Versuche über Harnstoff- und Ammoniak-Bestimmung im Harn, insbesondere der Pflanzenfresser ;

von Dr. *F. Rautenberg*.

(Mitgetheilt von W. Henneberg aus dem Laboratorium der landwirthschaftl. Versuchsstation Weende-Göttingen.

I *Harnstoff-Bestimmung.*

In einem Artikel des CXXIV. Bandes dieser Annalen : „über die Bestimmung von Hippursäure, Harnstoff und Kochsalz im Harn der Pflanzenfresser von W. Henneberg, F. Stohmann und F. Rautenberg“ ist die Vermuthung ausgesprochen worden (S. 194), daß die zur genauen Titrirung des Harnstoffs in kochsalzhaltigem Harn nach Liebig'schem Verfahren erforderliche Entfernung des Chlors sich vielleicht durch Zuhülfenahme einer Correctionstabelle werde umgehen lassen, welche angiebt, um wie viel bei einem gewissen Gehalt des Harns an Harnstoff einerseits, an Kochsalz andererseits die zum Austitriren verbrauchte Quantität Quecksilberlösung größer oder kleiner anzunehmen ist, um auf die richtigen Zahlen für Harnstoff zu kommen.

Auf meine Veranlassung hat sich der Eine meiner früheren Mitarbeiter, Dr. Rautenberg, im vorigen Jahre der Aufgabe unterzogen, experimentell zu prüfen, ob und wie weit diese Vermuthung begründet sei. Nachdem mein junger strebsamer Freund und Assistent leider im October 1863 dem Nervenfieber unterlegen, sehe ich mich veranlaßt, statt seiner die gewonnenen nicht unwichtigen Resultate mitzutheilen.

Zuerst wurde durch eine umfassende Reihe von Titrationen, die sich auf die verschiedenartigsten Gemische von Harnstoff-, Kochsalz- und Glaubersalzlösungen bezogen, ermittelt, daß nur innerhalb sehr enger Mischungsverhältnisse

daran zu denken gewesen wäre, auf dem beabsichtigten Wege zum Ziel zu kommen. Insbesondere ergab sich der störende Umstand, daß bei hohem Kochsalzgehalt der Mischung (z. B. 5 CC. 2proc. Harnstoff- und 10 CC. 2proc. Kochsalzlösung) die Endreaction mit Sodalösung: Entstehung eines gelben Niederschlags beim Zusammenbringen mit dem quecksilberhaltigen Probetropfen, — nicht mehr scharf, sondern von einem Probetropfen zum andern verschwimmend hervortrat.

Die Benutzung des bekannten Verhaltens, daß *Sublimat*, im Gegensatz zu salpetersaurem Quecksilberoxyd, durch *Natron-Bicarbonat* nicht gefällt wird, liefs den Zweck dann in weit einfacherer Weise erreichen. Man wendet nämlich statt des bisher gebräuchlichen einfach-kohlensauren, das *doppelt-kohlensaure Natron als Erkennungsmittel des Quecksilber-Überschusses* an und operirt im Uebrigen ganz nach der Modification des Liebig'schen Verfahrens, welches von uns a. a. O. beschrieben ist und wesentlich auf Folgendes hinausläuft.

Von der harnstoffhaltigen Flüssigkeit werden zwei Proben à 15 CC. abgemessen. Die eine davon säuert man mit einem Tropfen Salpetersäure schwach an und fügt dann so lange von der Normal-Quecksilberlösung (30 CC. = 15 CC. 2proc. Harnstofflösung) hinzu, bis sich eine bleibende Trübung einstellt. Die Anzahl der hierbei verbrauchten CC. Quecksilberlösung bildet die Correction für Kochsalz. — Die zweite Probe dient zum Ausfällen des Harnstoffs. Man läfst die Quecksilberlösung, ohne vorhergehende Ansäuerung der Probe, allmählig zufließen und bewirkt die Neutralisation der beim Entstehen des Harnstoff-Quecksilberoxyds freiwerdenden Salpetersäure durch successiven Zusatz kleiner Mengen von reinem präcipitirten kohlensauren Kalk. Zur Prüfung, ob aller Harnstoff ausgefällt ist, bringt man mit dem Glasstabe einen starken Probetropfen auf eine sorgfältig gereinigte, an der

Unterseite dicht mit Asphaltfirnifs überzogene Glasplatte und bedeckt denselben mit einem Tropfen in Wasser aufgerührten doppelt-kohlensauren Natrons, wobei das Erscheinen der ersten deutlichen Spuren einer gelben Färbung die Beendigung der Reaction anzeigt. — Um das als Reagens angewandte Natron-Bicarbonat bequem zur Hand zu haben und von einfach-kohlensaurem Salze möglichst frei zu halten, verfahren wir folgendermassen : Das käufliche Salz wird fein zerrieben in ein trichterförmig ausgezogenes weites Röhrenstück gebracht, in dessen Spitze ein Asbestpropfen steckt und welches man unten durch ein Caoutchouc Röhrchen mit Quetschhahn, oben durch einen Caoutchouckork verschlossen hält. Nachdem das Salz vor jedesmaligem Gebrauch einige Male mit kleinen Portionen Wasser ausgewaschen, nimmt man davon mit dem Glasstabe in ein kleines Becherglas herüber und fügt so viel Wasser hinzu, dafs beim Durchrühren ein dünner Brei entsteht, den man direct zum Bedecken des Probetropfens verwendet.

Die nachstehenden Versuche werden den Beweis liefern, dafs der Einflufs des Sublimats — in welchen sich das Kochsalz des Harns beim Zusammenbringen mit salpetersaurem Quecksilber umsetzt — auf die Harnstoffbestimmung bei Anwendung von doppelt-kohlensaurem Natron fast vollständig verschwindet. Man ist dabei im Stande, den Harn bis auf 0,1 bis 0,2 CC. Quecksilberlösung (= 1 bis 2 Milligrm. Harnstoff) mit Sicherheit auszutitriren, während wir uns früher begnügen mufsten, Unterschiede von $\frac{1}{2}$ zu $\frac{1}{2}$ CC. Quecksilberlösung (= 5 Milligrm. Harnstoff) festzustellen. — Versuche mit Harn des Menschen und der Fleischfresser liegen zwar bis dahin nicht vor, doch kann es keinem Zweifel unterliegen, dafs die Reaction mit doppelt-kohlensaurem Natron sich auch bei diesen Harnarten bewähren wird.

*Analytische Belege.***A. Titer der Quecksilberlösung und Correction für Verdünnung.**

- 1) 15 CC. zweiprocentiger Harnstofflösung erforderten 29,6 CC. Quecksilberlösung. — Einfach-kohlensaures Natron ergab denselben Titer.
- 2) 10 CC. Harnstoff + 5 CC. Wasser. Quecksilber verbraucht 20,4 CC. statt 29,6.², = 19,7 nach der vorigen Bestimmung, daher Correction für Verdünnung $\frac{20,4 - 19,7}{29,6 - 20,4} = 0,08$ CC. für jedes weniger als 29,6 verbrauchte CC
- 3) 7,5 CC. Harnstoff + 7,5 CC. Wasser. Quecksilber verbraucht 15,6 CC. statt $\frac{29,6}{2} = 14,8$; mithin Correction für Verdünnung 0,06.
- 4) 5 CC. Harnstoff + 10 CC. Wasser. Quecksilber verbraucht 10 CC. statt 9,9; Correction für Verdünnung = 0,04. (Einfach-kohlensaures Natron gab dasselbe Resultat.)

Aus diesen Bestimmungen folgt, daß für jedes CC. Quecksilberlösung, welches weniger als 29,6 bis zum Eintreten der Endreaction erforderlich, von der im Ganzen verbrauchten Anzahl CC. abzuziehen ist :

0,08 CC.	bei einem Minderverbrauch unter 10 CC.
0,06 " " "	" " von 10 bis 15 CC.
0,04 " " "	" " von 15 bis 20 CC.

Wie man sieht, bestätigt sich hier die frühere Wahrnehmung (a. a. O. S. 191), daß der Corrections-Coëfficient mit zunehmender Verdünnung abnimmt; der Durchschnittswerth 0,06 stimmt mit dem a. a. O. für eine Quecksilberlösung, wovon 30,5 CC. = 15 CC. zweiprocentiger Harnstoff, angegebenen überein. Bei den folgenden Versuchen sind je nach dem Quecksilberverbrauch die Coëfficienten 0,08, 0,06, 0,04 (*nicht der Durchschnittswerth*) in Rechnung gestellt.

B. Harnstoffbestimmungen in Mischungen von Harnstoff- und Kochsalz-Lösungen.

- 1) 5 CC. zweiprocentige Harnstoff- + 8,6 CC. zweiprocentige Kochsalzlösung + 1,4 CC. Wasser = 15 CC.

Quecksilberlösung verbraucht bis zum Auftreten der bleibenden Trübung in der angesäuerten Probe : 5,2, 5,25, 5,3 CC. in drei verschiedenen Versuchen, durchschnittlich 5,25 CC. = Correction für Kochsalz. — Quecksilberlösung verbraucht bis zum Erscheinen der Reaction mit doppelt-kohlensaurem Natron in drei Versuchen übereinstimmend 15,8 CC.; mithin Correction für Verdünnung (29,6 — 15,8). 0,06 = 0,83.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		15,80 CC.
Correction für Kochsalz	5,25	6,08 CC.
Correction für Verdünnung	0,83	
	Rest für Harnstoff	9,72 CC.

statt $\frac{29,6}{3} = 9,87$ CC. nach der Rechnung.

- 2) 5 CC. Harnstoff + 4,5 CC. Kochsalz + 5,5 CC. Wasser = 15 CC.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		13,4 CC.
Correction für Kochsalz	2,75	3,4 CC.
Correction für Verdünnung *)	0,65	
	Rest für Harnstoff	10,0 CC.

statt 9,87 berechnet.

Ein Gegenversuch mit einfach-kohlensaurem Natron ergab :

Quecksilber im Ganzen verbraucht		12,5 CC.
Correction für Kochsalz	2,75	3,43 CC.
Correction für Verdünnung	0,68	
	Rest für Harnstoff	9,07 CC.

mithin 0,8 CC. zu wenig gegen 0,1 CC. bei Anwendung von Bicarbonat.

- 3) 7,5 CC. Harnstoff + 8,6 CC. Kochsalz = 15,1 CC.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		20,7 CC.
Correction für Kochsalz	5,2	5,9 CC.
Correction für Verdünnung	0,7	
	Rest für Harnstoff	14,8 CC.

wie berechnet.

*) (29,6 — 18,4) . 0,04 = 0,65.

4) 10 CC. Harnstoff + 5 CC. Kochsalz = 15 CC.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		23,45 CC.
Correction für Kochsalz	3,05	}
Correction für Verdünnung	0,49	
		3,54 CC.
	Rest für Harnstoff	19,91 CC.

statt $29,6 \cdot \frac{2}{3} = 19,73$ CC. berechnet.

Eine frühere Titration derselben Mischung unter Anwendung von Soda und mit einer Quecksilberlösung, von welcher 30,0 CC. = 15,0 CC. Harnstoff, hatte ergeben :

Quecksilber im Ganzen verbraucht		22,5 CC.
Correction für Kochsalz	3,1	}
Correction für Verdünnung	0,6	
		3,7 CC.
	Rest für Harnstoff	18,8 CC.

statt 20,0 CC. berechnet, mithin $20,0 - 18,8 = 1,2$ CC. zu wenig, gegen 0,2 C. zu viel bei dem vorigen Versuch.

C. *Versuche mit Rinderharn.*

- 1) a. 200 CC. frischer Harn von 1,040 spec. Gewicht bei $17,5^{\circ}$ C. mit Salpetersäure angesäuert; zur Austreibung der Kohlensäure erwärmt; mit Magnesia neutralisirt; abgekühlt auf $17,5^{\circ}$ C.; zu 220 CC. aufgefüllt; mit 80 CC. salpetersaurem Eisenoxyd versetzt; filtrirt; 150 CC. Filtrat mit Barytwasser zu 225 CC. aufgefüllt; filtrirt; von dem Filtrat je 15 CC., entsprechend 8 CC. Harn, zu den Titrationen angewandt (siehe l. c. S. 187). — Titer der Quecksilberlösung: 1 CC. = 10,14 Milligrm. Harnstoff.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		4,6 CC.
Correction für Kochsalz	0,7	}
Correction für Verdünnung	1,0	
		1,7 CC.
	Rest für Harnstoff	2,9 CC.
= 29,4 Milligrm. Harnstoff in 8 CC. Harn = 0,367 Grm. in 100 CC.		

- b. Derselbe Harn vor der Behandlung mit Salpetersäure u. s. w. mit 0,500 Grm. Harnstoff pro 100 CC. versetzt.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		8,4 CC.
Correction für Kochsalz	0,7	}
Correction für Verdünnung	0,85	
		1,55 CC.
	Rest für Harnstoff	6,85 CC.

= 69,45 Milligrm. Harnstoff in 8 CC. = 0,868 Grm. in 100 CC. Harn. Demnach wiedergefunden : zugesetzter Harnstoff $0,868 - 0,367 = 0,501$ Grm. statt 0,500 Grm.

- 2) a. Rinderharn von 1,019 spec. Gewicht. Mit Salpetersäure u. s. w. behandelt, wie 1), nur schliesslich, statt auf 225, auf 210 CC. aufgefüllt, so dass 15 CC. letztes Filtrat = 9 CC. Harn.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		9,40 CC.
Correction für Kochsalz	2,35	3,16 CC.
Correction für Verdünnung	0,81	
Rest für Harnstoff		6,24 CC.
= 63,27 Milligramm. Harnstoff in 9 CC. = 0,703 Grm. in 100 CC. Harn.		

- b. Derselbe Harn mit 1,000 Grm. Harnstoff pro 100 CC. ersetzt.

Quecksilber im Ganzen verbraucht		17,9 CC.
Correction für Kochsalz	2,3	3,0 CC.
Correction für Verdünnung	0,7	
Rest für Harnstoff		14,9 CC.
= 151,1 Milligramm. Harnstoff in 9 CC. = 1,679 Grm. in 100 CC. Harn. Gefunden : zugesetzter Harnstoff 1,679 — 0,703 = 0,976 Grm. statt 1,000.		

II. Ammoniak-Bestimmung.

Die von Neubauer (Harnanalyse, 4. Aufl., S. 179) empfohlene Bestimmung des Ammoniaks nach der Schlösing'schen Methode hat den Uebelstand, dass ein längerer (48stündiger) Zeitraum vergeht, bis die Operation beendet ist. Mit Rücksicht darauf hat F. Mohr (Titrimethode, 2. Aufl., S. 517) ein Verfahren vorgeschlagen, welches wesentlich darin besteht, dass man den genau neutralisirten Harn mit einer abgemessenen Menge titrirter Kalilösung kocht und statt der Alkalität des entweichenden Ammoniaks die restirende Alkalität des zugesetzten Kali's misst. Die Ausführung bei saurem menschlichem Harn ist von Mohr folgendermassen beschrieben :

„100 CC. Harn werden mit Aetzkali und Betupfen von violetter Lackmuspapier genau gesättigt. Man bringt den Harn in eine Kochflasche, welche das Fünffache dieses Volums Inhalt haben muss, setzt 10 CC. Normalkali zu (47,1 Grm. KO im Liter) und bringt ihn vorsichtig zum Kochen. Es ent-

wickeln sich ammoniakalische Wasserdämpfe, welche man durch eine in einem Stopfen sitzende ausgezogene Glasröhre entweichen läßt. Sobald die Dämpfe nicht mehr ammoniakalisch reagiren, läßt man etwas erkalten und gießt den noch warmen Harn in ein hohes Becherglas, bringt dies unter eine Bürette mit Normalsalpetersäure und stumpft das noch freie Alkali ab. Man prüft wegen der Farbe des Harns durch Bestreichen eines violetten Lackmuspapiers. Sobald dies keine Veränderung mehr zeigt, ist die Messung beendet. Man zieht die gebrauchten CC. Normalsäure von den 10 CC. Normalkali ab und berechnet den Rest auf Ammoniak“

Die von Mohr ausgeführten Controlversuche beschränken sich, so viel aus unserer Quelle zu entnehmen, auf die wiederholte Untersuchung eines und desselben Menschenharns, wobei übereinstimmende Resultate erhalten wurden; über correspondirende Bestimmungen nach der Schlösing-Neubauer- oder Boussingault'schen,*); Methode, oder aber mit Harn, dem eine bestimmte Quantität Ammoniaksalz zugesetzt war, findet sich nichts angegeben.

Da uns die Einfachheit und rasche Ausführbarkeit des Mohr'schen Verfahrens für unsere Untersuchungen über die Ernährung des Rindes sehr willkommen gewesen wäre, so habe ich Dr. Rautenberg nach Beendigung der vorhin mitgetheilten Versuche zu einer eingehenderen Prüfung desselben veranlaßt.

Als Resultat hat sich herausgestellt, daß die Methode auf Rinderharn nicht anwendbar ist. Zur Rechtfertigung dieses Ausspruchs verweise ich auf die Zahlen der weiter unten folgenden Tabelle. Man ersieht daraus, daß das

*) Mémoires de chimie agricole p. 285. Das Wesentliche der Methode ist: Kochen des Harns mit Kalkmilch oder Sodalösung im luftleeren Raume und Auffangen des Ammoniaks in titrierter Schwefelsäure

Mohr'sche Verfahren — bei den mannigfaltigsten Modificationen desselben : Kochen mit Aetzkali oder kohlensaurem Natron im Kolben nach Vorschrift, oder im Vacuum, oder im Wasserstoffstrom, Abdampfen zur Trockne an der Luft oder im Vacuum, diese Operationen mit verschiedenen Zusatzmengen von Kali, bei verschiedener Dauer der Einwirkung u. s. w. ausgeführt — im Vergleich mit den Methoden von Schlösing-Neubauer und von Boussingault constant einen Ammoniak-Ueberschufs und zwar meistens einen sehr bedeutenden giebt. Beide letztere Methoden aber sind von deren Erfindern sowohl als auch nochmals von Rautenberg sorgfältig geprüft; ohne auf die hiesigen Controlversuche näher einzugehen, mache ich nur darauf aufmerksam, dafs nach der unten mitgetheilten Tabelle die auf die eine oder andere Weise gefundenen Ammoniakmengen in der Regel sehr gut übereinstimmen. — Der Ammoniak-Ueberschufs, den man bei dem Mohr'schen Verfahren findet, hat wohl offenbar darin seinen Grund, dafs gewisse ursprünglich neutrale „Extractivstoffe“ des Rinderharns durch die Einwirkung der Alkalien in Producte von saurer Natur übergeführt werden, welche dem zugesetzten Alkali theilweise seine Alkalität benehmen; Harnstoff und Hippursäure kommen dabei, wie sich Rautenberg durch besondere Versuche überzeugt hat, nicht in Frage. — Bei menschlichem Harn scheint das Verfahren Mohr's, wie aus der Tabelle ebenfalls hervorgeht, eher anwendbar zu sein; doch reichen die wenigen von Rautenberg angestellten Versuche noch keineswegs aus, um ein begründetes Urtheil fallen zu können.

Der Ammoniakgehalt des Rinderharns bewegt sich nach den hier vorliegenden Bestimmungen, zu denen Harn von verschiedenartigsten Individuen (Kühen und Schnittochsen) bei verschiedenartigstem Winterfutter gedient hat, in den Grenzen : 0 bis 0,009 pC., während von Boussingault

(a. u. O.) 0,006 bis 0,010 pC. gefunden sind. Auf das bisher von uns beobachtete Maximum der 24 stündigen Harnmenge : 50 Zollpfund = 25000 Grm. bezogen *), beträgt 0,01 pC. nicht mehr als 2,5 Grm. NH_3 oder 2,1 Grm. N per Tag. Wir schließen daraus, daß das Ammoniak des Harns bei Untersuchungen über den Stickstoff-Kreislauf im Körper des Rindes keiner besonderen Berücksichtigung bedarf.

Art des Harns.	Spec. Gew.	Ammoniak (Gewichtsproc. NH ₃) gefunden nach der Methode von :										
		Schlössing- Neubauer nach 48- 72- 96-		Boussingault	F. Mohr							
		stündigem Stehen mit Kalk- milch			mit Kali gekocht	mit Soda gekocht	mit Kali im Wasser- stoffstrom gekocht	mit Kali abgedampft an der Luft	mit Soda desgl.	mit Soda abgedampft im Vacuum		
<i>Rinder- harn</i>	1,031	0,009	—	—	—	—	—	—	—	0,026	0,035	—
Desgl.	1,029	0,009	—	—	0,009	—	—	—	—	0,027	0,035	0,019
Desgl.	1,033	Spur	—	—	—	—	—	—	—	0,032	0,044	—
Desgl.	1,034	0,002	—	0,005	0,005	0,007	0,026	—	—	0,012	0,033	0,020
Desgl.	1,033	—	0,005	0,003	0,003	0,009	—	—	—	0,020	—	0,019
Desgl. { a) b) c)	1,033	0,004	—	—	—	0,031	—	—	—	—	—	—
	1,033	0,006	—	—	—	0,017	—	—	—	—	—	—
	1,033	0,006	—	—	—	0,027	—	—	—	—	—	—
Desgl.	1,029	0,006	—	—	—	0,026	—	0,032	—	—	—	—
Desgl.	1,017	0,008	—	—	0,003	—	—	—	—	—	—	—
Desgl.	1,009	—	0	—	0,032	—	—	—	—	—	—	—
Desgl.	1,033	0,003	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Menschen- harn</i>	1,028	0,111	—	—	0,103	0,079	—	—	—	—	—	0,098
Desgl.	1,025	0,078	—	—	0,077	0,047	—	—	—	—	—	0,068

a) Harn im natürlichen Zustande, b) nach Behandlung mit Thierkohle in der Kälte, c) desgl. in der Wärme.

Weende, 9. Juli 1864.

*) Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer, II. Heft, 8. 449.