

Eine neue Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn und anderen thierischen Flüssigkeiten.

Von

Otto Folin.

Mit einer Abbildung.

Aus dem chemischen Laboratorium des Mc Lean Hospital für Irrenkranke,
Waverley, Mass., U. S. A.

Der Redaction zugegangen am 22. November 1902

Erneute, in meinem Laboratorium angestellte Versuche haben ergeben, dass meine in dieser Zeitschrift¹⁾ veröffentlichte Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn unrichtige, und zwar zu niedrige Werthe liefert. Der Fehler besteht darin, dass beim Kochen von Harnstofflösungen oder Harn mit Magnesia eine gewisse Menge Ammoniak nach Beendigung dieser Operation in der kochenden Flüssigkeit zurückbleibt und somit nicht mitberechnet wird. Es wäre wohl nicht unmöglich gewesen, diesen meiner früheren Ammoniakbestimmungsmethode anhaftenden Fehler ganz oder theilweise zu beseitigen. Als ich aber mit solchen Versuchen beschäftigt war, kam mir ein anderer Gedanke, den ich dann zu einer neuen, äusserst einfachen und genauen Methode zur Bestimmung des Ammoniaks, nicht nur im Harn, sondern auch in anderen thierischen Flüssigkeiten entwickelt habe.

Das Princip der Methode ist folgendes: der das Ammoniak enthaltenden Flüssigkeit wird ein schwaches Alkali, wie Natriumcarbonat oder Calciumhydrat, zugesetzt; darauf das freigesetzte Ammoniak bei Zimmertemperatur oder sogar in der Kälte durch einen starken Luftstrom ausgetrieben.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 515.

Dieses Princip erscheint jetzt so ausserordentlich einfach und naheliegend, dass es eigentlich sonderbar ist, dass dasselbe nicht schon lange in diesem Sinne Verwerthung gefunden hat. Beim Durchsehen der Ammoniakliteratur bin ich nun in der That auf einen (aus dem Jahre 1850 stammenden) Versuch Boussingault's¹⁾ gestossen, das Ammoniak aus Ammonchlorid nach Zusatz von Calciumhydrat durch einen Luftstrom bei 35—40° C. auszutreiben. Als Boussingault aus 0.5 g Ammonchlorid, in 50 cem Wasser gelöst, nach Zusatz von 3 g Calciumhydrat durch einen fünfständigen Luftstrom nur 148.4 mg NH₃ anstatt die berechneten 160 mg erhielt, verwarf er aber die Methode als unbrauchbar. Boussingault hat anscheinend nur einen einzigen Versuch in der oben genannten Weise ausgeführt und zwar nicht unter sehr geeigneten Bedingungen. Denn erstens benutzte er viel zu viel Ammonchlorid, als dass er alles aus demselben entstehende Ammoniak gut in einer Vorlage hätte auffangen können, und zweitens war der von ihm angewandte Luftstrom (56 Liter per Stunde) zu schwach, um alles Ammoniak in genügend kurzer Zeit auszutreiben.

Uebrigens beschreibt Boussingault in derselben Arbeit eine neue Methode, die er sehr genau ausgearbeitet hat, eine Methode, nach welcher das freigesetzte Ammoniak im Vacuum abdestillirt wird. Es ist dies also genau dasselbe Verfahren, wie es in den letzten Jahren von Wüster,²⁾ Nencki und Zaleski³⁾ und Söldner⁴⁾ beschrieben worden ist.

Schon Lehmann hat nun gegen dieses Destillationsverfahren Einwendungen gemacht, die, obschon nicht schwerwiegend, vielleicht der Grund sind, weshalb die von Neubauer⁵⁾

1) Boussingault, Mémoires de chimie agricole, S. 291; Journ. f. prakt. Chem., Bd. 51, S. 281 (1850); Annales de chimie et de physique, Bd. 29, S. 479.

2) Wüster, Bericht d. deutsch. chem. Gesell., 1889 S. 1903.

3) Nencki u. Zaleski, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 36, S. 385; Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 193.

4) Söldner, Zeitschrift f. Biologie, Bd. 38, S. 237.

5) Neubauer, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 64, S. 177, S. 278.

im Jahre 1855 in der Harnanalyse eingeführte Schlösing'sche¹⁾ Methode die Boussingault'sche so vollständig verdrängen konnte.

Dass die alte Vacuumdestillationsmethode Boussingault's bei richtiger Handhabung aber viel genauere Resultate als die Schlösing-Neubauer'sche Methode liefert, das hat Phil. Shaffer²⁾ in meinem Laboratorium nachgewiesen. Wie unzuverlässig die Schlösing'sche Methode in Wirklichkeit ist, ist wohl ohne Weiteres aus den Vergleichsbestimmungen von Camerer³⁾ und Söldner zu entnehmen. Diese beiden Forscher haben mit denselben Harnen, aber selbständig, in verschiedenen Laboratorien gearbeitet und erhielten nach Schlösing im Mittel aus 17 Harnen Resultate, die eine Differenz von 100 mg NH_3 per Liter aufwiesen. Wenn man die von Söldner nach seinem Destillationsverfahren erhaltenen Ammoniakwerthe als richtig ansehen darf, bedeutet die obige Differenz also eine solche von 25% des gesammten in diesen Harnen enthaltenen Ammoniaks!

Ganz so fehlerhaft ist nun die Schlösing'sche Methode allerdings nicht, wenn man die für dieses Verfahren zweckmässigsten Bedingungen wählt. Diese Bedingungen scheinen aber bislang nicht bekannt zu sein, wie z. B. aus der eben erwähnten Abhandlung Camerer's zu entnehmen ist. Camerer hat nämlich fast jedes Mal mehr Ammoniak erhalten, nachdem er seinen Apparat 3 Tage hatte stehen lassen, als Söldner, der 5 Tage wartete. Camerer führt nun diesen Unterschied auf die geringere Grösse seines Apparates zurück. Das allerwichtigste Moment bei der Ammoniakbestimmung nach Schlösing ist aber die von Shaffer festgestellte und von Neubauer in seiner Originalabhandlung richtig erkannte, aber in seinem von Huppert herausgegebenen Lehrbuche nicht beachtete Thatsache, dass die Harnkalkwasser- oder Harnmagnesiätschicht möglichst dünn (2 mm nicht übersteigend)

1) Schlösing, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 52, S. 372 (1851).

2) Shaffer wird demnächst selbst an anderer Stelle über seine hierüber angestellten Versuche berichten.

3) Camerer jun., Zeitschrift f. Biologie, Bd. 38, S. 236.

sein muss. Um annähernd richtige Resultate zu erhalten, ist es demnach nothwendig, entweder eine sehr kleine Quantität Harn (5 oder höchstens 10 cem) für jede Bestimmung oder als Harnbehälter eine Schale von mindestens 17 mm Durchmesser anzuwenden.

Ein anderer, sehr wichtiger, aber gänzlich unbeachteter Factor bei der Ammoniakbestimmung nach Schlösing ist die Temperatur, bei der die Bestimmung ausgeführt wird. Bei sehr niedrigen Temperaturen, wie etwa 8° oder 10° C., dürfte es wohl überhaupt nicht gelingen, alles Ammoniak des Harns nach Schlösing abzutreiben: bei höheren Temperaturen, wie im Thermostat (37.5°), gelingt dies allerdings ziemlich schnell (in etwa 2 Tagen), aber es werden dabei auch andere stickstoffhaltige Substanzen des Harns bis zu Ammoniak gespalten.

Diese Thatsachen wurden von Shaffer ziemlich leicht festgestellt, nachdem wir mit Hilfe von meiner zu schildernden Methode das präformirte Ammoniak jedes zu untersuchenden Harns genau zu bestimmen vermochten.

Das Princip meiner neuen Methode zur Bestimmung des Ammoniaks ist, wie schon oben angegeben, ausserordentlich einfach: bei der praktischen Ausführung haben sich aber einige Schwierigkeiten eingestellt, deren Beseitigung ziemlich viele Versuche nöthig machte.

I. Um alles Ammoniak aus 25 oder 50 cem alkalisch gemachter Flüssigkeit mittelst Luft in kurzer Zeit (etwa 1 bis 1½ Stunden) auszutreiben, muss der Luftstrom ziemlich stark sein (etwa 600—700 Liter per Stunde). Ein gewöhnliches Wasserstrahlgebläse oder eine gute Wasserstrahlluftpumpe gibt bei 2—3 Atmosphären Wasserdruck einen hierzu genügend starken Luftstrom.¹⁾ Die Luftpumpe ist nicht so zweckmässig wie das Gebläse, kann aber für Ammoniakbestimmungen in 25 cem Harn ganz gut verwendet werden.

II. Harn und eiweiss haltige Flüssigkeiten schäumen sehr stark beim Durchleiten von Luft ebenso wie beim Kochen.

1) In unserem Laboratorium wird das von der Firma Peters und Rost (Berlin) gelieferte Wasserstrahlgebläse Nr. 1803 (mit 2 Injectoren), wie auch die von derselben Firma gelieferte Luftpumpe Nr. 2736 benützt.

Dieses Schäumen ist weniger ausgeprägt bei einem starken, als bei einem schwachen Luftstrom. Um dasselbe fast vollständig zu verhüten, setzt man dem zu untersuchenden Harn ein wenig (5—10 ccm) Petroleum oder Toluol bei. Bei Untersuchung von Blut oder anderen stark eiweisshaltigen Flüssigkeiten muss neben dem Kohlenwasserstoff etwas Methylalkohol zugesetzt werden. Hierdurch wird das Schäumen vollständig beseitigt, nur muss der Alkoholzusatz nach einiger Zeit erneuert werden.

III. Nach Schlösing, wie nach dem Vacuumdestillationsverfahren von Nencki und Zaleski oder von Söldner wird entweder Calciumhydrat oder Magnesiumoxyd benutzt, um Ammoniak aus seinem Salze frei zu machen. Ich habe die Anwendbarkeit einer ganzen Reihe von Alkalien geprüft, erstens auf die Geschwindigkeit, mit der sie Ammoniak aus Ammonsalzen austreiben, und zweitens auf die Geschwindigkeit, mit der sie andere stickstoffhaltige Substanzen bis zu Ammoniak zersetzen.

Bei diesen Untersuchungen wurde ich von dem Gedanken geleitet, dass das Ammoniak aus seinen Salzen durch Metallionen, wie diejenigen von Mg, Ca oder Na, in Freiheit gesetzt wird. Die Zersetzungen von organischen Substanzen dagegen sind hydrolytische Spaltungen und werden nicht durch die obigen Metallionen, sondern (bei Anwendung von Alkalien) durch Hydroxylionen bewirkt. Aus diesem Grunde habe ich vor allem die Carbonate von Natrium und Kalium auf ihre Anwendbarkeit untersucht und habe sie auch in der That zweckmässiger als die Hydrate von Calcium oder Magnesium gefunden. Eine 4%ige Natriumcarbonatlösung, die mit Natriumchlorid gesättigt ist, zersetzt Ammonsalze ebenso schnell wie eine gesättigte Calciumhydratlösung. Letztere bewirkt aber viel schneller die hydrolytische Abspaltung von Ammoniak aus gewissen organischen Substanzen, wie z. B. Witte's Pepton.

Die obigen Betrachtungen sind von nur untergeordneter Bedeutung, soweit es sich um Ammoniakbestimmungen normalen menschlichen Harns handelt, denn letzterer enthält an-

scheinend keine Substanzen, aus denen Ammoniak unter den genannten Bedingungen abgespaltet wird. Bei Ammoniakbestimmungen im Blut (wenigstens Lebervenenblut) dagegen, das ja reich an verschiedenen labilen organischen Verbindungen ist, können auch schwächere Alkalien, wie Calcium- oder Magnesiumhydrat, bei Zimmertemperaturen (20—25°) hydrolytische Ammoniakabspaltungen bewirken.

Nach diesem Befunde erscheint mir auch das letzte Verfahren von Nencki und Zaleski,¹⁾ nach welchem der Ammoniakgehalt des Blutes durch eine 5stündige Vacuumdestillation bei 35—37°, unter Zusatz von Magnesiumoxyd (anstatt des früher angewandten Calciumhydrats), kaum genügend begründet. Ich habe, wenigstens nach der Vacuumdestillationsmethode, nicht richtige Zahlen erhalten können. Schon während der ersten 5stündigen Destillation habe ich etwas zu hohe Werthe erhalten, und wenn ich die Destillation während einer zweiten 5stündigen Periode fortsetzte, waren wieder beträchtliche Mengen Ammoniak vorhanden.

Hiermit soll aber nicht behauptet werden, dass die Vacuumdestillationsmethode in den Händen der Petersburger Forscher nicht annähernd richtige Zahlen geben kann. Sie haben ja den Ammoniakgehalt des Arterienblutes als nur 0,4 mg NH₃ per 100 g Blut festgestellt, während nach meiner Methode jedesmal 0,5 bis 0,6 mg NH₃ per 100 cem im Arterienblut erhalten wurde. In dem Lebervenenblut verdauender Hunde habe ich andererseits nur 1 bis 1,2 mg NH₃ per 100 cem Blut gefunden anstatt 1,85 mg, wie es Nencki, Zaleski und deren Mitarbeiter als Normalwerth aufstellen. Weiter habe ich in aus Hundelebern herausgepresstem Leberbrei nur etwa 7 mg NH₃ per 100 cem gefunden, anstatt des von den genannten Forschern gegebenen Normalwerthes von 23 mg.

An dieser Stelle möchte ich auch erwähnen, dass die Angabe Nencki's und Zaleski's, das präformirte Ammoniak des Blutes könne eben so gut ohne Alkalizusatz wie mit einem solchen ausgetrieben werden, meinen Erfahrungen nicht ent-

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXXIII. S. 193.

spricht. Weder nach dem Petersburger Vacuumdestillationsverfahren noch nach meiner Methode habe ich diese Angabe bestätigen können.

IV. Die Geschwindigkeit, mit der Ammoniak aus einer alkalischen Flüssigkeit mittelst eines Luftstroms ausgetrieben wird, hängt nicht nur von der Stärke des Luftstroms und der Art und Concentration des Alkalis, sondern auch zu einem grossen Theil von der Temperatur der Flüssigkeit ab. Derselbe Luftstrom, der aus 25 cem 4%iger Natriumcarbonatlösung 34 mg Ammoniak (20 cem n_{10} NH_3) bei 25–30° C. in einer halben Stunde quantitativ austreibt, braucht etwa eine Stunde bei 20° C.: und wenn schliesslich die Flüssigkeit (diesmal 50 cem) durch Eis abgekühlt ist, braucht derselbe Luftstrom 4 Stunden, um die halbe Menge Ammoniak (also etwa 10 cem n_{10} NH_3) aus 50 cem Flüssigkeit auszutreiben.

Bei dieser Gelegenheit sei auch bemerkt, dass beim Arbeiten mit frischem Hundeharn die Vacuumdestillationsmethoden sicherlich weiterer Prüfungen auf ihre Genauigkeit bedürfen, denn sie geben hier immer etwas höhere Werthe als meine bei niedrigeren Temperaturen ausgeführte Methode.

V. Das durch Luft aus einer alkalischen Flüssigkeit ausgetriebene Ammoniak wird nicht so vollständig von einem Gemenge von Wasser und n_{10} Säure in der Vorlage zurückgehalten, als dies beim Abdestilliren des Ammoniaks nach Kjeldahl der Fall ist. Beim Arbeiten mit Harnproben, die nicht mehr als 10 cem n_{10} NH_3 enthalten, bietet das Absorbiren des Ammoniaks durch die Säure keine Schwierigkeiten. Enthält jedoch die zu untersuchende Flüssigkeit grössere Mengen Ammoniak, dann muss für deren vollständige Absorption durch besondere Einrichtungen gesorgt werden. Hat man zu derselben Zeit nur eine einzige Ammoniakbestimmung zu machen, dann geschieht dies am einfachsten dadurch, dass man die Ammoniak enthaltende Luft aus der ersten durch eine zweite mit etwa n_{10} Säure und Wasser beschickte Vorlage durchleitet. In der zweiten Vorlage werden dann auch die letzten Spuren Ammoniaks zurückgehalten.

Ein besonderer Vortheil meiner Ammoniakbestimmungs-

methode ist es, dass zu gleicher Zeit, unter Benützung desselben Luftstroms, zwei oder mehrere Ammoniakbestimmungen gemacht werden können, indem die den ersten Apparat durchströmende Luft durch einen zweiten, dritten u. s. w. Apparat durchgeleitet wird. Ich habe so ohne Schwierigkeit zu derselben Zeit vier Ammoniakbestimmungen in etwa 2 Stunden ausgeführt.

Wenn jedoch mehrere solche Bestimmungen zu gleicher Zeit gemacht werden, ist es nicht bequem, zwei Vorlagen für jede Ammoniakbestimmung zu benützen. Deshalb habe ich folgende einfache Einrichtung getroffen, um alles Ammoniak (wenigstens bis zu 40 cem $n/10$ NH_3) in einer einzigen Vorlage zurückzuhalten: A ist ein Glasrohr (8 mm Durchmesser), das bei a in eine kleine Kugel ausgeblasen ist, in welche mittelst eines erhitzten Platindrahtes 5 oder 6 kleine Oeffnungen (etwa 1 mm Durchmesser) gestossen werden. C ist ein Gummistopfen, der in die zweite Röhre B passt. B ist ein etwa 7.5 cm vom oberen Ende abgeschnittenes Reagensglas (2.5 cm Durchmesser), in welchem sich bei b etwa 6 oder 7 Oeffnungen in einer Entfernung von 3 cm vom oberen Ende des Reagensglases befinden (von derselben Grösse oder besser etwas grösser wie die Oeffnungen in Röhre A).

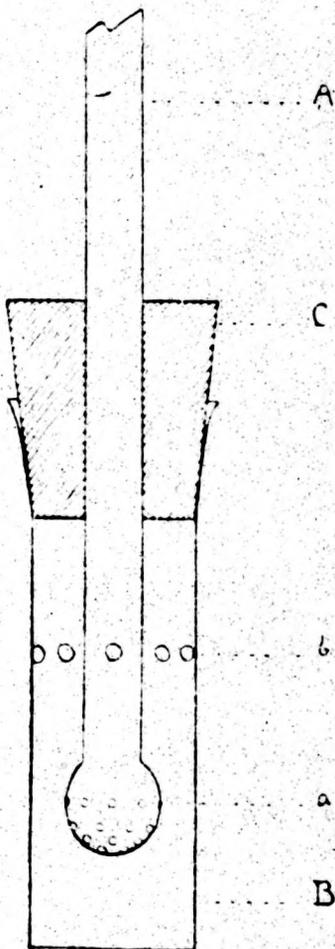
Wenn die Röhren A und B durch den Gummistopfen C zusammengefügt und in die Vorlage eingetaucht sind, so kommt die Ammoniak enthaltende Luft zuerst bei a und später auch bei b mit der Säure der Vorlage in Berührung. Jede Spur von Ammoniak wird dadurch in der Säure enthaltenden Vorlage zurückgehalten, auch wenn nur ein verhältnissmässig kleiner Ueberschuss (5—10 cem) an $n/10$ Säure in der Vorlage vorhanden ist.

VI. Es bleibt noch eine Bedingung übrig, die bei Ammoniakbestimmungen nach der hier beschriebenen Methode nicht unbeachtet bleiben darf. Ein starker Luftstrom, welcher durch eine alkalische Flüssigkeit geleitet wird, kann bisweilen (besonders bei Anwendung der Luftpumpe anstatt des Gebläses) aus der Flüssigkeit eine sehr kleine, aber doch beachtenswerthe Menge Alkali mechanisch in die die $n/10$ Säure enthaltende

Vorlage hinüberreißen. Um dies vollständig zu verhindern, ist es zweckmässig, die aus der alkalischen Flüssigkeit ausströmende Luft zuerst durch ein gewöhnliches Chlorecaliumrohr oder durch einen sogenannten Vorstoss, in welchem etwas Baumwolle vorhanden ist, zu leiten. Die Wolle hält jede Spur von Alkali zurück.

VII. Es muss schliesslich noch erwähnt werden, dass bei diesen Untersuchungen

Alizarinroth als Indicator benutzt wurde. Dieser Indicator ist wohl etwas weniger empfindlich als andere; bei etwas Uebung ist es aber leicht, den Endpunkt der Titration genau bis auf 0,05 cem $n/20$ Normallauge festzustellen. Nur darf man nicht zu viel von dem Indicator benutzen (zwei Tropfen 1%iger Lösung in 200—300 cem Flüssigkeit genügt), auch soll man nur bis zu Rothfärbung und nicht bis zu Violettfärbung titrieren. Alizarinroth hat den Vorzug, dass mässige Mengen Kohlensäure, Ammonsalze oder die organischen Lösungsmittel, Methylalkohol, Petroleum oder Toluol die Titration nicht stören.



Dies ist darum wichtig, weil aus Harn, wie aus Blut, neben dem Ammoniak durch den Luftstrom auch eine mir unbekannt stickstoffhaltige Substanz ausgetrieben wird, die zum Theil in der Vorlage zurückbleibt. Die Substanz ist labil und wird durch Kochen bei alkalischer, wie bei saurer Reaction unter Ammoniakabgabe gespalten. Man wird dem-

nach etwas zu hohe Werthe erhalten, wenn man die Vorlage vor der Titration zum Kochen erhitzt oder das darin enthaltene Ammoniak zuerst abzudestilliren versucht.

Bei Ammoniakbestimmungen im Blut, bei denen der Luftstrom eine niedrige Temperatur besitzt, wird allerdings genug Kohlensäure in der Vorlage zurückgehalten, um den Endpunkt der Titration etwas zu erhöhen und weniger scharf zu machen. Hier ist es demnach zweckmässig, diese Kohlensäure in der Weise zu entfernen, dass die Vorlage während der letzten 15 Minuten des Durchleitens von Luft in erwärmtes Wasser (30° C.) eingetaucht wird. Die störenden Mengen Kohlensäure werden dann durch den Luftstrom vollständig entfernt.

Das präformirte Ammoniak des Harns wird demnach in folgender Weise bestimmt:

25 ccm Harn werden in einem Araometereylinder von etwa 15 cm Höhe und 5 cm Durchmesser (der Cylinder kann aber auch kleiner sein) abgemessen, sodann werden 8—10 g Natriumchlorid, 5—10 ccm Petroleum oder Toluol und zuletzt etwa 1 g getrocknetes Natriumcarbonat dem Harn zugesetzt. Ein starker Luftstrom wird nun durch den Harn geleitet, bis alles Ammoniak ausgetrieben ist, was bei 20—25° C., unter Anwendung von 600—700 Litern Luft per Stunde, 1—1½ Stunden in Anspruch nimmt. Die aus dem Harn ausströmende, Ammoniak enthaltende Luft geht zuerst durch einen Baumwollepfropf, damit Spuren von mechanisch mitgerissenem Alkali zurückgehalten werden, und wird darnach entweder durch zwei n 10 Säure + Wasser enthaltende Vorlagen oder unter Anwendung der oben beschriebenen Absorptionseinrichtung durch eine Vorlage geleitet. Der Ammoniakgehalt des Harns wird erhalten durch Zurücktitrirung der in der Vorlage enthaltenen Zehntelnormalsäure unter Anwendung eines geeigneten Indicators (Alizarinroth).

Anstatt 25 ccm Harn können 50 oder auch 100 ccm benutzt werden, nur muss der Luftstrom dann länger (etwa 1½—2½ Stunden bei 20—25° C.) fortgesetzt werden, um das Ammoniak quantitativ auszutreiben.

Um zwei oder mehrere Ammoniakbestimmungen zu der-

selben Zeit mit demselben Luftstrom auszuführen, wird die aus dem ersten (aus Cylinder und Vorlage bestehenden) Apparat ausströmende Luft durch einen zweiten, dritten u. s. w. Apparat geleitet.

Um das oben Gesagte zu beleuchten, mögen nun aus meinem Protocolle einige der wichtigsten Versuche wiedergegeben werden.

1. Aus 50 ccm Ammonchloridlösung wurden beim Destilliren mit Natronlauge **42,75** ccm n_{10} NH_3 erhalten.

25 ccm dieser Lösung + MgO, mit dem Luftstrom bei 23°C . behandelt, ergab

während der ersten 2 Stunden in der ersten Vorlage	20,4	ccm n_{10} NH_3
" " " 2 " " zweiten	0,6	" " "
" " " der nächsten $\frac{3}{4}$ Stunde	0,4	" " "
" " " " " " zweiten	0	" " "
	21,4	ccm n_{10} NH_3

2. 50 ccm. — MgO (23°C .) mit dem Luftstrom behandelt, ergab während der ersten 45 Minuten 36,3 ccm n_{10} NH_3

" " " nächsten 30	3,5	" " "
" " " " 60	2,85	" " "
" " " " 30	0,2	" " "
	42,85	ccm n_{10} NH_3

3. 25 ccm — 10 ccm 10° ige Natronlauge (22°C .) mit dem Luftstrom behandelt, ergab

während der ersten Stunde in der ersten Vorlage	21,1	ccm n_{10} NH_3
" " " " " zweiten	0,3	" " "
" " " " " ersten	0	" " "
	21,4	ccm n_{10} NH_3

4. 25 ccm + 3 g NaHCO_3 (22°C .) mit dem Luftstrom behandelt, ergab

während der ersten 75 Minuten in der ersten Vorlage	15,8	ccm n_{10} NH_3
" " " 75 " " zweiten	0,2	" " "
" " " nächsten 45	4,45	" " "
" " " " " " ersten	0,95	" " "
	21,4	ccm n_{10} NH_3

5. 50 ccm + 2 g Na_2CO_3 + 15 g NaCl (23°C .) mit dem Luftstrom behandelt, ergab

während der ersten $1\frac{1}{2}$ Stunden in der ersten (mit Absorptionsröhre versehenen) Vorlage **42,75** ccm n_{10} NH_3 , in der zweiten Vorlage 0.

6. 50 ccm Ammonchloridlösung (**10,625** ccm n_{10} NH_3 enthaltend)

sehr gut mit Eis abgekühlt + 2 g Na_2CO_3 + 15 g NaCl mit dem Luftstrom behandelt ergab

während der ersten 2 Stunden	9,9	ccm n_{10} NH_3
der nächsten Stunde	(0,9 ccm n_{20}) = 0,45	" " "
" " " "	(0,5 " " ") = 0,275	" " "
	10,625	ccm n_{10} NH_3

7. 50 ccm Ammonchloridlösung (21,3 ccm n_{10} NH_3 enthaltend) + 10 ccm Kalkmilch, mit Eis möglichst gut abgekühlt, mit dem Luftstrom behandelt ergab

während der ersten 2 Stunden	20,75	ccm n_{10} NH_3
der nächsten Stunde	0,5	" " "
	21,25	ccm n_{10} NH_3

8. 25 ccm Harn + 1 g Na_2CO_3 + 10 ccm. Petroleum + 10 g NaCl (23° C.), mit dem Luftstrom behandelt, ergab

nach den ersten 30 Minuten	9,2	ccm n_{10} NH_3
" " nächsten 30 "	0,2	" " "
" " " " 60 "	0,0	" " "
	9,4	ccm n_{10} NH_3

9. Eine genaue Wiederholung des Versuches ergab nach 1 $\frac{1}{4}$ stündiger Behandlung mit dem Luftstrom 9,45 ccm n_{10} NH_3 .

10. 25 ccm desselben Harns + 3 $\frac{1}{2}$ g KHCO_3 + 10 ccm Petroleum (22° C.) ergab

während der ersten 50 Minuten	6,5	ccm n_{10} NH_3
" " nächsten 50 "	2,2	" " "
" " " " 45 "	0,4	" " "
" " " " 50 "	0,1	" " "
" " " " 75 "	0,3	" " "
	9,5	ccm n_{10} NH_3

11. 25 ccm eines anderen Harns + 1 g Na_2CO_3 + 10 g NaCl + Petroleum (bei Zimmertemperatur), mit dem Luftstrom während 1 $\frac{1}{2}$ Stunden behandelt, ergab 7,1 ccm n_{10} NH_3 .

12. 25 ccm desselben Harns + 10 ccm Kalkmilch + Petroleum (Zimmertemperatur), mit dem Luftstrom während 1 $\frac{1}{2}$ Stunden behandelt, ergab 7,1 ccm n_{10} NH_3 .

13. 25 ccm desselben Harns + 1 g Na_2CO_3 + 10 g NaCl + Petroleum ergab nach 10 stündiger Behandlung mit dem Luftstrom bei Zimmertemperatur 7,15 ccm n_{10} NH_3 .

14. 25 ccm Harn + 1 g Na_2CO_3 + 10 g NaCl + Petroleum ergab nach 50 Minuten langer Behandlung mit dem Luftstrom (23° C.) 9,5 ccm n_{20} NH_3 . Nach einer zweiten Luftstrombehandlung von 50 Minuten wurde keine Spur von Ammoniak erhalten.

15. 25 cem des gleichen Harns wurden in eine grosse Krystallisirschale (17 cem Durchmesser) abgemessen und das Ammoniak nach Schlösing unter Zusatz von MgO bestimmt.

Nach 72stündigem Stehen bei Zimmertemperatur ($20-23^{\circ}$) wurde erhalten

$$6.1 \text{ cem } n_{20} \text{ NH}_3$$

Weiteres 15stündiges Stehen = 0.8

$$6.9 \text{ cem } n_{20} \text{ NH}_3$$

Der Inhalt der Krystallisirschale wurde darauf in den Luftstrom-Apparat hineingespült. Nach Zusatz von Natriumcarbonat und Petroleum wurde daraus durch 1stündigen Luftstrom erhalten **2.7** cem n_{20} NH_3 .

16. 25 cem frischen Hundeharns + 1 g Na_2CO_3 + 10 g NaCl + Petroleum ergab nach $1\frac{1}{2}$ stündiger Behandlung mit dem Luftstrom (20°C) **29.75** cem n_{16} NH_3 .

Nach einer zweiten 1stündigen Behandlung mit dem Luftstrom wurde keine Spur von Ammoniak erhalten.

17. 25 cem desselben Hundeharns, mit Eis gut abgekühlt, ergab nach 11stündiger Behandlung mit dem Luftstrom **29.9** cem n_{16} NH_3 .

Diese Harnprobe, aus der somit alles Ammoniak in der Kälte ausgetrieben war, wurde darnach einer Vacuumdestillation unterworfen. Es wurde erhalten 1.1 cem n_{20} NH_3 .

Im Blut werden Ammoniakbestimmungen in folgender Weise ausgeführt:

50 cem Blut werden im oben beschriebenen Araometer-Cylinder abgemessen und der Cylinder in Eis gut eingepackt; sodann werden 16 g Natriumchlorid, 25 cem Methylalkohol und zuletzt 2 g getrocknetes oder 5 g krystallisiertes Natriumcarbonat zugesetzt und die Durchleitung des Luftstroms 5 Stunden lang fortgesetzt. (Nach den ersten zwei Stunden ist es wegen des Schäumens nothwendig, noch etwa 25 cem Methylalkohol der Blutprobe hinzuzufügen.) Die Vorlage soll nur 10 cem n_{20} Säure neben Wasser enthalten. Während der letzten 15 Minuten der Luftstrombehandlung oder, besser, nach Beendigung derselben, muss die Vorlage in Wasser von $30-35^{\circ}$ eingetaucht werden, damit die darin zurückgehaltene Kohlensäure mit dem Luftstrom vor der Titrirung entfernt werden kann. Das Blut muss möglichst frisch sein, weil man sonst zu hohe und auch in anderer Weise unzuverlässige Resultate erhält.

Um Vergleichsbestimmungen des Ammoniakgehaltes vom Arterien- und Venenblute eines Thieres zu machen, werden

beide Blutproben zu gleicher Zeit wie oben behandelt, d. h. derselbe Luftstrom, der benutzt wird, um das Ammoniak aus der einen Blutprobe auszutreiben, wird auch durch die zweite Blutprobe hindurchgeleitet.

Es ist möglich, dass der wahre Ammoniakgehalt in absolut frischem Blut auch ohne Anwendung von Eis bei Zimmertemperatur und in kurzer Zeit, wie beim Harn, erhalten werden kann. Beim Durchsehen meiner Protokolle finde ich in der That, dass alle mit ganz frischem Blut unter Anwendung von Natriumcarbonat oder Natriumbicarbonat (nicht aber solche, bei denen Kalkmilch zur Anwendung kam) ausgeführten Versuche normale Ammoniakwerthe für Erstickungsblut ergeben haben. Doch kann ich nicht dafür einstehen, dass in dieser Weise immer richtige Zahlen zu erhalten sind. Es kann dies nur durch weitere Untersuchungen sichergestellt werden, zu deren Ausführung mir aber die Zeit fehlt.

18. Eine Hündin wurde Morgens 4 Uhr 45 mit Fleisch gefüttert. 10 Uhr 30 wurde sie mit Chloroform und Aether narkotisirt und Blutproben aus der Aorta und aus der Vena Porta entnommen.

50 ccm Arterienblut + 16 g NaCl + 2 g Na_2CO_3 + 25 ccm Methylalkohol, mit Eis gut abgekühlt, wurden während $4\frac{3}{4}$ Stunden mit dem gewöhnlichen starken Luftstrom behandelt und das Ammoniak in 10 ccm n_{20} HCl + etwa 150 ccm Wasser aufgefangen. Beim Titriren wurde erhalten 0,35 ccm n_{20} NH_3 . Eine zweite $4\frac{3}{4}$ stündige Luftstrombehandlung gab keine Spur von Ammoniak.

50 ccm Lebervenenblut, zu gleicher Zeit mit demselben Luftstrom behandelt, ergab während der ersten $4\frac{3}{4}$ stündigen Periode 0,6 ccm n_{20} NH_3 und während der zweiten, gleich langen Periode, 0,1 ccm n_{20} NH_3 .

50 ccm des obigen Arterienblutes + 150 ccm Wasser + MgO wurden gleichzeitig einer Vacuumdestillation nach Nencki und Zaleski unterzogen. Aus der ersten 5 stündigen Destillation wurde erhalten 0,45 ccm n_{20} NH_3 . Nach Zusatz von 100 ccm Wasser wurde der Rückstand sogleich einer zweiten 5 stündigen Destillation unterworfen und noch 0,2 ccm n_{20} NH_3 erhalten.

19. Ein grosser Hund wurde um 7 Uhr Morgens mit Fleisch gefüttert, um 10 Uhr 30 wie oben narkotisirt, und Blutproben aus der Vena Cava und aus der Aorta entnommen.

50 ccm Venenblut + 16 g NaCl + 2 g Na_2CO_3 + 25 ccm Methylalkohol, mit Eis gekühlt, wurde mit dem Luftstrom während zweimal 5 Stunden behandelt. Die erste Periode ergab 0,35 ccm n_{20} NH_3 , die zweite Periode 0.

50 cem Arterienblut, in gleicher Weise behandelt, ergab während der ersten Periode **0,35** cem n_{20} NH_3 , während der zweiten Periode **0**.

Die Leber dieses Hundes, zuerst im Mörser (ohne Sand) zerrieben, wurde durch ein dünnes Tuch gepresst. Der so gewonnene Leberbrei wurde mit zwei Volumen Wasser gut ungerührt und 50 cem dieser Flüssigkeit ($16\frac{2}{3}$ cem Leberbrei entsprechend) für eine Ammoniakbestimmung entnommen. Derselbe Luftstrom, der für obige zwei Blutproben benutzt worden war, wurde auch für diesen auch mit Eis abgekühlten Leberbrei verwendet. Die erste 4stündige Periode ergab **1,25** cem n_{20} NH_3 , die zweite 4stündige Periode **0,1** cem n_{20} NH_3 — entsprechend also **6,9** mg NH_3 per 100 cem Leberbrei.

20 50 cem Erstickungsblut + 10 cem Petroleum + 15 cem Methylalkohol + 10 cem Kalkmilch wurden bei Zimmertemperatur für zwei je 3stündige Perioden mit dem Luftstrom behandelt. Die erste Periode ergab **0,4** cem n_{20} NH_3 ; die zweite Periode ergab **0,2** cem n_{20} NH_3 .

50 cem desselben Blutes, mit $\text{NaCl} + \text{Na}_2\text{CO}_3$ anstatt Kalkmilch, aber sonst in ganz derselben Weise und mit demselben Luftstrom behandelt, ergab während der ersten Periode **0,4** cem n_{20} NH_3 , während der zweiten Periode **0**.

21. 50 cem frischen Erstickungsblutes + $3\frac{1}{2}$ g Natriumbicarbonat + 16 g NaCl + Petroleum und Methylalkohol wurden 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur mit dem Luftstrom behandelt. Es wurde erhalten **0,3** cem n_{20} NH_3 . Eine zweite 1stündige Luftstrombehandlung ergab höchstens **0,05** cem n_{20} NH_3 .

50 cem desselben Blutes + Petroleum und Methylalkohol wurden gleichzeitig, aber ohne Alkalizusatz, bei Zimmertemperatur $2\frac{1}{2}$ Stunden lang mit dem Luftstrom behandelt. Nur **0,1** cem n_{20} NH_3 (**0,17** mg NH_3 per 100 cem Blut entsprechend) wurde erhalten.

100 cem desselben Blutes wurde einer 5stündigen Vacuumdestillation nach Nencki und Zaleski, ohne Alkalizusatz, unterzogen. Nur **0,1** cem n_{20} NH_3 (entsprechend **0,085** mg per 100 cem Blut) wurde erhalten.

22. Leber Salaskin's und Mar. Lawrow's Bestimmungsmethode der Blutalkalinität.¹⁾

10 cem Erstickungsblut + 150 cem Wasser + 1 g Ammonsulfat wurden einer 3stündigen Vacuumdestillation nach Nencki und Zaleski unterzogen. Es wurde erhalten **6** cem n_{10} NH_3 .

Eine zweite 3stündige Destillation ergab weitere **2,2** cem n_{10} NH_3 .

10 cem desselben Blutes + 1 g Ammonchlorid + etwas Petroleum und Methylalkohol wurde $2\frac{1}{2}$ Stunden lang bei Zimmertemperatur mit dem Luftstrom behandelt. Erhalten wurde **9,8** cem n_{10} NH_3 . Eine

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 553.

zweite 2 $\frac{1}{2}$ stündige Luftstrombehandlung ergab aber 1.4 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$.
Eine dritte 2 $\frac{1}{2}$ stündige Behandlung ergab noch 1 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$.

Ein anderes Mal wurden 10 cem frisches Erstickungsbluts + 1 g Ammonsulfat (aber ohne Wasserzusatz) einer Vacuumdestillation bei 37—40° C. unterzogen. Der Inhalt des Destillationskolbens war schon nach 30 Minuten vollständig eingetrocknet. Die Destillation wurde aber 2 $\frac{1}{2}$ Stunden lang fortgesetzt. Es wurde erhalten 10.2 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$.

Darauf wurden 10 cem Wasser in den Destillationskolben hineingespült und der Inhalt einer zweiten 2 $\frac{1}{2}$ stündigen Destillation bei 37—40° unterzogen. Diesmal wurde 2.3 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$ erhalten.

10 cem desselben Blutes + 1 g (NH $_4$) $_2$ SO $_4$ + 10 cem Methylalkohol wurden bei Zimmertemperatur 2 $\frac{1}{2}$ Stunden lang mit dem Luftstrom behandelt. Es wurde erhalten 8.1 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$.

Eine zweite 2 $\frac{1}{2}$ stündige Luftstrombehandlung ergab 1.15 cem n $\frac{1}{10}$ NH $_3$.

Das diesen letzten Versuchen zu Grunde liegende Princip scheint mir daher für die Alkalinitätsbestimmung des Blutes unbrauchbar.