

Zur Methodik der Bestimmung des Ammoniaks im Harn.

Von

M. Krüger und O. Reich.

Mit einer Abbildung.

(Der Redaktion zugegangen am 1. Juli 1903.)

Die Mängel der in den klinischen Laboratorien zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn üblichen Schlösingschen Methode bestehen zunächst in dem langsamen Verdunsten und der langwierigen Absorption des Ammoniaks, welche mindestens zwei volle Tage in Anspruch nehmen. Nach anderen soll man jeden Versuch 3—4 Tage gehen lassen, und bei eiweißhaltigen oder konzentrierten Harnen muß man sogar 5—8 Tage auf das völlige Entweichen des Ammoniaks aus dem Harn warten.

Aus den schwankenden Angaben über die Dauer des Versuchs ergibt sich der weitere Übelstand, daß für die Beendigung der Reaktion kein einfaches Prüfungsmittel vorhanden ist.

Beide Mängel der Schlösingschen Methode beseitigt Wurster¹⁾ in einfacher Weise durch Destillation des Ammoniaks im Vacuum, zu welcher Operation etwa 25 Minuten erforderlich sind. Wenn die Wurstersche Methode trotzdem keine allgemeine Anwendung gefunden hat, so ist der Grund darin zu suchen, daß infolge des heftigen Schäumens von im Vacuum siedendem Harn ein so komplizierter Apparat vorgeschrieben ist, daß auch im chemischen Arbeiten Geübtere vor dem Gebrauch desselben zurückschrecken. Nencki und Zaleski²⁾ haben den Wursterschen Apparat modifiziert, ohne ihn zu vereinfachen, und heben dadurch, daß sie die Destillation 3 Stunden unterhalten, den einen Vorzug der Wursterschen Methode, den der Kürze der Versuchsdauer, wieder auf.

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

²⁾ Arch. f. experim. Path. u. Pharmakol., Bd. 36, S. 385.

An ein klinisches Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn sind demnach zwei Anforderungen zu stellen:

1. das Erfordernis einer kurzen Versuchsdauer und
2. das eines einfachen Apparates.

Um die erste Forderung zu erfüllen, muß das Destillieren im Vacuum beibehalten werden. Die zweite fällt zusammen mit der Verhinderung des Schäumens des im Vacuum siedenden Harnes.

Auf letzteren Punkt lenkten wir zunächst unser Augenmerk. Wurster gibt an, daß Paraffinöl und Toluol das lästige Schäumen verhindern sollen. Da er aber bei Beschreibung seiner Methode diese Körper nicht erwähnt, so darf man annehmen, daß sie nicht im gewünschten Maße Erfolg hatten, oder durch Einführung anderer Nachteile die Methode verschlechterten.

Von öligen Körpern erwies sich uns das Olivenöl als ein sehr wirksames Verhinderungsmittel des Schäumens. Doch wurde von Anwendung dieses und ähnlicher Mittel Abstand genommen, weil sie durch Bildung einer öligen Schicht auf der wässerigen Flüssigkeit das Sieden verzögern und Anlaß zu stoßweisem, ungleichmäßigem Sieden geben. Zusatz von festen Körpern erreichte niemals den beabsichtigten Zweck in dem gewünschten Maße. Die Anwendung von Magnesia usta oder Meerschaumpulver nach Schwarz¹⁾ ist daher nicht empfehlenswert.

Ein weiteres Suchen nach passenden Mitteln wurde uns erspart, als in dem Alkohol ein vorzügliches Mittel gefunden wurde, welches den gewünschten Anforderungen in vollem Maße entsprach und außerdem den weitem Vorteil gewähren mußte, welcher in der Herabsetzung der Siedetemperatur besteht. Infolge der Anwendung dieses Mittels konnte der Destillationsapparat so vereinfacht werden, daß der Anwendung der Vacuumdestillationsmethode nichts mehr im Wege stand.

Bei Prüfung des neuen, weiter unten zu beschreibenden Apparates wurden Beobachtungen gemacht, welche nötigten, die Wirksamkeit der zum Alkalisieren des Harns benutzten

¹⁾ Wiener med. Woch., 1893, S. 3.

Mittel einer Nachprüfung zu unterziehen. Nach Wurster soll es gleichgültig sein, ob man Magnesia usta, Kalkmilch oder Barythydrat dazu benutzt. Auch Schwarz verwendet Magnesia usta und Kalkmilch. Wir gebrauchten in der ersten Zeit ausschließlich Magnesia usta, einmal weil es ein fester pulveriger Körper ist und man nicht wie bei Kalkmilch mit dem in Wasser verteilten Mittel den Harn verdünnt, und zweitens, weil bei der geringen Löslichkeit der Magnesia usta in Wasser ein starkes Alkalisichwerden des Harns und dadurch bedingte Zersetzung desselben ausgeschlossen erschien.

Tatsächlich haben auch die ersten unter Anwendung von Magnesia usta bei einer Temperatur der Heizflüssigkeit von 35° ausgeführten Destillationen, welche einen Zeitraum von je $\frac{3}{4}$ Stunden beanspruchten, gut übereinstimmende Resultate an den Harnen verschiedenster Art gegeben, wie die folgende Tabelle zeigt. Die Zahlen bedeuten die Anzahl von Cubikcentimetern $\frac{1}{10}$ N.-Salzsäure, welche zur Neutralisation des aus 25 ccm Harn übergehenden Ammoniaks erforderlich waren.

Tabelle:

| Harn | ccm | ccm | Harn | ccm | ccm |
|------|--------|------|------|--------|------|
| 1 | : 3,92 | 3,82 | 6 | : 1,71 | 1,85 |
| 2 | : 5,15 | 5,20 | 7 | : 3,22 | 3,13 |
| 3 | : 4,78 | 4,75 | 8 | : 3,90 | 3,91 |
| 4 | : 1,44 | 1,71 | 9 | : 2,78 | 2,80 |
| 5 | : 0,93 | 0,98 | 10 | : 4,65 | 4,70 |

Bei Wiederaufnahme der Versuche, welche längere Zeit unterbrochen werden mußten, wurden plötzlich weit differierende Zahlen erhalten. Eine Erklärung war nur darin zu suchen, daß mit dem stark schwankenden Wasserdrucke auch die für die Destillation erforderliche Zeit wechselte und somit die tatsächlich vorhandene zersetzende Wirkung der Magnesia usta auf Harnstoff eventuell andere Körper zum Ausdruck kam.

Prüfung der alkalischen Mittel.

Von den zum Alkalisieren des Harnes dienenden Mitteln wurden außer den bisher gebräuchlichen, Magnesia usta, Kalkmilch und Barythydrat, noch Baryum- und Calciumcarbonat in

den Bereich der Untersuchung gezogen. Die beiden letztern machen bekanntlich beim Sieden unter gewöhnlichem Drucke leicht Ammoniak aus Ammonsalzen frei. Ob dasselbe aber beim Sieden im Vacuum in hinreichend schneller Weise stattfindet, bedurfte der Prüfung.

Zum Versuche wurde eine Salmiaklösung von solcher Konzentration angewandt, daß zur Bindung des aus 10 ccm derselben freigemachten Ammoniaks 14,6 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure erforderlich waren. Wurden nun 10 ccm dieser mit 15 ccm Wasser verdünnten Salmiaklösung unter Zusatz von Alkohol und 1 g Baryumcarbonat 20 Minuten lang bei einer Temperatur des Wasserbades von 43° destilliert, so ging nur so viel Ammoniak über, als zur Bindung von 2,67 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure nötig war.

Bei Anwendung von Calciumcarbonat statt Baryumcarbonat wurden unter sonst gleichen Bedingungen 2,85 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure verbraucht.

Unter Benutzung von Baryumcarbonat oder Calciumcarbonat als Alkalisierungsmittel geht nur etwa $\frac{1}{5}$ des Ammoniaks in derselben Zeit über, in der sonst bei Gebrauch der andern erwähnten Mittel, wie durch Kontrollversuche festgestellt wurde, längst alles Ammoniak übergetrieben war. Mithin sind Calcium- und Baryumcarbonat nicht verwendbar; sie zeigen sich zu wenig kräftig.

Bei den übrigen Körpern, Magnesia usta, Kalkmilch und Barythydrat, besteht natürlich diese Gefahr nicht, wohl aber die andere, daß sie als zu kräftige Agentien nicht nur das präformierte Ammoniak übertreiben, sondern auch aus andern stickstoffhaltigen Körpern des Harns Ammoniak durch Zersetzung desselben bilden.

Was die Magnesia usta anbetrifft, so wirkt dieselbe auf Harnstoff wenigstens nicht zersetzend ein, was schon des öftern festgestellt ist und auch durch folgende Versuche bekräftigt wird.

Je 25 ccm einer 2%igen Harnstofflösung werden unter Zusatz von 15 ccm Alkohol und Magnesia usta im Vacuum bis zur Trockne destilliert. Die Temperatur des Außenbades schwankte von $35-50^{\circ}$. Verbraucht wurden

| | |
|------------------|----------------------------------|
| bei 35° | 0,02 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure |
| » 40° | 0,07 » » » » |
| » 45° | 0,02 » » » » |
| » 59° | 0,07 » » » » |

Wohl aber erregte der schlechte Ausfall einzelner Harnanalysen (siehe oben) den Verdacht, daß Magnesia usta auf andere

Harnbestandteile eine zersetzende Wirkung unter Ammoniakbildung ausüben müsse. Um diese Zersetzung schärfer zum Ausdruck zu bringen, wurde die Temperatur des Heizbades auf 43° erhöht, während sie früher (s. Tabelle I) nur 35° betragen hatte. Auch bei dieser erhöhten Temperatur fielen die Resultate zunächst übereinstimmend aus, dann aber ergaben sich bei einem weitem normalen Harn stark differierende Zahlen: 4,85; 4,45 und 6,5 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure. Der Destillationsrückstand von Versuch 3 (6,5 ccm) wurde noch zweimal mit 20 ccm Wasser destilliert. Im ersten Falle wurden 1,2 ccm, im zweiten 1,1 ccm N.-Säure verbraucht. Aus der Übereinstimmung der beiden Zahlen 1,1 und 1,2 ergibt sich, daß diese Mengen Säure zweifellos nicht mehr zur Bindung präformierten Ammoniaks erforderlich waren, sondern sie weisen auf eine durch Magnesia usta bewirkte gleichmäßig verlaufende Zersetzung stickstoffhaltiger Körper des Harns hin. An anderen Harnen wurde dieselbe Beobachtung gemacht. Von einer weiteren Verwendung der Magnesia usta mußte daher Abstand genommen werden.

In derselben Weise wie bei Magnesia usta wurden die Versuche mit Kalkmilch und Baryhydrat ausgeführt, selbstverständlich an solchen Harnen, bei welchen mit Magnesia usta unbrauchbare Resultate erzielt waren.

Zweimal je 25 ccm des Harnes wurden mit 10 ccm Kalkmilch und 15 ccm Alkohol bei 43° im Vacuum destilliert. Verbraucht wurden 6,58 und 6,60 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure. Der eine Destillationsrückstand wurde dann noch zweimal nach dem Verdünnen mit je 10 ccm Kalkmilch und 15 ccm Wasser bis zur Trockne destilliert. Es wurden verbraucht: 0,15 und 0,04 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure.

Bei einem anderen Harn derselben Versuchsperson wurden in 3 Bestimmungen für Ammoniak gefunden: 12,31; 12,26 und 12,26 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure. Beim nochmaligen Destillieren des Rückstandes vom letzten Versuche wurden 0,02 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure verbraucht.

Die Versuche mit Barytwasser wurden in derselben Weise ausgeführt und deren Resultate durch Bestimmungen mit Hilfe von Kalkmilch kontrolliert.

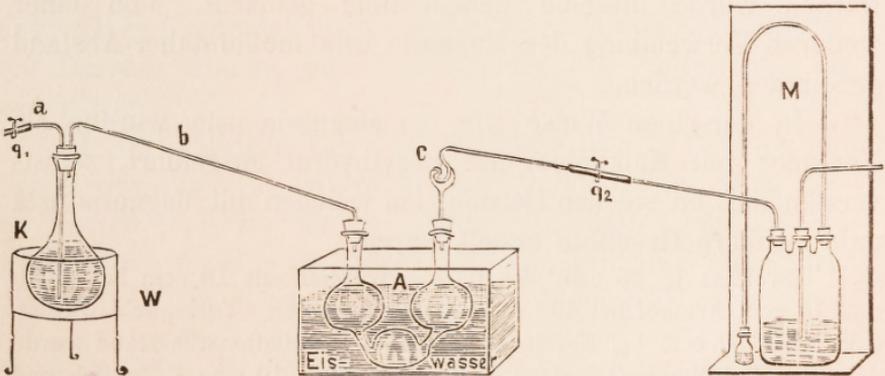
| Harn | Kalkmilch | Barytwasser |
|------|---------------------|---------------------|
| 1 | 12,61 und 12,43 ccm | 12,49 ccm |
| 2 | 14,41 » 14,39 » | 14,28 und 14,26 ccm |
| 3 | 0,71 » 0,76 » | 0,72 und 0,76 cm |

Der Destillationsrückstand des ersten Barytversuches, bei welchem 12,49 ccm erhalten sind, wurde noch einmal nach Zusatz von 10 ccm Barytwasser und 15 ccm Wasser destilliert. Verbraucht wurden 0,04 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure.

Kalkmilch und Barytwasser liefern demnach übereinstimmende Resultate; eine Zersetzung stickstoffhaltiger Bestandteile des Harnes findet bei ihrer Anwendung nicht statt.

Beschreibung des Apparates.

Der von uns bei den Ammoniakbestimmungen verwendete Apparat besteht aus Destillationskolben und Vorlage. Letztere ist verbunden mit einem Manometer, dieses mit der Wasserstrahlpumpe. Der Destillationskolben K, ein Literrundkolben aus Jenaer Glas, ist mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen. Durch die eine Bohrung geht eine nach unten verengerte, rechtwinkelige Röhre a, welche am äußeren Ende mit einem dickwandigen Kautschukschlauch und Klemme



versehen ist. Die andere Bohrung nimmt die zur Vorlage A führende Überleitungsröhre b auf. Als Vorlage wurde nach dem Vorgange von Wurster eine Péligotsche Röhre, nur in bedeutend kleineren Dimensionen gewählt. Die Höhe derselben beträgt 24,5 cm, der Inhalt der drei Kugeln mißt 340 ccm. Der erste Schenkel ist durch einen Kautschukstopfen verschlossen, durch dessen Bohrung die Überleitungsröhre b geht. Der zweite Schenkel ist ebenfalls mit einem Kautschukstopfen versehen, durch dessen Bohrung ein kugel- oder birnförmiger Destillieraufsatz c, wie er bei den Destillationen nach Kjeldahl verwandt wird, geht. Das freie Ende des Aufsatzes ist durch

einen dickwandigen Gummischlauch, der durch einen Quetschhahn q_2 verschlossen werden kann, mit einer Woulf'schen Flasche verbunden, deren zwei weitere Tuben einerseits mit einem Manometer, andererseits mit der Wasserstrahlpumpe in Verbindung stehen. Die Kugel des Destillationskolbens taucht bis zu etwa $\frac{1}{3}$ in ein Wasserbad W ein, die Péligotsche Röhre in ein Gefäß, welches während des Versuches mit Eiswasser gefüllt wird.

Ausführung des Versuches.

Die Ammoniakbestimmung mit Hilfe des beschriebenen Apparates wird in der Weise ausgeführt, daß zunächst die Péligotsche Röhre mit $\frac{1}{10}$ Normalsalzsäure angefüllt wird. Bei allen untersuchten, normalen und pathologischen, Harnen war eine Menge von 25 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsalzsäure auf 25 ccm Harn ausreichend. Als Indikator setzt man der titrierten Säure gleichzeitig einige Tropfen einer einprozentigen alkoholischen Lösung von Rosolsäure hinzu. Alsdann füllt man in den Destillationskolben 25 ccm des zu untersuchenden Harnes und gibt 10 ccm Kalkmilch und 15 ccm 96prozentigen Alkohols hinzu. Der Kolben wird sofort mit dem zugehörigen Stopfen verschlossen, indem man dafür sorgt, daß die längere Röhre a sich bis auf wenige Millimeter dem Boden nähert. Nach dem Zusammensetzen des Apparates werden beide, bei der Röhre a und am Destillationsaufsatz c befindlichen Quetschhähne q_1 und q_2 geschlossen und die Wasserstrahlpumpe in Gang gesetzt. Danach wird durch vorsichtiges Öffnen des Quetschhahnes q_2 Kolben und Vorlage allmählich evacuirt; gleichzeitig kann man mit dem Anheizen des Wasserbades beginnen. Die Temperatur des letzteren soll 43° nicht übersteigen. Vom Beginn des lebhaften Siedens gerechnet, wurde die Destillation 17 Minuten unter einem Druck von 30 bis 40 mm Quecksilber fortgesetzt. Die Wassertropfen, welche sich nach Verjagung des Alkohols am Kolbenhalse festsetzen und die möglicherweise Ammoniak enthalten, werden durch Umwickeln des Kolbenhalses mit einem in heißes Wasser getauchten Tuche beseitigt. Dann läßt man zum Schluß durch die Röhre a unter Öffnen des Quetschhahnes q_1 10 ccm Alkohol zufließen, welcher den Kolbeninhalt

wieder in lebhaftes Sieden bringt und die in der Überleitungsröhre b befindlichen Wassertropfen hinwegspült. Nach Beendigung der Destillation schließt man zunächst den Quetschhahn q_2 , sperrt die Wasserleitung ab und läßt durch die Röhre a Luft in den Kolben und die Vorlage eintreten. Danach spült man den Inhalt der Péligotschen Röhre in ein Becherglas und titriert mit $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge zurück. Der Farbenwechsel der Rosolsäure beim Übergang von Sauer zu Alkalisch und umgekehrt ist, offenbar infolge der Anwesenheit von Alkohol, sehr scharf.

Die Anzahl der zur Neutralisation des Ammoniaks verbrauchten Cubikcentimeter $\frac{1}{10}$ Normalsäure, multipliziert mit 1,7, gibt die Menge von Ammoniak in Milligrammen an, welche in 25 ccm resp. der angewandten Menge Harn enthalten ist. Multiplikation mit 1,4 statt 1,7 gibt die Menge von Ammoniakstickstoff in Milligrammen an.

Das Schäumen wird, wie schon vorher erwähnt, durch Zusatz des Alkohols zunächst vollständig verhindert. Die Flüssigkeit siedet, so lange noch Alkohol vorhanden ist, vollständig gleichmäßig, und nur zum Schluß tritt ein geringes Schäumen ein; jedoch zerplatzen die Blasen, sobald sie den oberen Rand der Kugel berühren; ein Übertreten derselben in die Überleitungsröhre ist niemals beobachtet worden. Ein Zusatz von wenigen Cubikcentimetern Alkohol würde außerdem das Schäumen wieder vollständig beseitigen. Nach dem Einengen der Flüssigkeit auf wenige Cubikcentimeter tritt, durch den Niederschlag veranlaßt, ein Stoßen ein, welches in seltenen Fällen geringe Mengen der Flüssigkeit in die Überleitungsröhre hinüberwarf, wo sie dann durch die nachfolgenden Dämpfe mit in die Vorlage übergerissen wurden. Diesem Übelstande wäre in leichter Weise durch Anwendung eines Destillationsaufsatzes an Stelle der U-förmigen Überleitungsröhre abzuhelpen. Er wird jedoch in viel einfacherer Weise dadurch beseitigt, daß man an die Überleitungsröhre einen in der Mitte mit seitlicher Öffnung versehenen Schlauch aus Gummi von ca. 5 cm Länge anbringt. Sollte hier durch Stoßen der Flüssigkeit ein Teil in die untere Öffnung hineingeworfen werden, so ist ein Über-

reißen derselben in die Vorlage unmöglich, weil ja die Dämpfe durch die seitliche Öffnung ungehindert entweichen können.

Mit Hilfe der eben beschriebenen Methode wurden die folgenden Zahlen bei normalen und pathologischen Harnen aller Art erhalten. Von jedem Harn wurden 25 ccm genommen und jedesmal zwei Analysen ausgeführt, deren Resultate in der 3. und 4. senkrechten Kolumne, in Cubikcentimetern $\frac{1}{10}$ Normal-säure ausgedrückt, sich befinden. In der 5. Kolumne sind die Differenzen zwischen den beiden Versuchen, gleichfalls in Cubikcentimetern $\frac{1}{10}$ Normalsäure, angegeben, während die zweite Reihe die Art des Harnes anzeigt.

Tabelle II.

| Nummer | Harn | ccm | ccm | Differenz |
|--------|-----------------------|-------|-------|-----------|
| 1 | Diabetes mell. | 8,79 | 8,92 | 0,13 |
| 2 | Normal | 6,95 | 6,88 | 0,07 |
| 3 | Normal | 8,26 | 8,31 | 0,05 |
| 4 | Diabetes mell. | 6,40 | 6,45 | 0,05 |
| 5 | Normal | 6,79 | 6,92 | 0,13 |
| 6 | Normal | 8,15 | 8,08 | 0,07 |
| 7 | Diabetes mell. | 4,93 | 4,83 | 0,10 |
| 8 | Icterus | 2,72 | 2,76 | 0,04 |
| 9 | Nephritis | 1,13 | 1,15 | 0,02 |
| 10 | Typhus | 21,47 | 21,46 | 0,01 |
| 11 | Icterus | 5,24 | 5,28 | 0,04 |
| 12 | Cystitis | 0,38 | 0,38 | 0,00 |
| 13 | Typhus | 2,15 | 2,13 | 0,02 |
| 14 | Gelenkrheumatismus | 2,01 | 1,97 | 0,04 |
| 15 | Scharlach | 6,28 | 6,23 | 0,05 |
| 16 | Phthise (ohne Fieber) | 7,47 | 7,62 | 0,15 |
| 17 | Pneumonie | 21,64 | 21,58 | 0,06 |
| 18 | Phthise | 5,61 | 5,69 | 0,08 |
| 19 | Ascites | 15,89 | 15,96 | 0,07 |
| 20 | Leukämie | 1,97 | 1,92 | 0,05 |
| 21 | Normal | 5,36 | 5,28 | 0,08 |
| 22 | Tabes | 2,03 | 1,92 | 0,11 |
| 23 | Gehirntumor | 9,92 | 9,79 | 0,13 |

| Nummer | Harn | ccm | ccm | Differenz |
|--------|-----------------|-------|-------|-----------|
| 24 | Typhus | 2,31 | 2,22 | 0,09 |
| 25 | Normal | 8,99 | 8,87 | 0,12 |
| 26 | Tabes | 5,08 | 5,13 | 0,05 |
| 27 | Diabetes mell. | 14,63 | 14,70 | 0,07 |
| 28 | Diabetes mell. | 5,67 | 5,58 | 0,09 |
| 29 | Diabetes insip. | 0,71 | 0,76 | 0,05 |

Die höchste Differenz zwischen den einzelnen Versuchen beträgt 0,15 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure, entsprechend 0,25 mg Ammoniak; die mittlere, bei 29 Harnen erhaltene Differenz ist aber nur 0,064 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure = 0,11 mg Ammoniak.

Bestimmung des Ammoniaks in eiweißhaltigen Harnen.

Wie Versuch 9 beweist, bei dem die Zahlen 1,13 und 1,15 ccm erhalten wurden, läßt sich das beschriebene Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks auch auf eiweißhaltige Harne anwenden. Doch tritt hier, wie zu erwarten war, nach Verjagung des Alkohols ein weit lebhafteres Schäumen ein, als in den sonstigen Fällen beobachtet wurde. Dasselbe kann zwar durch mehrmaligen Zusatz geringer Mengen Alkohols gehemmt und somit die Destillation zu Ende geführt werden. Da jedoch bei weiteren Versuchen die Differenzen zwischen den Kontrollanalysen die obigen Zahlen übertrafen, wenn auch nicht in dem Maße, daß die Analysen unbrauchbar erscheinen (erhalten wurde 1. 7,45 und 7,63, 2. 4,98 und 4,78), so wurde doch eine Enteiweißung des Harnes vorgezogen, zumal nach den Angaben früherer Autoren eine Zersetzung von Eiweißkörpern durch Kalkmilch stattfinden soll.

Zur Enteiweißung des Harnes empfiehlt Huppert¹⁾ die Methode von Salkowski.²⁾ Nach dieser wird der eiweißhaltige Harn „auf 100 ccm mit 20 g gepulvertem Kochsalz und darauf mit dem doppelten Volumen einer Mischung von 7 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 1 Volumen 30%iger

¹⁾ Huppert, s. Neubauer und Vogel, Analyse des Harns. 2. Aufl. S. 743.

²⁾ Salkowski, *ibid.* S. 442.

Essigsäure versetzt, wiederholt stark geschüttelt und nach 15—20 Minuten abfiltriert“. Die Methode hat den Nachteil, daß der auf Ammoniak zu untersuchende Harn aufs dreifache Volumen verdünnt wird. Danach müßten zu der Ammoniakbestimmung 75 ccm des Filtrats verwendet werden, wodurch die Destillation beträchtlich verlängert würde. Ferner läßt sich der durch Kochsalz und Essigsäure in der Kälte erhaltene Eiweißniederschlag nur langsam abfiltrieren. Beide Nachteile lassen sich durch Ausführung der Enteiweißung nach Esbach vermeiden, wenn man das Esbachsche Reagens nicht in der üblichen Form, also in Lösung, sondern die wirksamen Bestandteile desselben (Zitronensäure und Pikrinsäure) in fester Form, aber in den von Esbach angegebenen Mengenverhältnissen zugibt.

Das Verfahren gestaltet sich demnach so: Man gibt zu 100 ccm Harn 1 g gepulverter Zitronensäure und 0,5 g Pikrinsäure, schüttelt kurze Zeit um, bis der Niederschlag in Flocken sich absetzt, und filtriert sofort durch ein Faltenfilter. Durch Zusatz des gewöhnlichen Esbachschen Reagens zu einer kleinen Menge des Filtrats überzeugt man sich von der vollständigen Ausfällung der Eiweißkörper. Die angegebenen Mengen von Zitronensäure und Pikrinsäure genügen für 100 ccm der von uns untersuchten Eiweißharn. Ob bei großem Gehalt an Eiweiß die Mengen zu erhöhen und der Harn dann doch vielleicht auf das Doppelte zu verdünnen ist, wird in jedem Falle leicht zu entscheiden sein. Bei Bestimmung des Ammoniaks in dem enteiweißten Filtrate verfährt man in derselben Weise wie bei gewöhnlichem Harn, indem man zur Bindung der Zitronen- und Pikrinsäure statt der Kalkmilch 0,5 g gepulvertes Barythydrat hinzufügt.

Tabelle III.

| | | |
|---------------|----------|----------|
| Eiweißharn: 1 | 5,22 ccm | 5,29 ccm |
| » 2 | 3,13 » | 3,12 » |
| » 3 | 4,10 » | 4,16 » |
| » 4 | 2,99 » | 2,98 » |

Über Ammoniakausscheidung nach Genuß organischer und unorganischer Säuren.

Zur weiteren Prüfung der Brauchbarkeit des neuen Verfahrens wurde ein Stoffwechselversuch an einem Patienten ausgeführt, der einmal die Ausscheidung des Ammoniaks nach bestimmter gleichmäßiger Nahrung und den Einfluß von organischen und anorganischen Säuren auf Vermehrung des Ammoniaks ermitteln soll. Der Versuch ist selbstverständlich nicht ausgeführt worden, um die von anderen Autoren erhaltenen Resultate zu kontrollieren, sondern nur um dieselben mit dem modifizierten Wursterschen Verfahren zu bestätigen. Aus diesem Grunde verzichten wir auf die Wiedergabe der entsprechenden Literatur mit Ausnahme des von Hallervorden mit Salzsäure angestellten Versuches, um mit dessen Resultaten die von uns erhaltenen Resultate zu vergleichen.

Tabelle von Hallervorden.¹⁾

| Tag | Harnmenge | Tgl. Ammoniakausscheidung | Salzsäure |
|-----|-----------|---------------------------|-----------|
| 1 | 1415 ccm | 0,701 g | — |
| 2 | 1710 » | 0,914 » | — |
| 3 | 1515 » | 0,825 » | — |
| 4 | 1430 » | 0,936 » | — |
| 5 | 1345 » | 0,781 » | — |
| 6 | 3640 » | 1,325 » | 2,81 g |
| 7 | 4140 » | 1,338 » | 2,81 » |
| 8 | 1890 » | 1,209 » | — |
| 9 | 1810 » | 1,130 » | — |
| 10 | 1800 » | 1,192 » | — |
| 11 | 1560 » | 0,783 » | — |

Hiernach bewirkt die Einnahme von 2,81 g Salzsäure eine starke Vermehrung der absoluten Ammoniakmenge, welche nicht nur an den beiden Tagen der Eingabe bemerkbar ist, sondern sich noch auf weitere drei Tage erstreckt. Eine Berechnung des Verhältnisses des Gesamtstickstoffs zum Ammoniakstickstoff ist leider nicht möglich, da erstere Zahl

¹⁾ Hallervorden, cit. nach der Arbeit von Coranda, Archiv für exper. Pathol. 1880. XII., S. 83.

nicht bestimmt wurde. Überhaupt muß bemerkt werden, daß bei sämtlichen früheren Versuchen über die Ausscheidungsverhältnisse des Ammoniaks das Augenmerk fast ausschließlich den absoluten Mengen an Ammoniak zugewandt und nur in untergeordneter Weise auf das prozentische Verhältnis gerichtet ist. Dies geht daraus hervor, daß bei vielen Versuchen, wie bei den oben erwähnten Hallervordenschen, die Gesamtmenge an Stickstoff überhaupt nicht angegeben ist, oder, wo Bestimmungen des Gesamtstickstoffs ausgeführt sind, sich eine Berechnung der prozentischen Ammoniakmengen nicht vorfindet.

Unser Patient, ein 18jähriger Mann, 42 kg schwer, der an Dystrophia musculorum leidet, erhielt täglich folgende Nahrung: 60 g Butter, 330 g Brot und Semmel, 2 Eier à 45 g, 200 g Fleisch, 1 l Kaffee, 1 Flasche Bier. Nachdem der Patient mehrere Tage an diese Kost gewöhnt war, wurde der in Chloroform aufgefangene Harn täglich auf Gesamtstickstoff und Ammoniakstickstoff untersucht. — In der folgenden Tabelle sind zunächst die bei der Ammoniakbestimmung erhaltenen Zahlen besonders aufgeführt, da sie als Ergänzung zu Tabelle 2 einen weiteren Beleg für den Wert der Methode liefern.

Tabelle IV.

| Nummer | ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure, | ccm $\frac{1}{10}$ Normalsäure | Differenz |
|--------|---------------------------------|--------------------------------|-----------|
| 1 | 16,5 | 16,43 | 0,07 |
| 2 | 13,93 | 13,87 | 0,06 |
| 3 | 12,61 | 12,43 | 0,18 |
| 4 | 14,39 | 14,41 | 0,02 |
| 5 | 15,85 | 15,95 | 0,10 |
| 6 | 13,95 | 13,96 | 0,01 |
| 7 | 22,61 | 22,68 | 0,07 |
| 8 | 19,74 | 19,57 | 0,17 |
| 9 | 18,29 | 18,18 | 0,11 |
| 10 | 16,16 | 16,10 | 0,06 |
| 11 | 15,91 | 15,98 | 0,07 |
| 12 | 15,76 | 15,76 | 0,00 |
| 13 | 18,74 | 18,77 | 0,03 |

Die nächste Tabelle, welche die Resultate des Stoffwechselfersuches angibt, enthält die Harnmenge in Cubikcentimetern, Gesamtstickstoff und Ammoniakstickstoff in Gramm, endlich den Ammoniakstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffs angegeben.

Tabelle V.

| Tag | Harnmenge | Gesamtstickstoff | Ammoniakstickstoff | Verhältnis | Bemerk. |
|---------------|-----------|------------------|--------------------|------------|---------------------|
| 23./24. VI. | 635 ccm | 9,48 g | 0,586 g | 6,18 ‰ | — |
| 24./25. VI. | 660 » | 8,38 » | 0,514 » | 6,13 » | — |
| 25./26. VI. | 590 » | 6,658 » | 0,414 » | 6,22 » | — |
| 26./27. VI. | 770 » | 10,230 » | 0,621 » | 6,07 » | — |
| 27./28. VI. | 650 » | 9,630 » | 0,579 » | 6,01 » | 80 ccm Essig |
| 28./29. VI. | 890 » | 11,530 » | 0,695 » | 6,03 » | 50 ccm Essig |
| 29./30. VI. | 505 » | 8,980 » | 0,641 » | 7,14 » | 60 ccm Mixt. ac. |
| 30.VI./1.VII. | 445 » | 6,630 » | 0,490 » | 7,39 » | 60 ccm Mixt. ac. |
| 1./2. VII. | 560 » | 7,920 » | 0,572 » | 7,22 » | — |
| 2./3. VII. | 625 » | 7,700 » | 0,565 » | 7,34 » | — |
| 3./4. VII. | 645 » | 7,400 » | 0,586 » | 7,92 » | — |
| 4./5. VII. | 605 » | 7,770 » | 0,534 » | 7,29 » | — |
| 5./6. VII. | 565 » | 7,170 » | 0,486 » | 6,52 » | — |
| 6./7. VII. | 570 » | 8,03 » | 0,598 » | 7,44 » | — |

Am 5. und 6. Versuchstage erhielt der Patient 3 mal am Tage gewöhnlichen Kopfsalat, der am 5. mit 80 ccm, am 6. mit 50 ccm Weinessig versetzt war; am 7. und 8. Versuchstage nahm er 3 mal am Tage je 20 ccm Mixtura acida, täglich demnach 60 ccm, welche nach Angabe der Titration 0,078 g freie Salzsäure enthielten.

Bei Betrachtung der Resultate fällt vor allem die nahe Übereinstimmung in den prozentischen Zahlen für Ammoniak an den vier ersten normalen Tagen auf. Dieselben sind: 6,18 ‰, 6,13 ‰, 6,22 ‰, 6,07 ‰. Die größte Differenz beträgt demnach 0,15 ‰.

Aus diesem Versuche ergibt sich mit Sicherheit, daß die Ausscheidungsgröße des Ammoniaks im Verhältnis zum Gesamtstickstoff bei gleichbleibender Nahrung bei unserem

Patienten denselben prozentischen Wert behält,¹⁾ während die absolute Ausfuhr von Gesamtstickstoff und in völlig analoger Weise auch die des Ammoniakstickstoffs in erheblichen Grenzen schwanken kann; so wechselte die Ausscheidung an Gesamtstickstoff während der 4 Normaltage von 6,658—10,23 g pro die, diejenige des Ammoniakstickstoffs entsprechend von 0,414 bis 0,621 g.

Wenn auch gegen die Verallgemeinerung eines aus nur einem Versuche erhaltenen Resultates Bedenken erhoben werden können, so darf nicht vergessen werden, daß eine so auffallende, über einen Zeitraum von 4 Tagen sich erstreckende Gleichmäßigkeit der Ausscheidungsverhältnisse des Ammoniaks nicht eine zufällige sein kann, sondern eine Gesetzmäßigkeit der Entstehung und Elimination des Ammoniaks zum Ausdruck bringen muß. Jedenfalls muß an weitere Versuche über Ausscheidung des Ammoniaks die Forderung gestellt werden, daß sie nicht nur die absolute Menge desselben, sondern vor allem den relativen Wert in Beziehung zum Gesamtstickstoff beachten.

Die Eingabe von 80 ccm resp. 50 ccm Weinessig am 5. und 6. Versuchstage beeinflußt die relative Ammoniakausfuhr in keiner Weise. Die prozentischen Zahlen des Ammoniaks behalten den normalen Wert 6,01 und 6,03 ‰. Dies Resultat steht im Einklang mit den bisherigen Ergebnissen, nach denen organische Säuren nur dann eine Vermehrung des Ammoniaks bewirken, falls sie im Organismus nicht zu Kohlensäure verbrannt werden.

¹⁾ Wie oben erwähnt, fehlt die Angabe der prozentischen Ammoniakwerte in den früheren Arbeiten, bei welchen der Einfluß einer bestimmten Kost untersucht wurde, doch lassen sich die betreffenden Zahlen in den Fällen berechnen, wo Gesamtstickstoff und Ammoniakstickstoff gleichzeitig bestimmt ist. Eine Berechnung derselben aus den Daten einiger Mitteilungen, z. B. denen von Coranda (Archiv für experimentelle Pathologie 1880, XII, S. 76) und Rumpf (Virchows Archiv 1896, Bd. 143, S. 1) zeigt nun, daß diese Autoren schon zu einem ähnlichen Resultate gelangen konnten, wenn auch ihre an den einzelnen Tagen erhaltenen Zahlen nicht die auffallende Übereinstimmung der unserigen zeigen.

Dieser Versuch mit Essigsäure bestätigt in eklatanter Weise das oben erhaltene Resultat, nach welchem für die Beurteilung einer Vermehrung oder Verminderung des ausgeschiedenen Ammoniaks nicht sowohl die absolute Menge desselben als das relative Verhältnis zum Gesamtstickstoff maßgebend ist, ja daß die alleinige Beachtung der absoluten Menge an Ammoniak zu falschen und den bisherigen Beobachtungen durchaus widersprechenden Resultaten führen kann. Denn am 2. Tage des Essigsäureversuches ist gerade der höchste Wert für Ammoniakstickstoff während der ganzen Dauer des Versuches erhalten worden, woraus auf eine die Ammoniakausfuhr erhöhende Wirkung der Essigsäure geschlossen werden müßte. Nun fallen aber mit der größten Ammoniakausscheidung auch die höchsten Zahlen für Harnmenge und Gesamtstickstoff zusammen; hiernach ist klar, daß die durch die Essigsäuregaben bedingte größere Aufnahme an Wasser eine Ausspülung der Organe bewirkte und so die absoluten Mengen an Gesamtstickstoff und Ammoniakstickstoff erhöhte, ohne eine Änderung im normalen relativen Verhältnis zu bewirken.

Der Salzsäureversuch würde, wollte man nur die absolute Steigerung des Ammoniaks in Betracht ziehen, ein ganz zweifelhaftes Resultat ergeben.

Ein Vergleich der prozentischen Ammoniakzahlen des 7. und 8. Tages (7,14 resp. 7,39%) mit denen der Normaltage zeigt jedoch eine deutliche Steigerung von 1% an. Normal müßten mit den Gesamtstickstoffmengen des 7. und 8. Tages, welche 8,98 g und 6,63 g betragen, an Ammoniakstickstoff 0,549 g und 0,405 g ausgeschieden sein, an beiden Tagen zusammen demnach 0,954 g. Tatsächlich sind aber gefunden 0,641 und 0,490 g, in Summa 1,131 g. Die Differenz $1,131 - 0,954 \text{ g} = 0,177 \text{ g}$ gibt demnach die absolute Zunahme an Ammoniakstickstoff nach Eingabe von 2 mal $0,078 \text{ g} = 0,156 \text{ g}$ Salzsäure an. Da zur Neutralisation dieser Menge Salzsäure nur 0,060 g Stickstoff in Form von Ammoniak erforderlich sind, so hat der Patient allein an den beiden Salzsäureversuchstagen das Dreifache an Ammoniakstickstoff mehr ausgeschieden. Bei dem Hallervordenschen Versuch dagegen, bei welchem inner-

halb zweier Tage 5,62 g Salzsäure verabreicht wurden, bleiben 1,222 g = 21,8% der einverleibten Salzsäure im Überschuß; sie werden nicht durch Ammoniak neutralisiert. Als Erklärung wird die sehr unwahrscheinliche Vermutung ausgesprochen, daß ein Teil der eingeführten Salzsäure nicht resorbiert werden soll.

In Übereinstimmung mit Hallervorden findet eine erhöhte Ausscheidung an Ammoniak noch mehrere Tage nach der letzten Einnahme von Salzsäure statt.

Als Resultate der vorliegenden Untersuchung lassen sich die folgenden anführen:

1. Die Wurstersche Methode, das Ammoniak im Harn durch Destillation im Vacuum zu bestimmen, läßt sich nach Beseitigung des Schäumens durch Zusatz von Alkohol so vereinfachen, daß sie den an eine klinische und gleichzeitig exakte Methode zu stellenden Anforderungen in vollkommener Weise entspricht.

2. Zum Freimachen des Ammoniaks ist beim Harne die *Magnesia usta* unbrauchbar, da sie eine langsame und gleichmäßige Zersetzung stickstoffhaltiger Körper unter Bildung von Ammoniak bewirkt. Dagegen sind Kalkmilch und Barythydrat für den genannten Zweck wohl geeignet.

3. Bei eiweißhaltigen Harnen empfiehlt es sich, vor der Destillation des Ammoniaks das Eiweiß durch Eintragen der festen Bestandteile des Esbachschen Reagens zu entfernen.

4. Bei Untersuchungen über Ammoniakausscheidung ist in Zukunft die Aufmerksamkeit vor allem auf das relative Verhältnis von Gesamtstickstoff zu Ammoniakstickstoff zu richten. Dasselbe ist nach unserem Versuche bei ein und derselben Person unter Innehaltung einer gleichmäßigen Kost ein konstantes. Wenn es erlaubt ist, dies Resultat zu verallgemeinern — weitere Versuche müssen darüber Aufschluß geben —, so würde sich der wichtige Satz ergeben, daß vom Nahrungseiweiß stets ein bestimmter Teil des Stickstoffs in Form von Ammoniak ausgeschieden wird.

Hiernach sind die Resultate früherer Autoren, nach denen Fleischnahrung die absolute Ausfuhr an Ammoniak erhöht, selbstverständlich.

Eine ganze Reihe interessanter Fragen¹⁾ wird durch das obige Resultat angeregt:

Bleibt zunächst das prozentische Verhältnis vom Gesamtstickstoff zu Ammoniakstickstoff unverändert, wenn man die Menge des Nahrungseiweißes beliebig steigert oder verringert?

Ist es ferner bei allen Personen dasselbe oder, was wahrscheinlicher ist, individuell verschieden?

Steht diese Verschiedenheit vielleicht in Abhängigkeit von der Salzsäureproduktion des Magens oder, mit anderen Worten, kann die Ausscheidung des Ammoniaks als ein Maßstab der Salzsäurebildung im Magen angesehen werden?

Wie steht es endlich mit der Ammoniakausscheidung bei Anaciden und Hyperaciden?

Der experimentelle Teil vorliegender Arbeit wurde mit Ausnahme einiger Vorversuche während des Sommersemesters 1902 in der medizinischen Klinik der Universität Breslau ausgeführt.

¹⁾ Da ich infolge von Krankheit vermutlich auf lange Zeit hin verhindert bin, physiologisch-chemische Studien zu betreiben, so habe ich Herrn Dr. Schittenhelm veranlaßt, die Bearbeitung obiger Themata durchzuführen.

M. Krüger.
