

Beiträge zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure, mit besonderer Berücksichtigung der Harnsäurebestimmung im Harne

von

Dr. Adolf Jolles,

Docent am k. k. Technologischen Gewerbemuseum in Wien.

Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. Max und Dr. Adolf Jolles in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 15. Februar 1900.)

Die wegen ihrer Einfachheit vielfach angewendete Methode von Heintz, welche auf der Ausfällung der Harnsäure mit Salzsäure beruhte, hat heute wohl nur noch ein historisches Interesse, nachdem wir wissen, dass diese Methode ganz unzuverlässige Resultate liefert und bei geringen Harnsäurequantitäten überhaupt nicht anwendbar erscheint.¹ Auch die maÑanalytischen Methoden von J. B. Haycraft² und F. Czapek,³ welche im wesentlichen auf der Fällung ammoniakalisch gemachten Harnes mit Silberlösung beruhen (nur mit dem Unterschiede, dass Haycraft das Silber in dem Niederschlage nach Volhard bestimmt, während Czapek den in Lösung verbliebenen Rest einer zum Fällen der Harnsäure verwendeten bekannten Silbermenge titrimetrisch bestimmt), sind zur Bestimmung der Harnsäure im Harne nicht geeignet, nachdem wir heute wissen, dass durch die ammoniakalische Silberlösung außer der Harnsäure auch die sogenannten Xanthinkörper

¹ E. Salkowski, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XIV, S. 31.

² Die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harne, Zeitschr. für phys. Chemie, Bd. 25, 1886.

³ Eine Methode zur maÑanalytischen Bestimmung der Harnsäure im Harne, von F. Czapek, Zeitschr. für phys. Chemie, Bd. XII, S. 502.

gefällt werden. Hingegen hat sich die ursprünglich von Salkowski in Vorschlag gebrachte¹ und später von E. Ludwig erfolgreich modifizierte Methode² — welche im wesentlichen auf der Isolierung der Harnsäure als Silber-Magnesiumsalz, Zersetzung des Niederschlages mit Schwefelnatrium, Abfiltrierung der ausgeschiedenen Harnsäure durch Glaswolle, Trocknen und Wägen beruht — als eine exacte und verlässliche Methode bewährt. Wer jedoch Gelegenheit hatte, die Harnsäure im Harne nach der Salkowski-Ludwig'schen Methode wiederholt zu bestimmen, wird sicherlich mit mir darin übereinstimmen, dass diese Methode für die Zwecke der Praxis zu umständlich und zeitraubend ist.

Einfacher in der Ausführung ist das Verfahren von Hopkins, nach welchem die Harnsäure aus dem gefälltten Ammonurat durch Salzsäure in Freiheit gesetzt und diese entweder gewogen oder ihre Menge durch Titrieren mit Permanganat ermittelt wird. Von dieser Methode hat Hopkins³ später eine Abkürzung vorgeschlagen, welche darin besteht, dass man den Ammonuratniederschlag mit Ammonsulfatlösung bis zur Chlorfreiheit auswäscht, hierauf den Niederschlag in heißem Wasser und einigen Tropfen Sodalösung löst und auf 100 cm^3 auffüllt. Nach Zusatz von 20 cm^3 concentrirter Schwefelsäure wird auf 60° C. erwärmt und mit $\frac{n}{20}$ Permanganatlösung titriert, bis die Rosafärbung in einigen Secunden verschwindet. Jeder Cubikcentimeter dieser Lösung entspricht 3·75 mg Harnsäure. Dem Endresultate ist 1 mg Harnsäure für je 15 cm^3 der gemessenen Mutterlauge hinzuzufügen.

Diese titrimetrische Bestimmung der Harnsäure gibt nach den von mir durchgeführten Controlanalysen bei reinen Harnsäurelösungen sehr befriedigende Resultate. Anders gestalten sich die Verhältnisse bei Bestimmung der Harnsäure in Harnen, wo ich die Harnsäure durch Titration nach Hopkins und durch Wägen der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig bestimmt habe. Ich erhielt in der Regel nach Hopkins etwas

¹ Virchows Archiv, 52, 58, 1871; Pflügers Archiv, 5, 210, 1872.

² Wiener med. Jahrbücher, 1884, S. 597; Zeitschr. für analyt. Chemie, 24, 637, 1885.

³ The Journal of Pathologie and Bacteriologie, June, 1893, p. 458.

höhere Resultate; was aber besonders bei der Hopkins'schen Methode auffällt, ist die Thatsache, dass bei zahlreichen, namentlich pathologischen Harnproben das Ende der Reaction absolut nicht sicher zu erkennen war, und in solchen Fällen übersieht man sehr leicht den Endpunkt und titriert über. Auch nach G. v. Ritter¹ erscheint die Titrierung des Ammonurats nach Hopkins unsicher, und überdies gibt Ritter als Coefficienten zur Berechnung der Harnsäure aus der Permanganatmenge nicht 3·75, sondern 3·61 mg Harnsäure an. Eine beachtenswerte Modification erfuhr die Hopkins'sche Methode durch O. Folin.² Derselbe constatirte zunächst die Richtigkeit des von Hopkins vorgeschlagenen Coefficienten von 3·75 mg Harnsäure auf 1 cm³ 1/20-Normalpermanganatlösung und bestätigte auch die völlige Unlöslichkeit des Ammonurates in einer gesättigten Chlorammonlösung. Jedoch fand Folin, dass durch die Hopkins'sche Correctur ein Fehler eingeführt wird, da die Löslichkeit der Harnsäure in salzsäurehaltigem Wasser größer ist; die Correctur beträgt nicht 1 mg Harnsäure auf 15 cm³ Mutterlauge, sondern 3 mg für Mutterlauge und Waschwasser. Die weiteren Versuche Folin's ergaben, dass die Harnsäure im Harne auch vollkommen durch Ammoncarbonat, Ammonsulfat oder Ammonacetat gefällt werden kann, wodurch der störende Einfluss der Chloride bei der Titration mit Permanganat außer Betracht kommt, und das Auswaschen des Niederschlages mit Ammonsulfat schneller erfolgt. Folin empfiehlt im wesentlichen folgende Methode für die Harnsäurebestimmung: Zusatz von Ammonacetat (Carbonat oder Sulfat) bis zu 10 g für 100 cm³ Harn, zweistündiges Stehen und Waschen des Urates mit zehnprocentiger Ammonsulfatlösung bis zur Chlorfreiheit. Hierauf wird der Niederschlag mit heißem Wasser vom Filter gespült und nach Zusatz von 15 cm³ concentrirter Schwefelsäure (1·84) mit 1/20-normaler Permanganatlösung titriert, unter Zufügung einer Correctur von 1 mg zum Endresultate. Ein Mitfällen der Xanthinbasen — mit Ausnahme des Guanins — erscheint nach Folin ausgeschlossen, da die Fällung bei Gegenwart von

¹ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XXI, S. 288.

² Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XXIV, S. 224 bis 225.

Ammoniak geschieht, in welchem die Basen ziemlich leicht löslich sind. Ich habe auch nach dieser Methode eine Reihe von quantitativen Harnsäurebestimmungen durchgeführt, und zwar sowohl mit reinen Harnsäurelösungen, als auch mit der aus verschiedenen normalen und pathologischen Harnen abgetrennten Harnsäure und bin hierbei zu dem Ergebnisse gelangt, dass auch die Hopkins-Folin'sche Methode in vielen pathologischen Fällen im Vergleiche zu der Ludwig-Salkowski'schen Methode etwas zu hohe Resultate liefert. Die Ursache dieser Differenz ist darauf zurückzuführen, dass einerseits der Endpunkt der Titration in mannigfachen Fällen schwierig zu erkennen ist, so dass ein Mehrzusatz von $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ cm^3 einer $\frac{n}{20}$ -Permanganatlösung leicht erfolgen kann, andererseits ist es nicht ausgeschlossen, dass bei der Abscheidung der Harnsäure im Harne mit essigsauerm Ammon zuweilen auch geringe Mengen anderer Harnsubstanzen mitgefällt werden, welche mit Permanganat oxydierbar sind. Aus meinen zahlreichen vergleichenden Harnsäurebestimmungen, die ich nach dieser und der Ludwig-Salkowski'schen Methode ausgeführt und deren Ergebnisse ich an anderer Stelle dieser Arbeit angeführt habe, geht mit Sicherheit hervor, dass zwar die Hopkins-Folin'sche Methode bei reinen Harnsäurelösungen und bei verdünnten normalen Harnproben sehr befriedigende Resultate liefert, dass jedoch in vielen — namentlich pathologischen — Fällen die Resultate im Vergleiche zu der Ludwig-Salkowski'schen Methode zu hoch ausfallen, so dass diese Methode nicht in allen Fällen jene Verlässlichkeit bietet, die wir von einer exacten Methode verlangen müssen.

Wenn wir berücksichtigen, dass die Einwirkung der Permanganatlösung auf Harnsäure nach der Hopkins- und Folin'schen Methode keineswegs einer einfachen Oxydationsgleichung zwischen diesen beiden Körpern entspricht, sondern dass dieses Verhältnis nur auf empirischem Wege ermittelt wurde, so lag die Frage nahe, ob nicht durch Änderung der Oxydationsbedingungen aus der Harnsäure Substanzen resultieren können, die den Process im chemischen Sinne besser verfolgen und die Methode auf einer verlässlicheren Basis aufbauen lassen können. Zur Entscheidung dieser Frage habe ich

die Einwirkung von Oxydationsmitteln auf Harnsäure einem eingehenden Studium unterworfen, und es ist mir in der That gelungen, eine neue Methode ausfindig zu machen, welche die Bestimmung der Harnsäure im Harne in einfacher, exacter und verlässlicher Weise gestattet.

Bevor ich jedoch auf diese Methode des näheren eingehe, gestatte ich mir zunächst, die Ergebnisse meiner systematisch durchgeführten Oxydationsversuche bekannt zu geben, da dieselben geeignet erscheinen, einerseits eine Reihe von Angaben, die sich in der Literatur vorfinden, richtig zu stellen, anderseits einen Beitrag zur Kenntnis der Harnsäure zu liefern.

Experimenteller Theil.

I. Quantitative Bestimmung der Harnsäure in reinen Harnsäurelösungen und in diversen Harnproben nach der Hopkins-Folin'schen Methode.

a) Versuche mit reiner Harnsäure.

Zu den nachfolgenden Versuchen benützte ich eine Harnsäure, die durch Umkrystallisieren rein erhalten worden war. Die Harnsäure wurde durch Wasser abgeschieden, säurefrei gewaschen, dann mit Alkohol und Äther nachgewaschen und bei 120° C. getrocknet. Von der so erhaltenen Säure wurde nun eine Lösung von bekanntem Gehalte hergestellt, indem 4 g Harnsäure unter Zusatz von etwas chemisch reiner Natronlauge gelöst und die Lösung mit destilliertem Wasser auf einen Liter aufgefüllt wurde.

Titer der verwendeten Permanganatlösung:

1 cm^3 $KMnO_4$ = 0·0027238 g Eisen = 3·648 mg Harnsäure.

(Nach Folin ist 1 cm^3 $\frac{n}{20}$ $KMnO_4$ = 0·0028 g Eisen = 3·75 mg Harnsäure.)

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, dass abgemessene Mengen der alkalischen Harnsäurelösung mit 50 cm^3 Wasser verdünnt, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert, dann nach Zusatz von 15 cm^3 concentrirter Schwefelsäure (spec. Gew. 1·84) mit der Permanganatlösung vorschriftsmäßig solange titriert wurden, bis ein Tropfen der

Permanganatlösung in der Lösung eine deutliche Rothfärbung hervorrief. Der Endpunkt der Reaction ließ sich deutlich erkennen. Bei jedem Versuche wurden zwei Titrations ausgeführt und aus den Resultaten das Mittel gezogen. Die Resultate waren folgende:

Laufende Nummer	Angewandt, Harnsäure in Milligramm	Gefunden, Harnsäure in Milligramm
1	50	50·016
2	50	50·122
3	50	50·016
4	75	75·048
5	75	75·060
6	75	75·126
7	100	100·028
8	100	100·101
9	100	100·247
10	100	100·035

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass Harnsäure in reinen Harnsäurelösungen durch Titration mit Permanganat vollkommen quantitativ bestimmt werden kann.

b) Versuche mit normalen und pathologischen Harnproben.

In der nachstehenden Tabelle sind eine Reihe von Harnsäurebestimmungen angeführt, die ich nach der Ludwig-Salkowski'schen Methode und nach der Folin'schen Methode in verschiedenen Harnproben ausgeführt habe. Die Bestimmung der Harnsäure nach Folin geschah wie folgt:

100 *cm*³ Harn wurden mit 10 g essigsauerm Ammon versetzt und dann Ammoniak tropfenweise unter Umrühren so lange hinzugefügt, bis der Harn einen schwach ammoniakalischen Geruch zeigte. Nach dreistündigem Stehen wurde filtriert, der Niederschlag mit einer gesättigten Lösung von kohlen-sauerm Ammon chlorfrei gewaschen — was in der Regel nach

sechs- bis achtmaligem Waschen erreicht war —, dann der Niederschlag mit etwa auf 80° C. erwärmtem destillierten Wasser vom Filter in ein Becherglas gespült, mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert, mit 15 cm³ concentrirter Schwefelsäure vom specifischen Gewichte 1·845 versetzt und mit einer circa $\frac{1}{20}$ -Permanganatlösung titriert.

Titer der Permanganatlösung:

$$1 \text{ cm}^3 = 0\cdot0027239 \text{ g Eisen} = 3\cdot648 \text{ mg Harnsäure.}$$

Es wurde nun in 20 Harnen die Harnsäure je zweimal nach dem beschriebenen Folin'schen Verfahren und ebenso wieder paarweise nach Ludwig-Salkowski bestimmt, und in der nachstehenden Tabelle aus den Doppelbestimmungen das Mittel angeführt.

Es wurde pro Liter Harn Harnsäure in Gramm gefunden:

	Art der Harne	Harnsäure in Gramm nach Folin	Harnsäure in Gramm nach Ludwig-Salkowski	Differenz in Gramm	Differenz in Procenten
1	Normaler Harn	0·4458	0·4271	0·0187	4·19
2	Normaler Harn	0·4934	0·4732	0·0202	4·09
3	Normaler concentrirter Harn (spec. Gew. 1·0285)	0·6059	0·5730	0·0329	5·43
4	Normaler concentrirter Harn (spec. Gew. 1·029)	0·5392	0·5160	0·0232	4·30
5	Normaler Harn	0·5618	0·4840	0·0778	13·85
6	Normaler verdünnter Harn (spec. Gew. 1·016)	0·2783	0·2690	0·0093	3·34
7	Normaler verdünnter Harn (spec. Gew. 1·014)	0·2548	0·2472	0·0076	2·99
8	Normaler verdünnter Harn (spec. Gew. 1·0175)	0·3129	0·3059	0·0070	2·20
9	Normaler Harn	0·4378	0·4160	0·0218	4·98
10	Normaler concentrirter Harn (spec. Gew. 1·032)	0·7413	0·6858	0·0555	7·49
11	Fieberharn	0·7551	0·6720	0·0831	11·00
12	Fieberharn	0·6129	0·5783	0·0346	5·63

	Art der Harne	Harnsäure in Gramm nach Folin	Harnsäure in Gramm nach Ludwig-Salkowski	Differenz in Gramm	Differenz in Procenten
13	Fieberharn	0·8632	0·7828	0·0804	9·19
14	Eiweißharn	0·6275	0·5439	0·0836	13·32
15	Diabetikerharn	0·4359	0·3968	0·0391	8·97
16	Diabetikerharn	0·4454	0·3722	0·0732	16·43
17	Icterischer Harn	0·3502	0·3181	0·0321	9·17
18	Harn eines Thyphuskranken (Diazoreaction positiv, Spuren von Albumin und Nucleoalbumin)	0·6129	0·5780	0·0349	5·69
19	Harn eines Nephritikers	0·4870	0·4695	0·0175	3·59
20	Harn nach einem Gichtanfälle	0·7134	0·6394	0·0740	10·37

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kommen zwar in einzelnen Fällen die Resultate nach Folin den Ergebnissen nach Ludwig-Salkowski ziemlich nahe, in der Mehrzahl der Fälle jedoch fallen die Resultate nach Folin stets höher aus als die nach Ludwig-Salkowski, und zwar ist die Differenz um so größer, je concentrirter der Harn ist. Wenn wir berücksichtigen, dass der Verlust, welchen man bei der Ludwig-Salkowski'schen Methode hat, nach Ludwigs eigener Angabe nur 2% beträgt, so kann das relativ erhebliche Plus an Harnsäure, welches nach der Folin'schen Methode namentlich in concentrirten und pathologischen Harnen gegenüber der Ludwig-Salkowski'schen Methode resultiert, wohl nur darauf zurückgeführt werden, dass entweder der Folin'sche Harnsäuretiter für die aus den Harnen abgeschiedene Harnsäure etwas zu hoch ist, oder dass durch den Zusatz des essigsauren Ammons auch geringe Mengen anderer organischer Substanzen mitfallen, die durch Permanganat ebenfalls oxydiert werden.

Nach Folin's Untersuchungen kommen bei der Harnsäurefällung von den Xanthinbasen weder Xanthin und Hypoxanthin, noch Guanin in Betracht. Nach meinen Versuchen, auf die ich an anderer Stelle noch zurückkommen werde, dürften

die Xanthinbasen überhaupt nicht das Plus an Permanganat bedingen. Welche Harnsubstanzen den störenden Factor bei der titrimetrischen Harnsäurebestimmung im Harne nach Folin bilden, ist vorläufig nicht bekannt, jedenfalls aber steht die Thatsache fest, dass die Folin'sche Methode in Harnen in der Regel etwas zu hohe Resultate liefert.

Der Umstand nun, dass die aus dem Harne abgeschiedene Harnsäure nach erfolgter Oxydation mit Permanganat bis zur Rothfärbung noch weiter oxydationsfähig erscheint, indem die Rothfärbung in manchen Fällen nach einigen Minuten, häufig aber auch schon nach einer halben Minute verschwindet, welche Erscheinung beim Erwärmen sofort eintritt, hat mich veranlasst, die Oxydation in weitergehendem und stärkerem Maße durchzuführen, zu dem Zwecke, um festzustellen, ob sich nicht das Endoxydationsproduct für die quantitative Harnsäurebestimmung geeigneter erweisen würde.

Um nun bei diesen Versuchen nicht mit zu großen Flüssigkeitsmengen arbeiten zu müssen, wurden die weiteren Oxydationsversuche nicht mit $\frac{1}{20}$ -Permanganatlösung, sondern mit einer Permanganatlösung, die im Liter 8 g KMnO_4 enthielt, also mit einer circa $\frac{1}{4}$ -Permanganatlösung durchgeführt. Die Oxydationsversuche erstreckten sich aber nicht allein auf das Permanganat, sondern es wurden bei diesen Versuchen auch andere Oxydationsmittel, wie Chromsäure, Wasserstoffsuperoxyd, Millon'sches Reagens herangezogen. Bei der jeweiligen Einwirkung von Permanganat, Kaliumbichromat, Wasserstoffsuperoxyd und Schwefelsäure auf Harnsäure resultierte in allen Fällen ein Körper, der mit Bromlage relativ viel Stickstoff entwickelte; auch nach Zusatz von Millon'schem Reagens zu dem Oxydationsproducte trat eine deutliche N-Entwicklung auf. Um nun die Stickstoffentwicklung quantitativ zu verfolgen, wurden eine Reihe von Versuchen mit Hilfe des Harnstoffapparates von Hüfner durchgeführt. Der Vorgang bei den diesbezüglichen Versuchen war folgender:

Oxydationsversuche mit Permanganat.

Eine alkalische Harnsäurelösung von bekanntem Gehalte an Harnsäure wurde mit Schwefelsäure angesäuert und mit

einem Überschusse an Permanganatlösung in der Kochhitze oxydiert. Die Oxydation wurde als beendet angesehen, sobald nach 10 bis 12 Minuten langem Kochen der letzte Permanganatzusatz verschwand, in welchem Falle die Flüssigkeit vollkommen klar, d. h. frei von unoxydierter Harnsäure erscheint. Zu den Versuchen diente eine vollkommen chemisch reine Harnsäure, deren N-Gehalt $33\cdot33\%$ N betrug.

Versuch 1. 50 cm^3 einer alkalischen Harnsäurelösung enthielten $0\cdot1494\text{ g}$ Harnsäure. Die verwendete Harnsäure, bezogen von einer hiesigen chemischen Fabrik, enthielt $33\cdot33\%$ N (Mittel von drei Analysen). Diese Lösung wurde in oben angegebener Weise oxydiert, dann auf 100 cm^3 aufgefüllt und die N-Bestimmung im Hüfner'schen Apparate durchgeführt. Der von mir benützte Hüfnersche Apparat fasste genau $7\cdot218\text{ cm}^3$; demzufolge entsprechen $7\cdot218\text{ cm}^3$ des Oxydationsproductes $0\cdot01078\text{ g}$ Harnsäure = $0\cdot003577\text{ g}$ N; gefunden wurden $3\cdot0\text{ cm}^3$ N bei 735 mm Barometerstand und 13° C .

Das N-Volumen — auf 0° und 760 mm Barometerstand reduciert — beträgt $2\cdot82\text{ cm}^3$ N, entsprechend $3\cdot4419\text{ mg}$ Stickstoff.

Vorausgesetzt, dass bei der in der beschriebenen Weise durchgeführten Oxydation der Harnsäure kein N-Verlust stattfindet, entsprechen $7\cdot218\text{ cm}^3$ der Oxydationsflüssigkeit $0\cdot01078\text{ g}$ ursprünglicher Harnsäure. Nun sind volumetrisch $3\cdot52793\text{ mg}$ N, oder auf N in der Harnsäure umgerechnet $32\cdot73\%$ N, statt $33\cdot33\%$ gefunden worden.

Versuch 2. Derselbe Versuch wiederholt ergab: $3\cdot1\text{ cm}^3$ N oder auf N in der Harnsäure umgerechnet:

$$33\cdot72\% \text{ N.}$$

Aus diesen Versuchen darf wohl der Schluss gezogen werden, dass thatsächlich der gesammte N der verwendeten Harnsäure wiedergefunden wird, denn das geringe Plus oder Minus an N, welches aus den bei den beiden Versuchen erhaltenen Zahlen ersichtlich ist, lässt sich wohl nur darauf zurückführen, dass erstens bei einem so kleinen Volumen ein geringer Fehler in der Ablesung einen — in Procenten ausgedrückt — relativ erhöhten Fehler bedingt, und dass zweitens

nach Einwirkung von Bromlauge auf das saure Oxydationsproduct ein flockiger Niederschlag von Manganoxydulhydrat ausfällt, der in das Endiometerrohr theilweise aufsteigt und die absolut correcte Ablesung verhindert.

Oxydationsversuche mit Kaliumbichromat.

Ich habe die Oxydationsversuche mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure in analoger Weise durchgeführt, wie die Versuche mit Permanganat, hierauf den N des Endoxydationsproductes mittels des Hüfner'schen Apparates bestimmt und lasse aus meinen diesbezüglichen Versuchen eine Beleganalyse folgen.

Versuch I. 50 cm^3 einer alkalischen Harnsäurelösung; entsprechend 0.1494 g Harnsäure, wurden mit Bichromat und Schwefelsäure oxydiert, das Oxydationsproduct auf 100 cm^3 aufgefüllt, und der N mit Bromlauge bestimmt.

Abgelesen wurden: 3.05 cm^3 N (bei Reduction des Barometerstandes auf 760 mm und 0° C.). Aus diesem Ergebnisse berechnet sich ein N-Gehalt von 33.23% N in der zur Oxydation verwendeten Harnsäure.

Somit gefunden 33.23% N

Vorhanden 33.33% N.

Wenngleich die Oxydationsversuche mit Bichromat und Schwefelsäure zu dem gleichen Ergebnisse führen, wie die analogen Versuche mit Permanganat, so habe ich doch die Versuche mit doppeltchromsaurem Kali nicht weiter fortgesetzt, weil der Endpunkt der Oxydation schwieriger zu erkennen ist als bei den Oxydationsversuchen mit Permanganat. Man muss bei Verwendung von Bichromat viel länger kochen und eine weit größere Menge an Oxydationsmitteln von vorneherein zusetzen, um sicher zu sein, dass die Oxydation der Harnsäure beendet ist, weil eben ein sicherer Indicator fehlt; um den Endverlauf des Processes so beurtheilen zu können wie bei der Verwendung von Permanganat.

Oxydationsversuche mit Wasserstoffsuroxyd.

Diese Versuche wurden aus dem Grunde nicht weiter in Betracht gezogen, weil nach der Oxydation mit H_2O_2 in saurer

Lösung der Überschuss an Wasserstoffsperoxyd ohnehin mit Permanganat hätte entfernt werden müssen, da sonst durch die Einwirkung von Bromlauge auf das in Überschuss vorhandene Wasserstoffsperoxyd eine Gasentwicklung auftreten würde, die die N-Bestimmung unbrauchbar gemacht hätte. Durch den Zusatz von Permanganat aber wäre es schwierig gewesen, zu beurtheilen, ob die vollständige Oxydation der Harnsäure nur auf Rechnung des Wasserstoffsperoxyds zu setzen ist, oder ob auch der nachträgliche Zusatz von Permanganat an der Oxydation der Harnsäure betheiligt sei.

Überdies gestattet auch das H_2O_2 nicht, den Endverlauf des Processes so zu beurtheilen, wie es bei Verwendung von Permanganat der Fall ist.

Oxydationsversuche mit Millon'schem Reagens.

Die analogen Versuche mit Millon'schem Reagens ergaben, dass nicht der gesammte N des Harnsäuremolecöls bei gewöhnlicher Temperatur entwickelt wird.

Fassen wir die Ergebnisse der durchgeführten Oxydationsversuche zusammen, so resultiert, dass die Oxydation der Harnsäure in saurer Lösung mit Permanganat sich für die vorliegenden Zwecke am günstigsten erwiesen hat, und wurden daher alle nachfolgenden Versuche, welche die volumetrische Bestimmung der Harnsäure zum Gegenstande haben, nur mit Permanganat durchgeführt.

Über den Verlauf der Reaction bei Einwirkung von Permanganat auf Harnsäure.

Bevor ich an die Ausarbeitung des Oxydationsverfahrens zur quantitativen volumetrischen Bestimmung der Harnsäure herangetreten bin, habe ich zunächst versucht, den Verlauf des Oxydationsprocesses festzustellen.

Zur Entscheidung der Frage, ob bei der Oxydation der Harnsäure mit Permanganat irgend welche N-Verbindungen entweichen, habe ich zunächst reine Harnsäurelösungen von bestimmtem N-Gehalte in der beschriebenen Weise mit Permanganat oxydiert und den N im Oxydationsproducte bestimmt. Ich erlaube mir, einen solchen Versuch anzuführen:

0·5076 g Harnsäure wurden mit Wasser aufgeschlämmt, mit 10 cm^3 concentrirter Schwefelsäure versetzt, hierauf mit concentrirter Permanganatlösung unter Erwärmen so lange oxydiert, bis der letzte Permanganatzusatz nach circa 10 Minuten langem Kochen verschwunden ist.

Hierauf wurde die Flüssigkeit etwas eingengt, mit einem Tropfen Quecksilber und 10 cm^3 concentrirter Schwefelsäure versetzt und nach circa zweistündigem Kochen der N-Gehalt nach Kjeldahl in bekannter Weise bestimmt.

In der oxydierten Harnsäure gefunden 33·22% N
Der N-Gehalt der reinen Harnsäure beträgt 33·33% N.

Hieraus geht also hervor, dass bei der Oxydation der Harnsäure mit Permanganat in saurer Lösung ein N-Verlust nicht erfolgt. In der Annahme, dass bei dem in Rede stehenden Oxydationsprocesse sich möglicherweise schwefelsaures Ammon bilden könne, zumal in der Literatur sich Angaben finden, welche diese Ansicht hervorrufen könnten, habe ich versucht, in dem Endoxydationsproducte etwa vorhandenes schwefelsaures Ammon durch Destillation mit Lauge quantitativ zu bestimmen. Die durchgeführten Versuche ergaben zwar, dass bei der Destillation des Endoxydationsproductes der Harnsäure mit Lauge sich thatsächlich etwas Ammoniak entwickelt, jedoch lange nicht in der Menge, als dem N-Gehalte der Harnsäure entsprechen würde. Ich lasse nachfolgend die Ergebnisse eines derartigen Versuches folgen:

50 cm^3 von einem Harnsäure-Oxydationsproducte, entsprechend 0·3314 g Harnsäure, wurden mit 50 cm^3 Lauge versetzt, destilliert, und das Destillat in titrierter Schwefelsäure aufgefangen. Die vorgelegten Cubikcentimeter Schwefelsäure entsprachen

9·31 cm^3 Lauge und

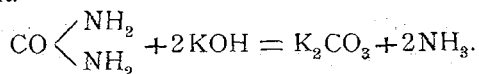
1 cm^3 Lauge = 0·025708 g KOH.

Zurücktitriert wurden 7·02 cm^3 Kalilauge
Bei einem zweiten Versuche 7·23 cm^3 »
» » dritten » 7·81 cm^3 »
» » vierten » 7·48 cm^3 »

Im Mittel: 7.37 cm^3 Kalilauge. Somit wurden 9.31 minus $7.37 = 1.94 \text{ cm}^3$ Kalilauge, respective die dieser Menge entsprechende Säuremenge zur Bindung des Ammoniaks verbraucht. Nun entsprechen: 1.94 cm^3 Kalilauge $= 0.04987 \text{ g KOH} = 0.01247 \text{ g N}$; diese Stickstoffmenge ist aber nur 3.74% der Harnsäure $= \text{circa } 11\%$ des Stickstoffs. Nachdem in der Harnsäure 33.33% N enthalten ist, so ist thatsächlich nur ein sehr kleiner Theil der Harnsäure, circa ein Neuntel des Stickstoffs, in Ammoniak übergeführt worden.

Erwähnenswert erscheint hierbei die Thatsache, dass man bei Einhaltung gleicher Bedingungen in Bezug auf Kochdauer und Zusatz von Lauge, respective Concentration der Lösung für ein und dieselbe Menge des Endoxydationsproductes der Harnsäure nahezu die gleichen N-Mengen im Destillate findet.

Die obigen Destillationsversuche wurden natürlich — da es sich für mich um die Bestimmung des Ammoniaks in dem vorhandenen schwefelsauren Ammoniak handelte — genau in der Weise durchgeführt, wie es bei der Kjeldahl'schen Methode üblich ist. Wurde jedoch der Rückstand neuerdings mit destilliertem Wasser verdünnt und gekocht, so entwickelte sich wiederum Ammoniak. Sobald der Inhalt des Kolbens eine für weiteres Kochen zu hohe Concentration erreicht hat, wurde abermals mit Wasser verdünnt und gekocht, wobei wiederum Ammoniakentwicklung auftrat. Diese Manipulation wurde nun so oft wiederholt, bis keine Spur von Ammoniak mehr wahrgenommen werden konnte, was für die in Verwendung genommene Harnsäuremenge, respective deren entsprechendes Oxydationsproduct nach circa 13- bis 14stündigem Kochen eingetreten ist. Alsdann konnte in dem Rückstande keine Spur von N mehr nachgewiesen werden. Die langsame und ziemlich gleichmäßige Abspaltung von Ammoniak bei den Destillationen lässt darauf schließen, dass das Ammoniak eben erst während der Destillation durch die Einwirkung der Lauge auf den Harnstoff entsteht.



Aus den angeführten Versuchen geht zunächst die Thatsache hervor, dass bei der Oxydation der Harnsäure in saurer

Lösung mit Permanganat von einer quantitativen Bildung von schwefelsaurem Ammon nicht die Rede sein könne, nachdem bei der üblichen Destillation nur 11.3% N des Harnsäure-N gefunden wurden. Des weiteren zeigen die Versuche, dass der N des Endoxydationsproductes der Harnsäure quantitativ in Ammoniak — bei Einhaltung bestimmter Bedingungen — übergeführt werden kann. Letztere Methode hat aber nur ein theoretisches Interesse, nachdem die zur vollständigen Überführung in Ammoniak erforderliche Zeit eine relativ sehr große ist, ganz abgesehen von der sonstigen Umständlichkeit des Verfahrens.

Die Thatsache, dass bei der Oxydation der Harnsäure in saurer Lösung mit Permanganat kein schwefelsaures Ammon entsteht, wurde auch dadurch erwiesen, dass zu dem unter Kühlung alkalisch gemachten und filtrierten Oxydationsproducte Nessler'sches Reagens hinzugefügt wurde. Hierbei entstand keine für Ammoniak charakteristische Färbung, respective Niederschlag, sondern es konnte nur das Auftreten eines hellgelben Niederschlages beobachtet werden, wie solcher nach Zusatz von Nessler'schem Reagens zu einer Harnstofflösung entsteht. Letztere Beobachtung steht zwar im Widerspruche mit den in der Literatur gemachten Angaben, dass Harnstoff in saurer Lösung durch Permanganat unter Bildung von Kohlensäure, Ammoniak und Stickstoff zersetzt wird;¹ einschlägige Versuche ergaben jedoch die Unrichtigkeit dieser Angaben, indem eine mit Schwefelsäure angesäuerte Harnstofflösung selbst beim Kochen durch Permanganat nicht oxydiert wird. Wurde ein Theil des Oxydationsproductes der Harnsäure mit zwei bis drei Tropfen Furfurol und etwas Salzsäure versetzt, so trat nach fünf bis zehn Minuten eine deutliche Violettfärbung auf, welche Reaction bei einer mit Schwefelsäure angesäuerten Harnstofflösung in gleicher Weise verläuft. Des weiteren wurde zur Feststellung der Identität des Endoxydationsproductes ein Theil desselben mit salzsaurem Phenylhydrazin versetzt, zwei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt und auskrystallisieren gelassen. Gleichzeitig wurde ein Parallelversuch mit einer

¹ Béachamp, Jahresb. für Chemie, 1856, 696.

Harnstofflösung von entsprechendem Gehalte an Harnstoff, schwefelsaurem Mangan und freier Schwefelsäure durchgeführt, indem diese Lösung nach Zusatz von Phenylhydrazin ebenfalls 2 Stunden am Wasserbade gekocht und erkalten gelassen wurde. Die ausgeschiedenen Krystalle zeigten in beiden Fällen die gleiche Krystallform wie Phenylsemicarbazid und ergaben einen Schmelzpunkt, der zwischen 172 bis 173° C. lag. Nunmehr wurde ein anderer Theil des Endoxydationsproductes mit dem gleichen Volumen 96procentigen Alkohols versetzt, nach zwei-stündigem Stehen von der Hauptmenge des abgeschiedenen schwefelsauren Manganoxyduls abfiltriert, die freie Schwefelsäure, sowie der Rest der vorhandenen Sulfate mit Chlorbaryum gefällt, abfiltriert, das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft, mit etwas concentrirter Salpetersäure versetzt, einige Minuten erwärmt und dann stehen gelassen. Nach mehrstündigem Stehen fielen Krystalle aus, die sich als identisch mit denen des salpetersauren Harnstoffes erwiesen.

Aus den obigen Versuchsergebnissen geht zweifellos hervor, dass das Endoxydationsproduct aus Harnstoff besteht, und war ich nunmehr bemüht, den quantitativen Verlauf des Processes festzustellen. Zu diesem Zwecke wurden genau abgewogene Harnsäuremengen in der bereits beschriebenen Weise oxydiert, nach beendeter Oxydation concentrirte Lauge portionenweise hinzugefügt, wobei man nach jedesmaligem Zusatze der Lauge das Gefäß behufs Abkühlung in ein Becherglas mit kaltem Wasser stellt. Zum Schlusse setzt man einen geringen Überschuss an Lauge hinzu, was mit Lackmuspapier leicht zu constatieren ist. In dem alkalischen Oxydationsproducte wurde nun der Harnstoff mit Bromlauge volumetrisch bestimmt. Da der Hüfner'sche Apparat aus den bereits angegebenen Gründen sich für die N-Bestimmungen im vorliegenden Falle nicht eignet, habe ich zu diesen Versuchen den Knop'schen Azotometer herangezogen. Einige Vorversuche mit diesem Apparate machten jedoch die Verwendung eines in mehreren Punkten modificirten Apparates nothwendig. Zunächst musste ein Schüttelgefäß von bedeutend größerem Volumen (circa 300 cm^3), ebenso ein größeres Gefäß zur Aufnahme der Bromlauge (circa 50 cm^3) verwendet werden. Des

weiteren habe ich auf den Hals des Schüttelgefäßes einen doppelt durchbohrten Stopfen derart anbringen lassen, dass der Stopfen etwa nur zur Hälfte in den Hals hineinragt; durch jede der beiden seitlich angebrachten Bohrungen geht ein Glasrohr, deren Enden entsprechend aufgebogen sind. Diese Einrichtung bezweckt, dass beim Schütteln keine Flüssigkeit in die Glasröhre, respective in den Verbindungsschlauch gelangt. Das obere Ende des einen Rohres ist mit einem kurzen Schlauche und gut schließendem Quetschhahne versehen, um den beim Schließen des Stoppels entstehenden Überdruck ausgleichen zu können; das andere Rohr ist mittels eines dichten Schlauches mit dem Maßrohre verbunden. Die beiden Maßröhren sind an einem Wandgestelle derart angebracht, dass sie behufs eventueller Reinigung herausgenommen, doch jederzeit in die ursprüngliche Lage genau zurückgebracht werden können. Zur genauen Ablesung sind beide Röhren in $\frac{5}{100} \text{ cm}^3$ getheilt, derart, dass je zwei entsprechende Theilstriche in einer Horizontallinie liegen; überdies ist der Hintergrund der Röhren matt geätzt. Ferner ist an dem Apparate ein Thermometer, sowie ein Aneroidbarometer für Ablesungen zwischen 730 bis 760 *mm* angebracht. Im übrigen ist die Arbeitsweise mit diesem Apparate¹ die gleiche, wie mit dem Knop-Wagner'schen Azotometer.

Quantitative Bestimmungen mit reiner Harnsäure.

Zu den vorliegenden Versuchen diente eine vollkommen chemisch reine Harnsäure, deren N-Gehalt $33 \cdot 33\%$ betrug.

Versuch I. 4·2978 *g* Harnsäure wurden in Wasser aufgeschlämmt, mit 60 *cm*³ Schwefelsäure (Dichte 1·4) angesäuert, hierauf mit einer concentrirten Permanganatlösung (8 *g* KMnO_4 pro Liter) oxydiert, und zwar derart, dass jedesmal circa 5 *cm*³ KMnO_4 -Lösung hinzugefügt wurden, bis der letzte Permanganatzusatz innerhalb viertelstündigem Kochen nicht mehr verschwand. Alsdann ist die Oxydation als beendet anzusehen, und man lässt hierauf einige Tropfen einer verdünnten Oxal säurelösung (circa $\frac{1}{10}$) unter Umrühren so lange zufließen, bis

¹ Der Apparat wird von dem optisch-mechanischen Institute von Karl Reichert in Wien hergestellt.

die Lösung entfärbt ist oder eventuell einen schwachen röthlichen Stich noch zeigt. Das Oxydationsproduct wurde hierauf in einen Literkolben gespült, dann portionenweise concentrirte N-freie Lauge hinzugefügt, nach jedesmaligem Zusatze von etwas Lauge gekühlt, zum Schlusse alkalisch gemacht und hierauf mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. Von dieser Lösung wurden verschiedene Quantitäten zur N-Bestimmung entnommen und überdies zur Controle zweimal in je 100 cm^3 der Harnstoff quantitativ als oxalsaurer Harnstoff nach der von Prof. Gottlieb («Über die qualitative Bestimmung des Harnstoffes in den Geweben etc.», Archiv für exp. Path. und Pharmakolog., XLII, 238) und später von Freund und Töpfer («Über eine neue Methode der Harnstoffbestimmung im Harne», Wiener klinische Rundschau, S. 371, 1899) vorgeschlagenen Methode bestimmt.

Zu den N-Bestimmungen wurden entnommen (bei 20° C. und 754 mm B.):

a)	20 cm^3	der Lösung	lieferten	$25\cdot2\text{ cm}^3\text{ N,}$
b)	25 cm^3	»	»	$31\cdot5\text{ cm}^3\text{ N,}$
c)	40 cm^3	»	»	$50\cdot8\text{ cm}^3\text{ N,}$
d)	20 cm^3	»	»	$25\cdot3\text{ cm}^3\text{ N,}$
e)	20 cm^3	»	»	$25\cdot2\text{ cm}^3\text{ N.}$

Aus obigen Bestimmungen berechnet sich für 20 cm^3 des Oxydationsproductes im Mittel $25\cdot2\text{ cm}^3$ bei 20° C. und 754 mm B.

Auf 0° und 760 mm B. reducirt, resultieren

$$22\cdot78\text{ cm}^3\text{ N} = 28\cdot49994\text{ mg N.}$$

($1\text{ cm}^3\text{ N}$ bei 0° C. und $760\text{ mm B.} = 1\cdot25104\text{ mg N.}$)

Nun enthalten 20 cm^3 des Oxydationsproductes $0\cdot085956\text{ g}$ Harnsäure, somit sind in $0\cdot085956\text{ g}$ Harnsäure gefunden worden: $0\cdot02849994\text{ g N}$, also in

$$100\text{ g Harnsäure} = 33\cdot15\text{ g N.}$$

Thatsächlich vorhanden sind $33\cdot33\%$ N, somit beträgt die Differenz $0\cdot18\%$, d. h. es wird thatsächlich nach dem beschriebenen Oxydationsverfahren der gesammte N wiedergefunden,

da die minimale Differenz nur auf einen geringen Ablesungsfehler zurückzuführen ist. Zu den Harnstoffbestimmungen wurden zweimal je 100 cm^3 des alkalisch gemachten Oxydationsproductes entnommen, und die quantitative Überführung des Harnstoffes in oxalsauren Harnstoff im wesentlichen wie folgt durchgeführt:

100 cm^3 wurden mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert, eingeengt, mit dem gleichen Volumen 95procentigen Alkohols versetzt, nach circa 12 Stunden die abgeschiedenen Salze filtriert, mit Alkohol harnstofffrei gewaschen (Prüfung mit Furfurol und HCl), der Alkohol auf dem Wasserbade abgedunstet, und der Rückstand mit einer gesättigten ätherischen Oxalsäurelösung versetzt. Nach 12 stündigem Stehen wurde filtriert, mit Äther oxalsäurefrei gewaschen und in dem Rückstande von oxalsaurem Harnstoff der N nach Kjeldahl bestimmt.

Gefunden	$0\cdot01434\text{ g N}$,
angewendet	$0\cdot4298\text{ g Harnsäure}$,
gefundener N in Procenten.....	$33\cdot35\%$,
berechnet N » »	$33\cdot33\%$.

Versuch II. $3\cdot2460\text{ g}$ Harnsäure wurden in gleicher Weise oxydiert, und das Oxydationsproduct auf 500 cm^3 aufgefüllt. Es ergaben (bei $18\cdot5^\circ\text{ C}$. und 744 mm B .):

$13\cdot4\text{ cm}^3$ der Lösung	$25\text{ cm}^3\text{ N}$,
$20\cdot1\text{ cm}^3$ » »	$37\cdot8\text{ cm}^3\text{ N}$,
$6\cdot7\text{ cm}^3$ » »	$12\cdot62\text{ cm}^3\text{ N}$,
$13\cdot4\text{ cm}^3$ » »	$25\cdot21\text{ cm}^3\text{ N}$,
$13\cdot4\text{ cm}^3$ » »	$25\cdot19\text{ cm}^3\text{ N}$.

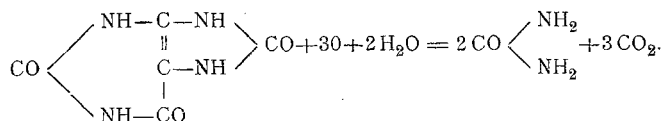
Im Mittel lieferten $13\cdot4\text{ cm}^3$ der Lösung $25\cdot208\text{ cm}^3\text{ N}$ bei $18\cdot5^\circ\text{ C}$. und 744 mm B . oder, auf 0° und 760 mm B . reducirt, $23\cdot144\text{ cm}^3\text{ N} = 28\cdot9541\text{ mg N}$. Nun enthalten $13\cdot4\text{ cm}^3$ der Lösung $0\cdot086992\text{ g}$ Harnsäure; es ergeben somit $0\cdot086992\text{ g}$ Harnsäure $0\cdot0289541\text{ mg N}$, d. i. $33\cdot28\%$ statt $33\cdot33\%$.

Nach diesen Versuchen ist es zweifellos, dass die Harnsäure bei der Oxydation mit Permanganat in der von mir angegebenen Weise quantitativ in Harnstoff übergeführt wird

und dieser auf volumetrischem Wege genau bestimmt werden kann.

Der hiebei stattfindende Oxydationsprocess besteht in einer gleichzeitigen Einlagerung von Wasser und einer oxydativen Zerstörung des Complexes der drei mittleren Kohlenstoffatome. Versucht man, sich den Verlauf nacheinander vorzustellen, so muss man zuerst die Bildung von Harnstoff und dem hypothetischen $\text{CO}=\text{C}(\text{OH})-\text{COOH}$ annehmen, welcher letzterer dann sogleich zu Kohlensäure weiter oxydiert wird.

Das Endergebnis der Oxydation lässt sich durch folgende Gleichung ausdrücken:



Bei der Einfachheit und Exactheit der Methode war es nun naheliegend, die Brauchbarkeit derselben für die Bestimmung der Harnsäure im Harne einer eingehenden Prüfung zu unterziehen.

Vorerst wurden eine Reihe von Versuchen angestellt, um festzustellen, welches Verfahren am geeignetsten sei, die Harnsäure aus dem Harne möglichst rein, also auch frei von Xanthinbasen zur Abscheidung zu bringen.

In erster Linie habe ich, gestützt auf die Angaben von Byasson¹ und Gellmuyden² versucht, die Harnsäure als Barytsalz zu fällen, um womöglich die Ausfällung der Harnsäure aus Harnen mit Ammonsalzen zu umgehen. Nach Gellmuyden erhält man mit reiner Harnsäure durch Füllen mit Chlorbaryum gute Resultate. Um mich hievon zu überzeugen, habe ich eine Reihe von Controlbestimmungen durchgeführt, und gestatte mir, nachstehend eine Beleganalyse anzuführen:

0.1287 g Harnsäure wurden in einem Überschusse von Lauge gelöst, hierauf die Harnsäure mit einem Überschusse von Chlorbaryum gefällt, nach vierstündigem Stehen filtriert,

¹ Byasson, Journal de pharm. et de chimie, 6, 20, 1882.

² Gellmuyden, Zeitschr. für analyt. Chemie, 31, 166, 1892.

mit verdünnter Chlorbaryumlösung so lange gewaschen, bis das Filtrat alkalifrei war. Hierauf wurde der Niederschlag in ein Becherglas gespritzt, mit concentrirter Schwefelsäure angesäuert und mit circa $\frac{1}{20}$ KMnO_4 -Lösung titriert. Es wurden $32 \cdot 95 \text{ cm}^3$ KMnO_4 -Lösung verbraucht.

Titer der Permanganatlösung:

$$1 \text{ cm}^3 = 3 \cdot 7225 \text{ mg Harnsäure.}$$

Es resultieren also nach dem Ergebnisse der Titration $0 \cdot 111266 \text{ g}$ Harnsäure, somit sind also $0 \cdot 01753 \text{ g}$ Harnsäure zu wenig gefunden worden. Thatsächlich reagiert auch das mit Schwefelsäure angesäuerte Filtrat noch auf Permanganat, was darauf zurückzuführen ist, dass entweder etwas Harnsäure in Lösung geht oder durch Chlorbaryum nicht vollkommen ausgefällt wird. Jedenfalls fällt das Chlorbaryum die Harnsäure selbst aus reinen Harnsäurelösungen nicht vollkommen quantitativ aus. Weit ungünstiger sind die einschlägigen Versuche bei der Bestimmung der Harnsäure im Harne, wie beispielsweise folgender Versuch zeigt:

100 cm^3 eines neutralisierten Harnes wurden mit 5 cm^3 zehnpromcentiger Chlorbaryumlösung versetzt, der Niederschlag filtriert, mit verdünnter Chlorbaryumlösung gewaschen, hierauf in ein Becherglas gespritzt, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Permanganatlösung oxydiert, und der Stickstoff in der angegebenen Weise volumetrisch bestimmt.

Es wurden nur $2 \text{ cm}^3 \text{ N}$ gefunden.

Von demselben Harne (je 100 cm^3) wurde die Harnsäure nach Folin bestimmt und überdies in einer zweiten Probe die Harnsäure nach Folin abgeschieden und der N volumetrisch bestimmt. Es resultierten folgende Zahlen:

Harnsäure nach Folin $0 \cdot 4934 \text{ g}$ pro Liter Harn.

Harnsäure volumetrisch $13 \cdot 6 \text{ cm}^3 \text{ N}$ bei 18° C. und 740 mm B. , entsprechend $0 \cdot 4643 \text{ g}$ Harnsäure pro Liter Harn.

Aus den Versuchen geht hervor, dass Chlorbaryum die Harnsäure aus Harnen nur in minimalen Mengen fällt, und thatsächlich konnte im Filtrate des Chlorbaryumniederschlages Harnsäure durch Zusatz von essigsauerm Ammon nach circa 24stündigem Stehen quantitativ bestimmt werden. Nun ist

zwar Gellmuyden bei der Fällung der Harnsäure in Harnen mit Chlorbaryum ebenfalls zu nicht ganz befriedigenden Ergebnissen gelangt, aber während ich nur Bruchtheile der Harnsäure wiederfinde, sind die Differenzen zwischen der gefundenen und thatsächlich vorhandenen Harnsäure geradezu als minimal gegenüber meinen Ergebnissen zu bezeichnen. Die Ursache dieser großen Differenzen dürfte darauf zurückzuführen sein, dass Gellmuyden den N in dem Chlorbaryumniederschlage bestimmt und hieraus die Harnsäure berechnet hat, während ich den nach erfolgter Oxydation des Chlorbaryumniederschlages resultierenden N volumetrisch bestimmt habe. Es ist nun zweifellos, dass Chlorbaryum außer Harnsäure noch andere N-hältige Substanzen fällt, welche Thatsache auch dadurch festgestellt erscheint, dass bei der Titration des ausgewaschenen Chlorbaryumniederschlages mit Permanganat weit mehr Permanganat verbraucht wird, als für die aus derselben Harnmenge mit essigsäurem Ammon nach Folin abgeschiedene Harnsäure. Wenn man nun erwägt, dass die volumetrische Bestimmung der Harnsäure im Chlorbaryumniederschlage nur sehr wenig Harnsäure ergibt, dass aus dem Filtrate des Chlorbaryumniederschlages die Harnsäure mit essigsäurem Ammon quantitativ ausfällt, dass ferner der Chlorbaryumniederschlag einen relativ hohen Oxydationswert zeigt und dass endlich Gellmuyden unvergleichlich mehr Stickstoff findet, als auf volumetrischem Wege resultiert, so liegt die Annahme nahe, dass durch den Zusatz von Chlorbaryum zu Harnen auch andere organische, insbesondere N-Substanzen ausfallen, die, zum Unterschiede von der Harnsäure, sich nicht durch Oxydation in Harnstoff überführen lassen.

Meine weiteren Versuche erstreckten sich auf die Abscheidung der Harnsäure mittelst Chlorammon und schwefelsäurem Ammon in verschiedenen Harnproben. Die Resultate waren jedoch nicht gleichmäßig befriedigende. Hingegen hat sich das von Folin in Vorschlag gebrachte essigsäure Ammon in jeder Hinsicht bewährt, da einerseits die in Harnen hauptsächlich in Betracht kommenden Xanthinbasen nicht gefällt, andererseits Eiweiß und Zucker die Fällung der Harnsäure gar nicht beeinflussen. Überdies ist nach dem Versetzen des Harnes

mit essigsauerm Ammon die Harnsäure in der Regel nach $2\frac{1}{2}$ stündigem Stehen vollkommen abgeschieden.

Ich gestatte mir nunmehr auf Grund zahlreicher vergleichender Versuche, die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in folgender Ausführung zu empfehlen:

Es werden — je nach der Concentration des Harnes — 50 bis 200 cm^3 Harn zur Bestimmung der Harnsäure verwendet. Die Methode gestattet auch schon in 50 cm^3 Harn, den Gehalt an Harnsäure genau quantitativ festzustellen, jedoch empfiehlt es sich, bei stark verdünnten Harnen 100 bis 200 cm^3 Harn für die Bestimmung zu verwenden. Der Harn soll klar sein, daher müssen Urate durch Erwärmen in Lösung gebracht, etwaige sonstige suspendierte Bestandtheile durch Filtration entfernt werden. Je nach der verwendeten Harnmenge setzt man 5 bis 20 g festes essigsaueres Ammon hinzu, rührt mit einem Glasstabe bei Zimmertemperatur so lange um, bis sich das essigsaure Ammon gelöst hat, was in der Regel in wenigen Minuten erfolgt. Hierauf fügt man zu dem Harn vorsichtig einige Tropfen Ammoniak hinzu, bis die Flüssigkeit einen schwachen Ammoniakgeruch zeigt. Ein größerer Ammoniakzusatz hat zwar auf die Fällung der Harnsäure keinen Einfluss, es empfiehlt sich aber ein Mehrzusatz von Ammoniak aus dem Grunde nicht, weil die ausgefällten Phosphate die Schnelligkeit der Filtration beeinträchtigen und das nachherige Auswaschen des Niederschlages umständlicher vorstatten geht.

Nunmehr lässt man den Inhalt des Becherglases $2\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden stehen, während welcher Zeit mit dem Glasrohre öfters umgerührt wird. Hierauf wird filtrirt, am besten durch ein Schleicher'sches Filter, und der Niederschlag mit einer gesättigten Lösung von kohlen-sauerm Ammon ausgewaschen. Vorerst muss aber auch das Becherglas mit kohlen-sauerm Ammon wiederholt ausgespült und diese Flüssigkeit durch das Filter gegossen werden, damit der gesammte Harnsäureniederschlag quantitativ auf das Filter gebracht werde. Um nun die letzten Spuren des Harnsäureniederschlages aus dem Becherglase zu entfernen, benützt man mit Vortheil einen Glasstab mit Gummikappe, mit dessen Hilfe die Wände des Becherglases mit der kohlen-saueren Ammonlösung abgespült werden.

Sobald der gesammte Niederschlag sich auf dem Filter befindet, wird derselbe mit kohlensaurem Ammon so lange ausgewaschen, bis eine mit Salpetersäure angesäuerte Probe des Filtrates auf Zusatz von Silbernitratlösung keine Chlorreaction zeigt, was in der Regel nach sechs- bis achtmaligem Auswaschen erreicht ist. Hierauf breitet man das Filter auf ein entsprechend großes Uhrglas aus, spritzt den Niederschlag mit warmem Wasser quantitativ in ein Becherglas, fügt alsdann behufs Entfernung des überschüssigen kohlen-sauren Ammons und des an der Harnsäure gebundenen Ammons circa $\frac{1}{10}$ g (bei Verwendung von 200 cm^3 Harn etwa $\frac{2}{10}$ g) chemisch reine (also N-freie) Magnesia hinzu, erhält das Ganze unter wiederholtem Umrühren etwa eine halbe bis dreiviertel Stunden im Kochen und überzeugt sich von der Abwesenheit des Ammoniaks, indem man etwas befeuchtetes rothes Lackmuspapier den Dämpfen aussetzt. Tritt keine Spur einer Blaufärbung ein, dann ist sämmtliches Ammoniak entwichen. Nunmehr wird der Inhalt des Becherglases mit 10 cm^3 reiner Schwefelsäure (1·4 Dichte) angesäuert und nach erfolgter Lösung des Magnesiumoxyds cubikcentimeterweise Permanganatlösung (etwa 8 g KMnO_4 pro Liter) unter andauerndem Erwärmen zugesetzt. Bei dieser Operation wird das Becherglas mit einem passenden Uhrglase bedeckt, um bei der eintretenden Kohlensäureentwicklung Verluste durch Spritzen zu vermeiden; der allmähliche Zusatz der Permanganatlösung während des Kochens erfolgt daher am besten so, dass man mittelst einer Pipette die Permanganatlösung längs der Wand des Becherglases hinzufließen lässt. Die ersten Cubikcentimeter Permanganat verschwinden in der Regel schnell, später tritt die Entfärbung langsamer ein; als beendet ist die Reaction anzusehen, wenn nach viertelstündigem anhaltenden Erwärmen, respective mäßigem Kochen der letzte Permanganatzusatz nicht mehr verschwindet. Bei Verwendung von 100 cm^3 Harn genügen nach den bisherigen Versuchen in der Regel 5 bis 10 cm^3 der Permanganatlösung von oben angegebener Concentration. Der nach circa viertelstündigem Kochen verbleibende Permanganatrest wird vortheilhaft durch tropfenweisen Zusatz von Oxalsäurelösung entfernt. Nunmehr lässt man das Becherglas durch Einstellen in kaltes Wasser

erkalten, bringt in das Gefäß etwas Lackmuspapier und fügt hierauf concentrirte Lauge cubikcentimeterweise unter weiterem Kühlen und Umrühren solange vorsichtig hinzu, bis das Lackmuspapier alkalische Reaction anzeigt. Hierauf wird der Inhalt des Becherglases quantitativ in das Schüttelgefäß des Azotometers gespült, dann gibt man in das kleine Hartgummigefäß 20 bis 25 cm^3 Bromlauge¹ und bringt dieses Gefäß am besten mittelst einer Pinzette so vorsichtig in das Schüttelgefäß hinein, dass keine Vermengung der beiden Flüssigkeiten statthat. Nunmehr füllt man die Messröhren mit Wasser, setzt den Gummistopfen, der durch einen Vacuumschlauch mit dem einen Maßrohre verbunden ist, so auf das Schüttelgefäß, dass die Lage des Stopfens sich bei dem später zu erfolgenden Schütteln des Gefäßes nicht ändern kann, da dies einen Fehler in der Bestimmung nach sich ziehen würde. Sobald beide Flüssigkeitssäulen in den Röhren dasselbe Niveau zeigen, wird das freie Schlauchende am Gummistopfen durch einen passenden Quetschhahn vorsichtig geschlossen, und hierauf der Wasserstand im Messrohre genau abgelesen. Hierauf 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 Wasser so abfließen, dass das Wasser in diesem Rohre um 1 bis 2 cm^3 höher steht, als in dem anderen Rohre.² Sobald die starke Gasentwicklung etwas nachgelassen hat, schüttelt man das Gefäß durch einige Minuten mit der Vorsicht, dass die beiden aufgebogenen Glasenden entgegengesetzt dem Flüssigkeitsspiegel sich befinden, wobei man zweckmäßig das Gefäß, um jede Erwärmung von außen zu vermeiden, an dem um den Hals des Gefäßes angebrachten Gummiringe festhält. Sobald keine Gasentwicklung mehr wahrnehmbar ist, was in der Regel nach circa fünf Minuten der Fall ist, überlässt man das

¹ 80 g Natronhydrat und 25 g Brom pro Liter.

² 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 Niveauunterschied in beiden Röhren eintritt.

Schüttelgefäß durch circa zehn Minuten der Ruhe, nach welcher Zeit der Temperaturengleich erfolgt.¹ Nunmehr stellt man das Wasser in den Röhren auf gleiches Niveau ein und liest den Wasserstand ab.² Die Differenz zwischen den vor dem Beginne und nach dem Abschlusse des Versuches constatirten Ablesungen ergibt die Anzahl der entwickelten Cubikcentimeter Stickstoffgas. Man liest hierauf Temperatur und Barometerstand ab und entnimmt aus der — der Bequemlichkeit wegen an dem Apparate angebrachten — Tabelle das Gewicht eines Cubikcentimeters N bei der abgelesenen Temperatur und Barometerstand. Dieses Gewicht mit der Anzahl der entwickelten N multipliciert, ergibt die Milligramme Stickstoff, diese mit drei multipliciert (100 Theile Harnsäure enthalten 33·33 Theile N) ergibt die Milligramme Harnsäure in der zur Untersuchung entnommenen Harnmenge, woraus sich der Harnsäuregehalt pro Liter Harn einfach berechnen, respective aus einer Tabelle direct entnehmen lässt.

Beispiel. Aus 100 cm^3 Harn wurde die Harnsäure abgeschieden, der Niederschlag in der angegebenen Weise oxydiert, und der Stickstoff im Oxydationsproducte volumetrisch bestimmt.

N-Volumen: 13·6 cm^3 bei 18° C. und 747 mm B.

1 cm^3 N bei 18° C. und 747 mm B. = 1·138 mg N.

Demnach sind 13·6 cm^3 N = 15·4768 mg N, oder auf Harnsäure berechnet:

$$15·4768 \times 3 = 46·4304 \text{ } mg \text{ Harnsäure}$$

in 100 cm^3 Harn.

Pro Liter Harn resultieren 0·4643 g Harnsäure.

Ich habe eine große Zahl von vergleichenden Harnsäurebestimmungen in diversen normalen und pathologischen Harnproben durchgeführt, und zwar nach der neuen volumetrischen

¹ Versuche haben ergeben, dass selbst nach halbstündigem weiteren Stehen die Differenz höchstens $\frac{1}{10} cm^3$ in der Ablesung beträgt, so dass ein zehn Minuten langes Stehen vollkommen genügt.

² Nach beendigter Ablesung wird der Gummistopfen, ebenso das Schüttelgefäß sorgfältig gereinigt.

Methode und nach den Methoden von Ludwig-Salkowski und Folin. Bei jeder Harnprobe wurde die Harnsäure je zweimal nach der volumetrischen Methode und ebenso wieder paarweise nach Ludwig-Salkowski und Hopkins-Folin bestimmt und aus den Doppelbestimmungen das Mittel berechnet.

Nachstehende Tabelle enthält eine Reihe von Beleganalysen.

Um die Exactheit der volumetrischen Methode auch noch auf anderem Wege zu erweisen, wurden verschiedene Harnproben mit Natronlauge versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und in einer abgemessenen Menge des Filtrates die Harnsäure volumetrisch bestimmt. Hierauf wurde zu einer anderen abgemessenen Portion des alkalischen Harnes eine genau gewogene Menge einer absolut chemisch reinen Harnsäure hinzugefügt, die Harnsäure durch Umrühren in Lösung gebracht, alsdann wiederum mit essigsäurem Ammon abgeschieden, oxydiert und der N volumetrisch bestimmt.

Versuch I. Die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in 100 cm^3 eines alkalisch gemachten Harnes ergab:

$$13.3\text{ cm}^3\text{ N bei }20^\circ\text{ C. und }744\text{ mm B.}$$

Zu 150 cm^3 dieses alkalisch gemachten Harnes wurden hinzugefügt 0.1666 g Harnsäure.

In der aus diesen 150 cm^3 Harn abgeschiedenen Harnsäure wurden gefunden:

$$61.8\text{ cm}^3\text{ N bei }20^\circ\text{ C. und }744\text{ mm B.}$$

$$1\text{ cm}^3\text{ N} = 1.118\text{ mg N.}$$

Auf die zugesetzte Harnsäuremenge entfallen $61.8 - 13.3 = 48.5\text{ cm}^3\text{ N}$, entsprechend 54.2230 mg N oder auf Harnsäure berechnet 0.162669 g Harnsäure. Im Filtrate des mit essigsäurem Ammon zur Abscheidung der Harnsäure versetzten Harnes konnte nach dem Ansäuern mit Salzsäure und weiterem Zusatze von essigsäurem Ammon selbst nach mehrstündigem Stehen keine Spur einer Harnsäureabscheidung constatirt werden.

Laufende Nummer	Harnsäure in Gramm pro Liter nach Ludwig-Salkowski	Harnsäure in Gramm pro Liter nach Hopkins-Foln	Volumetrische Methode					Bemerkungen
			Verwendete Harnmenge in Cubikcentimetern	N-Volumen in Cubikcentimetern	Abgelesene Temperatur und Barometerstand	Harnsäure in Gramm, volumetrische Methode	Differenz der volumetrischen Bestimmung gegenüber Ludwig	
1	0.4732	0.4934	100	13.6	18° C., 747 B.	0.4643	-1.90/0	} Endpunkt nach Hopkins-Foln schwer zu erkennen.
2	0.5748	0.7187	100	18.05	25.5	740	+2.3	
3	0.3680	0.4359	100	11.5	18	758	+2.7	
4	0.5160	0.5392	100	15.28	18	758	+1.5	
5	0.3172	0.3502	100	9.4	19	737	-1.3	
6	0.3169	0.3518	200	18.8	19	737	-1.3	
7	0.4163	0.4378	100	12.66	19	737	+1.3	
8	0.2904	0.3006	50	4.35	18	740	+2.3	
9	0.2690	0.2783	100	7.04	18	740	+2.5	
10	0.5733	0.6059	100	17.8	22	754	+4.5	
11	0.6729	0.7551	100	20.52	22	754	+2.4	
12	0.5447	0.6275	100	27.33	21.5	740	+5.0	
13	0.3601	0.4454	100	11	21.5	740	+0.9	
14	0.4842	0.5136	100	14.62	20	748	+1.8	
15	0.5784	0.6129	100	17.6	19	752	+3.5	
16	0.8126	nicht bestimmt	50	12.16	18	740	+2.2	
17	0.7308	»	100	22.27	20	748	+2.8	
18	0.6946	»	100	21	23	753	+1.7	

Versuch II. Die volumetrische Bestimmung der Harnsäure in 100 cm^3 eines alkalisch gemachten Harnes ergab:

11.2 cm^3 N bei 18° C. und 747 mm B.

Zu 100 cm^3 dieses alkalisch gemachten Harnes wurden hinzugefügt 0.1046 g Harnsäure.

In der aus diesen 100 cm^3 Harn abgeschiedenen Harnsäure wurde gefunden:

Harnsäure volumetrisch 42.3 cm^3 N bei 18° C. und 747 mm B.

Somit als Differenz des Stickstoffes gefunden:

31.1 cm^3 bei 18° C. und $747\text{ mm B.} =$

$31.1 \times 0.003395 = 0.1055\text{ g}$ Harnsäure.

Thatsächlich zugefügt .. 0.1046 g »

Differenz 0.0009 g Harnsäure.

Aus vorstehenden Beleganalysen ergibt sich, dass die neue volumetrische Methode für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn vollkommen geeignet ist und an Exactheit von keiner der üblichen Methoden übertroffen wird.

Was die Differenzen der volumetrischen Methode gegenüber der Ludwig-Salkowski'schen Methode betrifft, so ist aus vorstehend angeführter Tabelle ersichtlich, dass meine Methode — wenn man das Mittel aus allen Differenzen zieht — gegenüber dieser ein Plus von 2% ergibt. Dies steht in vollständiger Übereinstimmung mit Ludwig's eigener Angabe, dass nach seiner Methode von abgewogenen Harnsäuremengen circa 2% der Bestimmung entgehen.

Die Formel für die Berechnung der Harnsäure aus dem abgelesenen N-Volumen lautet:

$$X = V \frac{3(b-w)1.2540}{760(1+0.00366t)},$$

wobei X die Harnsäuremenge in Milligrammen, V die abgelesenen Cubikcentimeter Stickstoff, b den Barometerstand, t die Temperatur und w die dieser Temperatur entsprechende Tension des Wasserdampfes bedeuten.

Zur Vereinfachung liegt dem Apparate nachstehende Tabelle¹ bei, welche die Benützung der Formel überflüssig macht, indem man die Zahl der abgelesenen Cubikcentimeter Stickstoff mit dem Factor der Tabelle, welcher dem beobachteten Drucke und der Temperatur entspricht, multipliciert und so direct die Milligramme Harnsäure pro Liter Harn erhält.

Voraussetzung ist selbstverständlich, dass 100 cm^3 Harn verwendet wurden. Wurde eine andere Harnmenge — etwa $n\ cm^3$ — in Arbeit genommen, so ist das Resultat mit $\frac{100}{n}$ zu multiplicieren.

Vorstehende Untersuchungen lassen sich in Kürze wie folgt zusammenfassen: Durch eine vergleichende Untersuchung über die Exactheit der bisher üblichen Bestimmungsmethoden der Harnsäure wird erwiesen, dass die Hopkins-Folin'sche Methode bei reinen Harnsäurelösungen und bei verdünnten Harnen vollkommen befriedigende Resultate liefert, dagegen bei concentrirten und pathologischen Harnen meistens zu hohe Werte ergibt. Hierdurch wurde eine Untersuchung über die Einwirkung verschiedener Oxydationsmittel (Permanganat, Bichromat, Wasserstoffsperoxyd, Millon'sches Reagens) auf Harnsäure veranlasst, deren wesentlichstes Resultat ist, dass unter bestimmten Bedingungen die Harnsäure durch Permanganat in saurer Lösung quantitativ in Harnstoff übergeführt wird, ohne dass dieser einen Zerfall in Ammoniak und Kohlensäure erleidet. Hierauf gründet Verfasser eine neue Bestimmung der Harnsäure, mit specieller Berücksichtigung der Harnsäurebestimmung im Harne.

Für letztere Zwecke wird nach Folin die Harnsäure durch essigsäures Ammon abgeschieden, das Ammoniak durch Kochen mit Magnesia entfernt, der Rückstand nach dem beschriebenen Verfahren mit Permanganat oxydiert und aus dem

¹ Zwischen den in der Tabelle berücksichtigten Barometerständen und Temperaturen liegende Werte können durch Interpolation leicht berechnet werden.

Tabelle zur Harnsäurebestimmung.

1 cm^3 Stickstoff entspricht Grammen Harnsäure im Liter.

Bei Entnahme von 50 oder 200 cm^3 sind die Zahlen mit 2, respective $\frac{1}{2}$ zu multiplicieren.

Barometer-stand	10°	12°	14°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	25°
700	0·0330	0·0327	0·0324	0·0321	0·0320	0·0318	0·0317	0·0315	0·0313	0·0312	0·0310	0·0307
2	331	328	325	322	320	319	317	316	314	313	311	308
4	332	329	326	323	321	320	318	317	315	314	312	309
6	333	330	327	324	322	321	319	318	316	315	313	310
8	334	331	328	325	323	322	320	319	317	316	314	311
710	335	332	329	326	324	323	321	320	318	317	315	311
2	336	333	330	327	325	324	322	320	319	317	316	312
4	337	334	331	328	326	325	323	321	320	318	317	313
6	338	335	332	329	327	326	324	322	321	319	317	314
8	339	336	333	330	328	326	325	323	322	320	318	315
720	340	337	334	331	329	327	326	324	323	321	319	316
2	341	338	335	332	330	328	327	325	323	322	320	317
4	342	338	335	332	331	329	328	326	324	323	321	318
6	342	339	336	333	332	330	329	327	325	324	322	319
8	343	340	337	334	333	331	329	328	326	325	323	320

Barometer-stand	10°	12°	14°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	25°
730	0·0344	0·0338	0·0335	0·0334	0·0332	0	0·0329	0·0327	0·0326	0·0324	0·0320	0·0320
2	345	339	336	335	333	331	330	328	326	325	321	321
4	346	343	337	335	334	332	332	329	327	326	322	322
6	347	344	338	336	335	333	333	330	328	327	323	323
8	348	342	339	337	336	334	334	332	331	329	328	324
740	349	346	343	340	338	337	335	333	332	330	329	325
2	350	347	344	341	339	338	336	334	333	331	329	326
4	351	348	345	342	340	338	337	335	334	332	330	327
6	352	349	346	343	341	339	338	336	335	333	331	328
8	353	350	347	344	342	340	339	337	335	334	332	329
750	354	351	348	345	343	341	340	338	336	335	333	330
2	355	352	349	346	344	342	341	339	337	336	334	331
4	356	353	350	347	345	343	341	340	338	337	335	332
6	357	354	350	347	346	344	342	341	339	338	336	332
8	358	355	351	348	347	345	343	342	340	338	337	333
760	359	356	352	349	348	346	344	343	341	339	338	334
2	360	356	353	350	349	347	345	344	342	340	338	335
4	361	357	354	351	350	348	346	344	343	341	339	336
6	362	358	355	352	350	349	347	345	344	342	340	337
8	363	359	356	353	351	350	348	346	345	343	341	338
770	364	360	357	354	352	351	349	347	346	344	342	339

entstandenen Harnstoff der Stickstoff durch Bromlauge in einem Azotometer ausgetrieben.

Die Messung des entwickelten Stickstoffes lässt den Harnsäuregehalt direct berechnen. Die Anwendbarkeit der Methode wurde durch Beleganalysen von Harnsäurelösungen von bestimmtem Gehalte und durch Bestimmungen von Harnsäure in verschiedenen Harnen erwiesen, wo diese Resultate gut mit den nach Ludwig-Salkowski erhaltenen übereinstimmen.
