

Zur Methodik der Ammoniakbestimmung.

Von

Alfred Schittenhelm.

Aus der medizinischen Klinik der Universität Breslau
(Der Redaktion zugegangen am 9. Juni 1903.)

Mit der alten Schlösing-Neubauerschen Methode der Ammoniakbestimmung werden nur annähernde Werte gefunden. Dieselben sind zwar für den Ammoniakgehalt des Urins noch relativ brauchbare, zu der Bestimmung des Ammoniakgehaltes von Blut und Geweben ist die Methode jedoch so gut wie nicht verwendbar. Es haben sich daher in den letzten Jahren verschiedene Forscher mit der Methodik der Ammoniakbestimmung beschäftigt, in der Absicht, an Stelle der mehrere Tage dauernden und ungenauen alten Methode eine genügend genaue und schnell auszuführende neue zu setzen.

Wurster¹⁾ suchte diese Übelstände durch die Destillation im Vacuum zu beseitigen, eine Methode, wie sie mehrere Jahrzehnte früher schon von Boussingnault²⁾ angegeben war, ohne daß sie jedoch damals eine verbreitetere Anwendung gefunden hätte. Söldner³⁾ und Nencki und Zaleski⁴⁾ haben die Methode modifiziert. Der relativ komplizierte Apparat, welcher auch in seinen Modifikationen nicht vereinfacht ist, war wohl der Hauptgrund, weshalb die Methode keine allgemeine Anwendung gefunden hat. Eine von Folin⁵⁾ angegebene

¹⁾ Zentralblatt f. Physiologie 1887, S. 485.

²⁾ Journal f. prakt. Chem., Bd. 51, S. 281 (1850).

³⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. 38, S. 237.

⁴⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXXVI, S. 385.

⁵⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXII und XXXVII.

Methode ist inzwischen von dem Autor selbst als fehlerhaft erkannt worden.

Krüger und Reich¹⁾ haben eine Modifikation der Wursterschen Methode angegeben, welche, da sie bis jetzt nur in der Dissertation von Reich publiziert ist, offenbar noch nicht weiter bekannt geworden ist. Die Modifikation besteht in der Verwendung von Alkohol als Zusatz bei der Vacuumdestillation, wodurch einerseits die Siedetemperatur herabgesetzt, andererseits das lästige Schäumen des mit Alkali versetzten Urins so sehr vermindert wurde, daß eine Vereinfachung des Apparates möglich wurde. Die Methode ist die folgende: In einem Destillationskolben werden 25 ccm Harn mit 10 ccm Kalkmilch und 10 ccm säurefreiem 96°-igen Alkohol gemischt und nun mit der als Vorlage dienenden Peligotschen Röhre verbunden, welche 25 ccm $\frac{N}{10}$ Normalsalzsäure enthält und gut in Eis gekühlt ist. Der zweite Schenkel der Peligotschen Röhre ist mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Die Destillation geschieht durch Erhitzen des ersten Kolbens im Wasserbade, dessen Temperatur 43° nicht überschreiten soll, unter einem Druck von 30—40 mm Quecksilber. 17 Minuten nach Beginn des lebhaften Siedens ist die Destillation beendet. Dann läßt man zum Schlusse durch einen am Destillationskolben angebrachten Quetschhahn 10 ccm Alkohol zu, welcher den Kolbeninhalt wieder in lebhaftes Sieden bringt und die in der Überleitungsröhre befindlichen Wassertropfen wegspült. Jetzt wird die Wasserstrahlpumpe nach vorherigem Abklemmen ihrer Verbindung mit der Peligotschen Röhre abgestellt, darauf durch den am Destillationskolben angebrachten Quetschhahn die Luft in den Kolben und in die Vorlage eingelassen und endlich der Inhalt der Peligotschen Röhre mit $\frac{N}{10}$ Normalnatronlauge zurücktitriert, wobei Rosolsäure als Indikator benutzt wird.

Vor kurzem hat Folin²⁾ eine neue Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn und anderen tierischen Flüssigkeiten angegeben. Dieselbe beruht darauf, daß aus der

¹⁾ J. A. Breslau 1902.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, S. 161.

das Ammoniak enthaltenden Flüssigkeit, nach Zusatz eines schwachen Alkalis, wie Natriumcarbonat oder Calciumhydrat, das freigesetzte Ammoniak bei Zimmertemperatur oder sogar in der Kälte durch einen starken Luftstrom ausgetrieben wird. Der Luftstrom muß ziemlich stark sein (600—700 l. per Stunde), um aus 25 oder 50 ccm Flüssigkeit alles Ammoniak in 1—1½ Stunden auszutreiben. Ich will hier sofort bemerken, daß ich mit dieser Methode keine Kontrollversuche anstellen konnte, da sich bald ergab, daß unsere Wasserstrahlluftpumpen offenbar keinen genügend starken Luftstrom erzeugen konnten, um alles Ammoniak auszutreiben.

Da ich mich zum Zwecke ausgedehnter Untersuchungen des Ammoniakgehaltes vom Urin¹⁾ der Krüger-Reichschen Modifikation der Wursterschen Methode bedienen wollte, habe ich dieselbe einer Kontrolle unterzogen, wobei sich ergab, daß sie für den Urin ausgezeichnete Resultate liefert. Eine Reihe von 20 Doppelbestimmungen in je 30 ccm Harn ergab als höchste Differenz zwischen den einzelnen Versuchen 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure, entsprechend 0,34 mg Ammoniak, als mittlere Differenz aber nur 0,081 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure = 0,1377 mg Ammoniak. Höhere Differenzen als 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure wurden nie erhalten. Beim nochmaligen Destillieren des Rückstandes von drei verschiedenen Versuchen durch 20 Minuten hindurch nach Zusatz von weiteren 10 ccm Kalkmilch, 15 ccm Wasser und 20 ccm Alkohol wurden für Ammoniak verbraucht: 0,07, 0,05, 0,05 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure. Es genügte also ein Tropfen der $\frac{1}{10}$ Normalsäure zur Bindung des bei der Nachdestillation übergegangenen Ammoniaks. Hiernach kann eine Zersetzung stickstoffhaltiger Körper im Urin durch diese Methode ausgeschlossen werden und ich habe daher von Kontrollversuchen mittels Harnstofflösungen u. s. w. um so eher Abstand genommen, als Reich schon genaue Versuche damit anstellte. Meine Versuche stimmen mit den von Reich ausgeführten gut überein. Es ist demnach die Krüger-Reichsche Methode

¹⁾ Die Arbeit wird in einem der nächsten Hefte des Archivs für klinische Medizin erscheinen.

eine für die Ammoniakbestimmung im Urin durchaus vollkommene, welche vor allem infolge ihrer einfachen Ausführung sich für klinische Zwecke vorzüglich eignet.

Die Anwendung der Methode zur Bestimmung des Ammoniakgehaltes der Faeces stieß dagegen auf Schwierigkeiten, insofern sich ergab, daß dabei eine gleichmäßig verlaufende Zersetzung stickstoffhaltiger Körper stattfand. Zu diesen Versuchen zerrieb ich ganz frische Faeces in der Reibschale aufs feinste mit $\frac{1}{2}\%$ iger Salzsäurelösung. Darauf füllte ich das Ganze auf ein bestimmtes Volumen auf und nahm davon zu den einzelnen Bestimmungen 30—50 cem. Die Doppelbestimmungen mittels der Krüger-Reichschen Methode ergaben im Anfang scheinbar übereinstimmende Resultate. Als ich jedoch den Rückstand mehrmaliger Nachdestillation unter nochmaligem Zusatz von Wasser, Kalkmilch und Alkohol unterwarf, ergab sich, daß von 30 zu 30 Minuten stets genau eine Ammoniakmenge frei wurde, welche 1 cem $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprach. Ein Versuch, diesen Mißstand durch eine Herabsetzung der Temperatur zu heben, indem ich an Stelle des Äthylalkohols Methylalkohol verwandte und anfangs bei 36° , dann bei 33° destillierte, mißlang, indem sich sofort zeigte, daß auch hier eine gleichmäßige Zersetzung von stickstoffhaltigen Körpern, wenn auch in weniger breitem Maßstabe, stattfand. Ich erhielt bei den Nachdestillationen Ammoniakmengen, welche 0,37, 0,41 und 0,31 usw. cem $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprachen. Es ist daraus ersichtlich, daß nicht die Temperatur, sondern wahrscheinlich das angewandte Alkali die Schuld am Mißlingen traf.

Beim Suchen nach einem geeigneten Alkali verwandte ich zuerst Baryum-, dann Strontiumhydroxyd, ohne jedoch bessere Resultate zu erzielen. Magnesiumoxyd hatte ebenfalls zersetzende Wirkung. Kupferhydroxyd erwies sich als zu schwach, indem bei dessen Zusatz offenbar nicht alles Ammoniak ausgetrieben wurde.

Ich kam demnach zu demselben Resultate, zu dem auch Folin gekommen ist, daß nämlich an der Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen die angewandten Alkalien

resp. deren Hydroxylionen die Schuld tragen. Folin verwendet deshalb bei seiner Methode Natriumchlorid und krystallisiertes Natriumcarbonat zur Alkalisierung und findet dieselben für sehr geeignet. Meine Beobachtungen stimmen damit gut überein, indem sich des weiteren bei Verwendung von Natriumcarbonat als Alkali die Vacuumdestillation für die verschiedensten Objekte (Urin, Faeces, Blut usw.) als durchweg zuverlässig erwies.

Im Anfang war das Schäumen äußerst lästig. Es zeigte sich jedoch, daß dasselbe durch öfteren Zusatz von 15—20 ccm Alkohol und eventuell, falls die Flüssigkeit zu sehr eingedampft war, von 10—15 ccm destilliertem Wasser leicht vermieden werden konnte. Man muß sich aber beim Zusetzen des Alkohols usw. peinlichst hüten, durch gleichzeitiges Einklassen von Luft Schwankungen des Vacuums herbeizuführen, weil diese sehr intensives Schäumen verursachen. Zur Vermeidung dieser Störung ist vor allem das Glasrohr, durch welches der Alkohol usw. in den Kolben gebracht wird, am unteren Ende in eine Kapillare auszuziehen. Sollte jedoch trotz aller Vorsicht Luft eindringen, so läßt man so lange Alkohol ganz langsam zulließen, bis das Vacuum wieder sein Maximum erreicht hat.

Die Methode gestaltet sich demnach folgendermaßen:

25—50 ccm des auf seinen Ammoniakgehalt zu untersuchenden Objectes, welches eventuell bei fester Konsistenz vorher mit $\frac{1}{2}\%$ iger Salzsäurelösung gut in der Reibschale verrieben und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt wurde, werden im Destillationskolben mit ca 10 g Natriumchlorid versetzt und darauf soviel Natriumcarbonat zugesetzt, bis deutliche alkalische Reaktion vorhanden ist. Hiezu genügt meist 1 g. Hierauf wird der Kolben ins Wasserbad gesetzt und mit der als Vorlage dienenden, in Eiswasser ruhenden Peligotschen Röhre, in welche vorher 10—30 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure mit einigen Tropfen Rosolsäure gefüllt worden war, verbunden. An den zweiten Schenkel der Peligotschen Röhre wird nun die Wasserpumpe angeschlossen und sofort so gut wie möglich evacuirt. Sobald das Vacuum den höchsten Grad erreicht hat,

werden durch den am Kolben angebrachten Quetschhahn ca. 20 cem Alkohol zugegeben und nun das Wasserbad auf eine Temperatur von ca 43° gebracht. In der Folge gebe ich von 10 zu 10 Minuten 15–20 cem Alkohol auf dieselbe Weise zu, eventuell auch noch 10–15 cem Wasser, falls die Flüssigkeit zu rasch eindampft. Zum Schlusse werden zur Verjagung der Wassertropfen in der Überleitungsröhre nochmals 10 cem Alkohol zugegeben. Nach 30–40 Minuten ist die Bestimmung zu Ende geführt. Es wird nun durch einen Quetschhahn die Wasserstrahlpumpe von der Peligotschen Röhre abgeschlossen und darauf durch vorsichtiges Öffnen des an dem Kolben angebrachten Quetschhahns die Luft langsam zum Einströmen gebracht. Trotzdem ein Erhitzen auf 53° nichts an der Genauigkeit der Methode schadet (s. unten II, c), so empfiehlt es sich doch, das Wasserbad auf einer Temperatur von 43 – 44° zu halten, da mit dem Anstieg der Temperatur das Schäumen an Intensität zunimmt. Ein Absinken der Temperatur unter die angegebene Höhe bedingt natürlich eine verlängerte Zeitdauer der Bestimmung. (Die Abbildung des Apparates findet sich in der Reichschen Dissertation.)

Als Belege für die Methode mögen die folgenden Beispiele dienen:

I. Urin: Zu 30 cem desselben \dagger 10 g NaCl \dagger 1 g Na_2CO_3 \dagger 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach 25 Minuten bei 43° verbraucht

bei einer Bestimmung	7,03 ¹ / ₁₀ Normalsäure (= 11,9 mg NH_3)
zweiten	6,91 (= 11,7

Die zweite Bestimmung nochmals angesetzt mit 10 H_2O \dagger 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach 20 Minuten bei 43° verbraucht **0,0**¹/₁₀ Normalsäure.

Derselbe Urin nach Krüger-Reichscher Methode: 30 cem desselben \dagger 10 Kalkmilch \dagger 20 cem $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach 25 Minuten bei 43° verbraucht **6,89**¹/₁₀ Normalsäure (= 11,7 mg NH_3).

II. Faeces: Nach dem Zerreiben mit $\frac{1}{2}^{\circ}$ iger HCl-Lösung auf 100 cem aufgefüllt.

a) 30 cem \dagger 10 g NaCl \dagger 1 g Na_2CO_3 \dagger 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach 40 Minuten bei 43° verbraucht **6,15**¹/₁₀ Normalsäure (= 10,45 mg NH_3).

b) 30 ccm auf dieselbe Art bei 43° nach 40 Minuten verbraucht **6,25** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure (= 10,6 mg NH_3).

c) 30 ccm auf dieselbe Art bei 53° nach 40 Minuten verbraucht **6,2** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure (= 10,54 mg NH_3). Die Nachdestillationen der 3 Versuche ergaben nach nochmaligem Zusätze von 15 H_2O und 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach je 20 Minuten bei 43° eine Ammoniakmenge, welche der Reihe nach 0,08, 0,0, 0,02 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprach. Es war somit alles Ammoniak übergegangen; eine Zersetzung von stickstoffhaltigen Substanzen trat nicht ein.

III. Faeces: Nach dem Zerreiben in der Reibschale auf 800 aufgefüllt.

a) 30 ccm + 10 g NaCl + 1 g Na_2CO_3 + 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ bei 43° nach 40 Minuten verbraucht **2,38** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure (= 4,046 g NH_3).

b) 30 ccm + 5 ccm einer 1° igen Chlorammoniumlösung + 10 g NaCl + 1 g Na_2CO_3 + 25 ccm $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ bei 43° nach 40 Minuten

verbraucht: **12,275** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure

verlangt: **12,35**

Die Nachdestillationen der beiden Bestimmungen nach Zusatz von 10 ccm H_2O + 20 ccm $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ergaben nach 20 Minuten bei 43° eine Ammoniakmenge, welche 0,1 resp. 0,12 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprach. Also auch hier keine Zersetzung.

IV. Ascitesflüssigkeit mit 6% Albumen:

a) 30 ccm + 10 g NaCl + 1 g Na_2CO_3 + 20 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ nach 25 Minuten bei 43°

verbraucht: **0,21** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure.

b) 30 ccm + 10 g NaCl + 1 g Na_2CO_3 + 20 ccm $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ + 5 ccm einer 1° igen Chlorammoniumlösung + 10 ccm H_2O bei 43° nach 25 Minuten

verbraucht: **10,105** ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure

verlangt: **10,14**

Die Nachdestillationen nach Zusatz von 10 ccm H_2O + 20 ccm $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ergaben nach weiteren 25 resp. 15 Minuten

beidemale einen Verbrauch von $0,0^{1/10}$ Normalsäure. Also vollkommene Destillation ohne jede Spur von Zersetzung!

V. Hundeblut aus der vena jugularis frisch mit der Spritze entnommen und sofort bestimmt.

a) $17 \text{ ccm} + 10 \text{ g NaCl} + 1 \text{ g Na}_2\text{CO}_3 + 20 \text{ ccm C}_2\text{H}_5\text{OH}$
bei 43° nach 25 Minuten

verbraucht **0,52** $\text{ccm}^{1/10}$ Normalsäure

b) $7 \text{ ccm} + 5 \text{ ccm}$ einer 1° igen Chlorammoniumlösung
 $+ 20 \text{ ccm H}_2\text{O} + 20 \text{ ccm C}_2\text{H}_5\text{OH} + 10 \text{ g NaCl} + 1 \text{ g Na}_2\text{CO}_3$
nach 25 Minuten bei 43°

verbraucht: **9,99** $\text{ccm}^{1/10}$ Normalsäure

verlangt: **10,109** „ „

Die Nachdestillationen der beiden Bestimmungen nach Zusatz von $15 \text{ ccm H}_2\text{O} + 20 \text{ ccm C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ergaben nach 20 Minuten bei 43° $0,03$ resp. $0,0^{1/10}$ Normalsäure als verbraucht. Also auch hier vollkommene Destillation ohne Zersetzung!

Die erhaltenen Ammoniakwerte des Blutes stimmen mit den von Folin angegebenen gut überein.