübereinstimmung drängte sich die Vermuthung auf, dass Harnsäurelösungen an der Luft irgend welche Veränderungen erleiden. 1000 cm^3 einer Harnsäurelösung wurden vier Tage lang stehen gelassen. Der Jodverbrauch der anfangs $6 \cdot 18 \text{ cm}^3$ pro 500 cm^3 betrug, fiel nach dieser Zeit auf 0 cm^3 . Weiters wurde durch eine derartige Lösung Luft durchgeleitet und von Zeit zu Zeit ein Theil mit Jod titirt.

500 cm^3 Lösung sogleich bestimmt	verbrauchten	7·61 cm^3 Jodlösung
500 cm^3 »	nach 4½ Stunden6·52 cm^3 »
500 cm^3 »	» 22 »6·43 cm^3 »
500 cm^3 »	» 69 »0·75 cm^3 »
500 cm^3 »	» 107 »0·74 cm^3 »

Derselbe Versuch mit einer Lösung des Kaliumsalzes ergab, dass auch diese Veränderungen erleide, die jedoch langsamer vor sich gehen.

250 cm^3 sofort titirt	14·08 cm^3 Jodlösung
250 cm^3 nach 22 Stunden	13·91 cm^3 »
250 cm^3 » 53 »	12·61 cm^3 »
250 cm^3 » 6½ Tagen	4·93 cm^3 »
250 cm^3 » 7½ »	4·30 cm^3 »
250 cm^3 » 12 »	0·96 cm^3 »

Da ich nun vermuthete, dass hier ebenso wie bei der Oxalsäure die allmähliche Zersetzung durch die in der Luft befindlichen Keime bewirkt werde, weil am Ende der obgenannten Versuche ein schimmelartiger Niederschlag in der Lösung vorhanden war, so stellte ich in dieser Richtung Versuche an, die in der That die Annahme bestätigen.

6 l Wasser wurden am Rückflusskühler ausgekocht, nach Erkalten der Flüssigkeit sterilisirte Harnsäure eingetragen, wobei die eindringende Luft durch vorgelegte Baumwolle keimfrei erhalten wurde. Während der ganzen Versuchsdauer wurde sterilisirte Luft durchgesaugt.

500 cm^3 ergaben Verbrauch an Jodlösung:

sofort titirt	5·61 cm^3
nach 20 Stunden	5·65 cm^3
» 4 $\frac{1}{2}$ Tagen	5·62 cm^3
» 12 »	5·68 cm^3
» 20 $\frac{1}{2}$ »	5·71 cm^3 .

Auch alle weiteren Versuche bestätigten die Annahme, dass Harnsäure in steriler Atmosphäre unverändert erhalten werden kann. Es scheint jedoch, dass die Zersetzung der Harnsäure durch Keime der Luft je nach der Jahreszeit sehr verschieden ist. Im Winter (obgenannte Versuche wurden im Sommer durchgeführt) zeigten Harnsäurelösungen, trotzdem nicht sterilisirte Luft durchgeleitet wurde, keine Veränderungen. Nur war es auffallend, dass bei den mit diesen Lösungen ausgeführten Titrationen, nachdem die erste Entfärbung der Jodstärke in Übereinstimmung mit der angewandten Harnsäuremenge eingetreten war, ein stetes Nachbläuen erfolgte, was bei den sonstigen Bestimmungen nicht beobachtet wurde.

Nun untersuchte ich das Verhalten von Harnsäurelösungen bei ungefähr 100° C. Dass bei höherer Temperatur Zerfallsproducte entstehen, wurde bereits nachgewiesen (Magnier, Bl. 23, 483). Arbeitet man bei gänzlichem Ausschluss von Luft, in N- oder CO₂-Atmosphäre, so kann selbst bei tagelangem Erhitzen keine Veränderung der Harnsäure wahrgenommen werden.

Bei Einwirkung von Luft ergaben sich Widersprüche in den Resultaten, welche aufzuklären mir bis jetzt noch nicht gelungen ist. Nur folgender Umstand konnte constatirt werden: Kocht man eine Harnsäurelösung lange Zeit in Glasgefäßen, so findet man, dass der Jodverbrauch der Säure abnimmt. Um diese Beobachtungen zu bestätigen, fügte ich einer Harnsäurelösung eine mittelst Glaswolle bereitete Glaslösung zu und erhitze bei Luftzutritt. Eine Hälfte der Lösung wurde vor Zusatz der Glaslösung titirt und ergab 0·0122 g Harnsäure, nach 14 Stunden Erhitzen mit Glas gab die andere Hälfte nur mehr 0·005 g.

Harnsaurer Kalium kann in heisser Lösung nicht unzersetzt gehalten werden. Wie mehrere Versuche gezeigt, auch

solche in N-Atmosphäre, bleibt der Jodverbrauch zwar anfänglich constant, beginnt jedoch nach Verlauf von 12 Stunden zu fallen.

Harnsaurer Kalium gewogen 0·0555 g
 Im N-Strom nach 12 Stunden gefunden . . . 0·047 g

Versuche mit KOH.

Bei der Einwirkung von KOH auf Harnsäurelösungen in der Kälte stellte es sich heraus, dass ein ganz geringer Überschuss von Alkali genüge, um eine Zersetzung in der Lösung herbeizuführen, welche doch weit langsamer vor sich geht, wie wenn man einen bedeutenden Überschuss von Alkali verwendet.

Versuch mit KOH im Überschuss. 1000 cm^3 H_2O enthalten 0·2894 g Harnsäure. Dazu 50 cm^3 KOH (1 cm^3 KOH = 0·0496 g KOH), 100 cm^3 titritt:

Nach 24 Stunden 8·00 cm^3 Jodlösung¹ (= 0·018 g Harnsäure statt 0·0276 g)

» 48	»	4·77 cm^3	»
» 96	»	2·90 cm^3	»
» 144	»	2·35 cm^3	»
» 8 Tagen		2·00 cm^3	»
» 10	»	1·82 cm^3	»

Die Lösung blieb während der ganzen Zeit alkalisch. Setzt man hingegen zu einer Lösung von Harnsäure nur etwas mehr Alkali zu, als zur Neutralisation der Säure notwendig, so verschwindet nach kurzer Zeit die Alkalität, ohne dass der Jodverbrauch sich im wesentlichen ändert; setzt man nun abermals eine geringe Menge von Alkali zu, so fällt der Jodverbrauch so lange, bis die Flüssigkeit abermals neutral geworden, um dann wieder constant zu bleiben. Das Verhalten in steriler Atmosphäre ist dasselbe. Weit rascher geht jedoch die Veränderung vor sich, wenn die Einwirkung von Alkali in der Wärme unter gleichzeitigem Durchleiten von Luft vorgenommen wird. Nach Verlauf von 14 Stunden ist der Jod-

¹ Die Jodlösung, die hier und in den folgenden Versuchen verwendet wurde, hat nicht mehr den oben angegebenen Titer.

verbrauch bei einer Harnsäuremenge von $28\cdot5\text{ mg}$ (3 cm^3 Normal-KOH) auf Null gefallen. Eine dieser Behandlung ausgesetzte Lösung gibt abgedampft keine Murexidreaction. Arbeitet man bei Abschluss von Luft in Stickstoff-Atmosphäre, so tritt ebenfalls Abnahme des Jodverbrauches ein.

Harnsäure gewogen $0\cdot0635\text{ g}$ (13 cm^3 KOH normal)
Nach 24 Stunden gefunden . . . $0\cdot0511\text{ g}$.

Ein ganz ähnliches Verhalten zeigt die Harnsäure auch bei Zusatz von Na_2CO_3 . $2\text{ l H}_2\text{O}$, enthaltend $0\cdot1004\text{ g}$ Harnsäure, wurden nach Zusatz der doppelten der zur Neutralisation der Säure nothwendigen Menge Soda erhitzt. 500 cm^3 der Lösung ergaben nach 12 Stunden einen Jodverbrauch von $3\cdot97\text{ cm}^3$ anstatt der berechneten Menge von $11\cdot6$.

Zum Schlusse wünsche ich Herrn Prof. Lieben meinen besten Dank auszusprechen für die freundliche Unterstützung, die er mir im Laufe dieser Arbeit durch Rath und That zu Theil werden liess.
