

Zeitschrift:	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber:	Bundesamt für Gesundheit
Band:	76 (1985)
Heft:	3
Artikel:	Ringversuch für die enzymatische Bestimmung von Harnstoff in Badewasser = Collaborative study for the enzymatic determination of urea in swimming-pool water
Autor:	Kohler, P.
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-982371

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 25.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Ringversuch für die enzymatische Bestimmung von Harnstoff in Badewasser

Collaborative Study for the Enzymatic Determination of Urea
in Swimming-pool Water

P. Kohler

Kantonales Laboratorium, Solothurn*

Einleitung

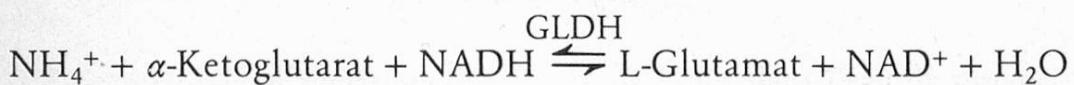
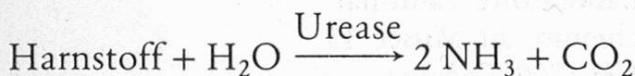
Die durch die Subkommission 26 des Schweizerischen Lebensmittelbuches evaluierte und geprüfte enzymatische Methode zur Bestimmung von Harnstoff in Badewasser (1) wurde durch acht Laboratorien in einem Ringversuch überprüft.

Das Ziel des Ringversuches war, Aussagen über Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit besonders beim provisorischen Toleranzwert von 1 mg/l zu erhalten.

Methode

Prinzip

Urease hydrolysiert Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid. In Gegenwart von Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) und Ammoniak reagiert α -Ketoglutarat zu L-Glutamat. Die Menge des verbrauchten NADH ist dabei der Ammoniakmenge beziehungsweise der halben Harnstoffmenge äquivalent.



* Im Auftrag der Subkommission 26 (Enzymatische Bestimmungen) des Schweizerischen Lebensmittelbuches.

Geräte

Pipetten, Küvetten und Spektralphotometer müssen den Anforderungen von Kapitel 61 des Schweizerischen Lebensmittelbuches (2) entsprechen.

Reagenzien

Eine auf diese Methode zugeschnittene Testkombination für ca. 25 Bestimmungen ist im Handel erhältlich (Boehringer-Mannheim 542946). – Die Reagenzien können auch aus Einzelsubstanzen folgendermassen bereitet werden:

1. Puffer

3 g Triethanolamin-Hydrochlorid und 400 mg α -Ketoglutarat-Dinatriumsalz ($C_5H_4Na_2O_5 \cdot 2 H_2O$) mit ca. 70 ml bidest. Wasser lösen. Mit 5 n NaOH auf pH 8,0 einstellen und mit bidest. Wasser auf 100 ml auffüllen.

Diese Lösung ist bei + 4 °C mindestens 4 Wochen haltbar.

2. Reaktionsgemisch

Pro ml Puffer (Reagenz 1) 0,4 mg NADH · Na₂ (98%) lösen (z. B. Boehringer 127345).

Diese Lösung ist bei + 4 °C 1 Tag haltbar.

3. Urease

110 U Urease (z. B. Boehringer 127442) in 1 ml Glycerin 50% Vol lösen.

Diese Lösung ist bei + 4 °C 4 Wochen haltbar.

4. GlDH

GlDH-Lösung (1200 U/ml Glycerin 50% Vol) unverdünnt verwenden (z. B. Boehringer 127086). Der Gehalt an NH₄⁺ muss < 10 µg/ml sein.

Diese Lösung ist bei + 4 °C 1 Jahr haltbar.

Ausführung der Bestimmung

Probenvorbehandlung

Badewasser kann direkt (ohne Probenvorbehandlung) eingesetzt werden. Probeneinsatz: 2 ml.

Messlösung

Die Messlösung soll pro Liter 0,5 bis 7 mg Harnstoff enthalten, entsprechend einem ΔE_{340} von ca. 0,07–1,0.

Ansatz und Messung

- Puffer auf Raumtemperatur bringen
- Reaktionstemperatur 20–25 °C

- Extinktionen bei 340 nm gegen Luft messen (keine Küvette im Referenzstrahl)
- Ausführung gemäss folgendem Pipettierschema.

Pipettierschema

In Küvette pipettieren	Leerwert (ml)	Probe (ml)
Reaktionsgemisch (Reagenz 2)	1,0	1,0
Messlösung	2,0	2,0
Urease (Reagenz 3)	—	0,02
Wasser	0,02	—
Mischen, ungefähr 15 min warten, Extinktionen der Lösungen messen (E_1). Reaktion starten durch Zugabe von:		
GlDH (Reagenz 4)	0,02	0,02
Mischen und nach Ablauf der Reaktion (ca. 15 min) Extinktionen der Lösungen messen (E_2). Schleichreaktionen sind nach Kapitel 61A/3.7.3.1. (LMB) zu berücksichtigen.		

Berechnung und Angabe der Resultate

Siehe auch Kapitel 61A/3.6. (LMB) (2)

Für Leerwert und Probe Extinktionsdifferenz $E_1 - E_2$ bilden. Die Extinktionsdifferenz des Leerwertes von jener der Probe abziehen ($= \Delta E$).

Daraus ergibt sich der Gehalt der Messlösung an Harnstoff (60,06 g/mol):

$$\text{Harnstoff in mg/l Messlösung} = \frac{3,04 \cdot 60,06 \cdot 1000}{6,3 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 1000} \cdot \Delta E_{340} = \underline{\underline{7,245 \cdot \Delta E_{340}}}$$

Hinweise

Die Badewasserproben müssen bei 4 °C gelagert werden. Die Bestimmung sollte spätestens 3–4 Tage nach der Probenahme erfolgen.

Übersteigt der Harnstoffgehalt des Badewassers 7 mg/l, genügt es, die Messlösung entsprechend mit bidest. Wasser zu verdünnen und den entsprechenden Verdünnungsfaktor bei der Berechnung zu berücksichtigen.

Anlage des Ringversuches

Proben

Als Analysenlösung wurde ein künstliches Badewasser verwendet.

Dazu wurden 116,4 mg Harnstoff in 1 Liter Trinkwasser gelöst. Der mittels Kjeldahl bestimmte Harnstoffgehalt des verwendeten Produktes Merck 8487 betrug 97,12%. Diese Stammlösung wurde folgendermassen zu den 3 Messlösungen verdünnt:

Messlösung A: 10fache Verdünnung der Messlösung C = 0,582 mg/l

Messlösung B: 50fache Verdünnung der Stammlösung = 2,328 mg/l

Messlösung C: 20fache Verdünnung der Stammlösung = 5,82 mg/l

Jede dieser Lösungen wurde durch Zusatz von Javelwasser auf einen Gehalt an freiem aktivem Chlor von 0,02 mg/l eingestellt.

Untersuchungsauftrag

Nach Überprüfung von Geräten und Apparaten waren durch die Ringversuchsteilnehmer von den Proben A-C jeweils Doppelbestimmungen nach der oben beschriebenen Methode durchzuführen. Dabei wurden Reagenzien zur enzymatischen Bestimmung mit den Proben zusammen zugesandt.

Resultate

Saccharosetest

Vor der Durchführung des Ringversuches musste jeder Teilnehmer den Saccharosetest des Schweizerischen Lebensmittelbuches Kapitel «Enzymatische Bestimmungen» (2) durchführen und bestehen. Dadurch kann gewährleistet werden, dass für alle Teilnehmer praktisch identische Qualitätsanforderungen an Photometer und Arbeitsgeräte vorliegen (vgl. auch (3)). Aufgrund der eingegangenen Meldungen wurden keine Schwierigkeiten beim Saccharosetest beobachtet.

Harnstoffbestimmung

Die statistische Auswertung der eingegangenen Resultate erfolgte nach den Empfehlungen der Norm ISO 5725 (4), wo folgende Symbole Verwendung finden:

W_i = Differenz bei Doppelbestimmungen

Y_i = Labormittelwert

m = Gesamtmittelwert

r = Wiederholbarkeit

R = Vergleichbarkeit

$VK_r = S_r \cdot 100/m$ $S_r = r/2,83$

mittlere relative Standardabweichung bei Wiederholbedingungen

$VK_R: S_R \cdot 100/m$ $S_R = R/2,83$

mittlere relative Standardabweichung bei Vergleichsbedingungen

Aus der statistischen Auswertung ergab sich folgendes:

Aus den Differenzen W_i bei den Doppelbestimmungen (Tabelle 1) konnte nach Cochran ein ausreisserverdächtiger Wert ermittelt werden. Obwohl das Laboratorium 5 keine Erklärung für die Differenz zwischen den Einzelwerten von Probe A angeben konnte, wurde dieses für weitere Berechnungen beibehalten.

Tabelle 1. Differenzen W_i der Doppelbestimmungen

Laboratorium	Probe		
	A	B	C
1	0,027	0,040	0,013
2	0,087	0,137	0,057
3	0,007	0,029	0,051
4	0,015	0,021	0,043
5	0,217*	0,073	0,000
6	0,058	0,072	0,065
7	0,065	0,000	0,021
8	0,014	0,014	0,021

* ausreisserverdächtig

Die Labormittelwerte Y_i sind in Tabelle 2 zusammengestellt und ergaben für das Laboratorium 6 bei Probe B und C nach Dixon zu kleine Mittelwerte. Es muss angenommen werden, dass die relativ grosse Zeitspanne zwischen Probenausgabe und Analysendatum für die schlechten Werte des Laboratoriums 6 verantwortlich zu machen sind. Ungenügende analytische Qualifikation oder Mängel an den Geräten hätten sich nämlich schon bei den Differenzen der Einzelwerte (Tabelle 1) bemerkbar machen müssen.

Tabelle 2. Labormittelwerte Y_1

Laboratorium	Probe		
	A	B	C
1	0,605	2,410	5,780
2	0,696	2,272	5,746
3	0,598	2,348	5,764
4	0,573	2,279	5,710
5	0,689	2,355	5,724
6**	0,507	1,840*	4,909*
7	0,533	2,246	5,670
8	0,587	2,355	5,851

* Ausreisser

** für statistische Auswertung nicht berücksichtigt

Deshalb wurden die Resultate des Laboratoriums 6 für die weiteren Berechnungen gestrichen.

Aus den Resultaten der verbliebenen 7 Laboratorien wurden die Gesamtmittelwerte m , die Wiederholbarkeiten r , die Vergleichbarkeiten R sowie die mittleren relativen Standardabweichungen für Wiederholbedingungen (VK_r) und Vergleichsbedingungen (VK_R) berechnet (Tabelle 3).

Tabelle 3. Statistische Daten (Symbole vgl. Text)

Probe	m	r	R	S_r	S_R	$VK_r (\%)$	$VK_R (\%)$
A	0,611	0,1854	0,2145	0,066	0,076	10,8	12,4
B	2,323	0,1247	0,1883	0,044	0,067	1,9	2,9
C	5,749	0,0707	0,1707	0,025	0,060	0,4	1,0

Diskussion und Schlussfolgerungen

Während die Präzisionsdaten r und R für die Proben B und C mit VK_R zwischen 1 und 3% als sehr gut bezeichnet werden können, zeigt der Wert für die relative Vergleichsstandardabweichung VK_R der Probe A deutlich, dass hier an der Grenze der Leistungsfähigkeit der Methode gemessen wurde.

Das Präzisionsverhältnis r/R beträgt für die Probe A 0,87, was ausserhalb des Erfahrungsbereiches von 0,3 bis 0,7 liegt.

Demgegenüber erhält man für die Proben B und C 0,66 bzw. 0,42.

Der nahe bei 1 liegende Wert r/R für die Probe A zeigt an, dass entgegen den Erwartungen die laborinterne Streuung beinahe ebensogross ist wie diejenige zwischen den Laboratorien. Diese etwas ungewöhnliche Situation lässt sich dadurch erklären, dass bei der Probe A Extinktionsdifferenzen unter 0,1 E gemessen wurden, wo – wie in (2) erwähnt – wesentlich grössere zufällige Fehler zu erwarten sind.

Schliesst man aus den gefundenen statistischen Daten auf den provisorischen Toleranzwert von 1 mg Harnstoff/l Badewasser, muss man dort mit einer relativen Vergleichsstandardabweichung von etwa 10% rechnen, da bei dieser Konzentration an der untern Anwendungsgrenze des Analysensystems gemessen wird. Für Beurteilungen im kritischen Bereich müssen diese 10% in Rechnung gestellt werden.

Trotzdem kann die vorliegende Methode wegen ihrer Einfachheit und Schnelligkeit als geeignet und genügend zuverlässig zur Bestimmung von Harnstoff in Badewasser beurteilt werden.

Dank

Ich danke Herrn Dr. P. Lavanchy, Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Bern, für die statistischen Berechnungen und folgenden Damen und Herren für die Teilnahme am Ringversuch: W. Ettel, Kant. Laboratorium Zug, K. Fetzel, Kant. Laboratorium Frauenfeld, M. Giger, Kant. Laboratorium Zürich, A. Hofer, Kant. Laboratorium Solothurn, J. M. Pasquier, Kant. Laboratorium Fribourg, R. Siegert, Kant. Laboratorium St. Gallen, A. Tuor, Kant. Laboratorium Luzern, U. Vögeli, Kant. Laboratorium Bern.

Zusammenfassung

Eine enzymatische Methode zur Bestimmung von Harnstoff in Badewasser wurde in einem Ringversuch geprüft. Mit zunehmender Harnstoffkonzentration resultierten abnehmende Variationskoeffizienten für Wiederholbedingungen (VK_r) und Vergleichsbedingungen (VK_R). Bei einem Gehalt von 1 mg/l muss mit einem VK_R von 10% gerechnet werden.

Résumé

Une méthode enzymatique de dosage de l'urée dans l'eau de piscine a fait l'objet d'un essai interlaboratoire.

Lorsque les concentrations d'urée augmentent, les coefficients de variation dans les conditions de répétabilité (CV_r) et de reproductibilité (CV_R) diminuent. Pour une concentration d'urée de 1 mg/l, il faut tenir compte d'une valeur de CV_R de 10 %.

Summary

An enzymatic method for the determination of urea in swimming-pool water was tested in a collaborative study. Decreasing coefficients of variation for repeatability (CV_r) and reproducibility (CV_R) resulted with increasing concentrations of urea. For a concentration of 1 mg urea/l results a CV_R of about 10%.

Literatur

1. *Pasquier, J. M.*: Méthode de dosage de l'urée dans l'eau de piscine. *Trav. chim. aliment. hyg.* **76**, 464–469 (1985).
2. Schweizerisches Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band, Kapitel 61A, S. 15–19. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1978.
3. *Walter, E. und Kohler, P.*: Ringversuch für die enzymatische Bestimmung von Glycerin. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **180**, 121–125 (1985).
4. Deutsche Norm DIN ISO 5725 (1981) Präzision von Prüfverfahren. Bestimmung von Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit durch Ringversuche.

Dr. P. Kohler
Kantonales Laboratorium
Kapuzinerstrasse 5
CH-4500 Solothurn