Eine klinische Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harn.

Von

Dr. Hans Malfatti.

Für wissenschaftliche Bestimmungen des Ammoniaks in Körperflüssigkeiten kommen wohl in erster Linie jene Methoden in Betracht, welche die Destillation im Vakuum benutzen. Für klinische Zwecke stehen die Methoden nach Schloesing und nach Folin zur Verfügung; die erstere gibt die Antwort auf die gestellte Frage erst nach mehreren Tagen, die andere soll in zwei Stunden erledigt sein; sie ist aber durchaus nicht bequem, und ihre Resultate scheinen mir nach einigen Kontrollversuchen, die weiter unten folgen, auch nicht verlässlich zu sein.

Unter diesen Umständen wäre eine Schnellmethode, die gestattet, den Ammoniakgehalt des Harnes sofort zu erkennen, selbst dann von Wert, wenn sie etwa nach Art mancher Farbenreaktionen nur annähernd anzeigte, ob viel oder wenig Ammoniak vorhanden ist, und um so wertvoller, wenn diese Angaben mit relativer Genauigkeit erfolgen.

Es lag nahe, zu diesem Zwecke jene Reaktionen zu benutzen, bei welchen der saure Bestandteil der Ammoniaksalze als freie Säure in Erscheinung tritt und einfach titriert werden kann. Ich habe in einer früheren Arbeit ¹⁾ auf zwei solcher Reaktionen hingewiesen. Bei Gegenwart von Magnesia und Phosphorsäure wird das bei der Neutralisation frei werdende Ammoniak zu unlöslichem Ammoniummagnesiumphosphat

¹⁾ Warum trübt sich der Harn beim Kochen? (Ein Beitrag zur Lehre von der Azidität des Harns.) Hofmeister's Beiträge 8, 472.

gebunden, und die frei werdende Säure muss durch Zusatz von weiterem Alkali abgestumpft werden.

Wird also eine genügend verdünnte Lösung, welche bei saurer Reaktion Magnesia, Phosphorsäure und Ammoniak enthält, unter Zusatz von Phenolphthalein neutralisiert, so tritt die bekannte, schwach rötliche Färbung auf, wenn fast alles primäre Phosphat in sekundäres umgewandelt ist. Bei längerem Warten, oder schneller beim Reiben der Becherglaswände mit dem Glasstab, bildet sich ein wenig Ammoniummagnesiumphosphat, und sofort verblasst die Färbung; bei weiterem Alkalizusatz tritt wieder Rotfärbung auf, die sofort wieder unter Bildung weiteren Niederschlages verschwindet; später erfolgt das Verblasen der Indikator-Färbung langsamer, und wenn alles Ammoniak gebunden ist, bleibt die rötliche Farbe bestehen. Man kann so in wässrigen Lösungen das Ammoniak mit ganz befriedigendem Erfolge titrieren. Im Harne gestaltet sich die Sache wesentlich ungünstiger. Das Ammoniummagnesiumphosphat scheidet sich viel langsamer ab, bei recht ammoniakarmen Harnen gar nicht; zudem sind in den trüb werdenden Harnen die feinen Farbenunterschiede noch schwerer zu erkennen, als bei der gewöhnlichen Aziditätsbestimmung. Ich habe darum die Reaktion nicht weiter verfolgt.

Bessere Resultate lassen sich erzielen, wenn man als ammoniakbindende Substanz den Formaldehyd verwendet. Dieser bildet Trimethylentriamin und dann Hexamethylentetramin mit solcher Begierde, dass zum Beispiel Chlorammoniumlösungen, mit Formalin versetzt, aus Karbonaten die Kohlensäure austreiben. Wird eine neutrale Lösung eines Ammonsalzes durch Zusatz von Phenolphthalein und einigen Tropfen $\frac{n}{10}$ -Lauge rötlich gefärbt, so verblasst diese Färbung sofort auf Zusatz einer genügenden Menge ebenfalls gegen Phenolphthalein neutralisierten Formalins, und man muss eine der vorhandenen Ammoniummenge entsprechende Menge von Lauge zufügen, damit wieder Rötung auftritt.

An wässrigen Chlorammoniumlösungen von bekanntem Gehalte zeigte sich, dass diese Art der Titration innerhalb der Genauigkeit der Titrationsfehler richtige Werte ergibt. Auch Harnen zugesetzte Chlorammoniummengen wurden quantitativ wiedergefunden.

In seiner Anwendung auf den Harn gestaltet sich das Verfahren folgendermaßen: 10 cc Harn werden genau wie zur üblichen Alkaleszenzbestimmung mit Wasser ungefähr auf das fünf- bis sechsfache verdünnt und nun nach Zusatz stets gleicher Mengen von Phenolphthalein mit $\frac{n}{10}$ -Lauge titriert, bis eben ein wahrnehmbarer Farbumschlag auftritt, zu dessen genauer Erkennung die übliche Vergleichsprobe sehr vorteilhaft ist.

Nachdem so die Harnazidität festgestellt ist, fügt man 3 cc käufliches Formalin zu, das aber vorher durch Zusatz von Phenolphthalein und einigen Tropfen Lauge eben neutralisiert wurde; die eingetretene Färbung verschwindet, und nun titriert man weiter, bis derselbe Farbenwechsel eintritt, den man als Endpunkt der Aziditätsbestimmung erkannte. Die nach dem Formalinzusatz noch verbrauchte Laugenmenge ergibt unmittelbar das vorhandene Ammoniak in Kubikzentimetern $\frac{n}{10}$ -Normalammon.

Obwohl 3 cc Formalin in den meisten Fällen für das im Harn vorhandene Ammoniak ausreichen, fügt man doch zum Schlusse noch etwas neutralisiertes Formalin zu und beobachtet, ob die Färbung verschwindet. Geschieht dies, so muss natürlich unter erneutem Zusatz von Formalin (1 cc) weiter titriert werden. War zu wenig Formalin zugesetzt worden, so lässt sich das leicht auch an einer andern auffallenden Erscheinung erkennen; in diesem Falle verstärkt sich nämlich die eben eingetretene schwache Rötung sehr bald zu deutlichem, ja tiefem Rot, während, wenn die Reaktion tatsächlich beendet ist, der entstandene Farbenton sich kaum mehr verändert.

Die ganze Reaktion verläuft sehr rasch und bietet nicht grössere Schwierigkeiten als die gewöhnliche Aziditätsbestimmung des Harnes. Die Titrationsergebnisse von Doppelanalysen liegen dem entsprechend weiter auseinander, wenn von weniger farbenempfindlichen oder ungeübten Arbeitern titriert wird; ich selbst habe nie eine grössere Differenz als 0,2 cc Lauge für 10 cc Harn erhalten. Als Lauge benutzte ich, wie bei allen harnanalytischen Untersuchungen, Natronlauge, von der 1 cc einem Milligramm Stickstoff entspricht (0,07143 normal).

In normalen Harnen fand ich stets Ammoniakwerte, die vollständig mit den nach Schloesing gefundenen übereinstimmten; wie weit aber die Zuverlässigkeit der Methode bei abnormen Harnen reicht, zeigt folgende kleine Tabelle, in der ich die nach Folin, nach

Schloesing und nach der Formalinmethode erhaltenen Ammoniakwerte zusammenstellte ¹⁾).

	Spezifisches Gewicht	Acidität in mg HCl auf 100 cc Harn berechnet	NH ₃ nach Folin in mg N auf 100 cc Harn	NH ₃ nach Schloesing in mg N auf 100 cc Harn	NH ₃ nach Formaldehyd-Methode in mg N auf 100 cc Harn
I. Harn tief braunrot, kein Gallenfarbstoff, viel Urobilin, kein Eiweiss, viel Schleim	1,021	158,6	87	110,8	117,5
II. Harn desselben Patienten (Cholangitis). 14 Tage später. Harn dunkelgelbrot, sonst gleich	1,014	52,0	75	115,6	125
III. Frauenharn, strohgelb, eiweisshaltig, enthält Formelelemente aus der Niere	1,010	19,5	11,6	14,4	14,3
IV. Frauenharn, Spur Eiweiss, stark trüb von Epithelien und Leukozythen (Zystitis)	1,017	39,0	14,4	21,8	22
V. ? fast wasserhell, reagiert auf Lackmus alkalisch, auf Säurezusatz CO ₂ -Entwicklung, nicht zersetzt	1,014	7,8	3,2	3,8	3,5
VI. Normaler Mannesharn, sehr dunkelgelb, setzt massenhaft Harnsäurekristalle ab	1,029	244,4	38,8	68	67
VII. Normaler Mannesharn, hellgelb, gegen Lackmus alkalisch, trüb von Phosphaten	1,017	49,4	9,2	18,8	20

1) Als nach Folin erhaltene Ammoniakmengen bezeichne ich jene, die sich durch 2 bis höchstens 3 Stunden langes Luftdurchleiten mit Hilfe einer sehr gut wirkenden Wasserstrahlpumpe erzielen liessen; ich glaube nicht, dass die mangelhaften gefundenen Werte auf zu geringe Mengen der durchgesaugten Luft zurückzuführen sind.

Harne von Diabetikern hatte ich erst nach Fertigstellung dieser Arbeit Gelegenheit zu untersuchen. Traubenzucker und selbst Azeton in grösserer Menge hindert die Formaldehydreaktion nicht.

Es ergibt sich aus der Tabelle, dass in einer Reihe auch pathologischer Harne (III—VII) die mit Hilfe der Formaldehydreaktion gefundenen Ammoniakwerte recht gut mit den nach Schloesing gefundenen übereinstimmen, in andern Harnen (I und II, die von einem schwer leberkranken Patienten stammten) aber nicht. Die Differenzen von 0,7 bis 1,0 *mg* Stickstoff für 10 *cc* Harn sind ja absolut nicht gross, bei der Umrechnung auf Prozente macht das aber immerhin einen Fehler von 0,01 % aus, oder in diesem Falle von fast 10 % des gefundenen Wertes. Auch ist es ja wahrscheinlich, dass es Harne gibt, wo dieser Fehler noch bedeutender ist, ja wo eine vollständige Irreführung stattfinden kann.

Die Möglichkeit, dass die dunkle, fast rote Färbung des Harnes in diesen beiden Fällen einen Beobachtungsfehler bedinge, ist ausgeschlossen; die Kontrollbestimmungen stimmten nämlich vollständig unter einander überein, und absichtlich zugesetztes Chlorammonium konnte quantitativ wiedergefunden werden.

Da nun die nach Folin gefundenen Ammoniakwerte, sowohl in den angeführten Versuchen als auch in früheren, bei welchen ich die Formaldehydtitration nur mit der Folin'schen Methode kontrolliert hatte, fast immer bedeutend niedriger ausfielen, lag es nahe, anzunehmen, dass im Harne Substanzen vorkämen, die einerseits den Ammonsalzen ähnlich mit Formaldehyd reagierten, andererseits bei längerem Stehen mit der Kalkmilch des Schloesing'schen Apparates Ammoniak abspalteten. Diese Vermutung erwies sich als unrichtig; denn als Harn II und VI durch Vakuumdestillation unter Zusatz von Kochsalz und Soda (wie beim Folin'schen Verfahren) geprüft wurden, stimmten die gefundenen Werte mit jenen nach Schloesing überein. Auf der andern Seite aber ergab sich, dass die Werte nach Folin (wenigstens bei meiner, allerdings der Vorschrift möglichst genau entsprechenden Versuchsanordnung) zu niedrig sind; 2 bis 3-stündiges Luftdurchleiten vermochte die Harne im Gegensatz zu wässrigen Ammonsalzlösungen nicht vom Ammoniak ganz zu befreien.

25 *cc* des Harnes VII lieferten nach 2½ Stunden 2,3 *mg* Stickstoff, nach weiteren 2 Stunden noch 1 *mg*.

25 *cc* des Harnes VI lieferten in 3 Stunden 9,7, nach weiteren 2 Stunden noch 3,2 und nach wieder 4 Stunden noch 2,8 *mg* Stickstoff.

10 *cc* des Harnes II lieferten nach 2 Stunden 7,5, nach weiteren 2 Stunden noch 2,8 *mg* Stickstoff, und als der Versuch mit 20 *cc* Harn wiederholt wurde, gestalteten sich die Werte folgendermassen: 2 Stunden — 14,4 *mg* Stickstoff,

wieder 2 Stunden — 5,0 mg, weiter 5½ Stunden — 2,3 mg; nun blieb die Harnprobe nach neuerlichem Zusatz von Toluol zwei Tage rubig stehen, dann wurde wieder 5½ Stunden lang Luft durchgeleitet und 0,6 mg Stickstoff erhalten. Die Gesamtsumme des übergetriebenen Ammoniakstickstoffs betrug in diesem Versuche 111,5 mg für 100 cc Harn, ein Wert, der dem nach Schloesing gefundenen nahe kommt, ihn aber doch nicht erreicht. Die Erscheinung ist um so auffallender, als eine ungefähr gleiche Menge von Ammoniakstickstoff aus wässriger Salmiaklösung in 2 Stunden quantitativ gewonnen werden konnte.

Die Substanz, die in manchen Harnen die nach der Formaldehydtitration gewonnenen Ammoniakwerte zu hoch erscheinen lässt, muss also unter den bekannten stickstoffhaltigen Substanzen des Harnes gesucht werden. Harnstoff, Harnsäure, Kreatin, Kreatinin, die Purinkörper des Harnes, Hippursäure, Guanidin zeigten in Gegenwart von Formaldehyd die Säurewirkung der Ammonsalze nicht, wohl aber substituierte Ammoniak (Präparate von Trimethylamin und Propylamin, ohne Prüfung auf Reinheit) und, was von Bedeutung ist, Aminosäuren.¹⁾

In Betracht kommt in erster Linie Glykokoll, dessen Vorkommen im Harn nach den neueren Untersuchungen gar nicht so selten zu sein scheint.

Glykokoll, und in seltenern Fällen verwandte Substanzen, können also bei Verwendung der Formaldehydtitration Ammoniak vortäuschen, beziehungsweise den Ammoniakgehalt des Harns zu hoch erscheinen lassen. Das ist ein Fehler der Formaldehydmethode, den sie aber mit allen andern sogenannten klinischen oder Schnellmethoden gemein hat, und trotzdem sind gerade diese Methoden für den Arzt unentbehrlich und auch ausreichend, so lange er eben nicht absolut gültige Werte von der jeweils angewandten Methode verlangt.

Im vorliegenden Falle kann der Fehler sogar einen Vorteil bieten; denn wenn der Arzt aus der Art der Krankheit und der grossen Menge des scheinbar gefundenen Ammoniaks den Verdacht schöpft, dass in einem Harn neben Ammoniak auch Aminosäuren vorliegen, kann er stets durch gleichzeitige Aufstellung einer Schloesing'schen Ammoniakbestimmung erkennen, ob wirklich diese unvollständigen Abbauprodukte des Eiweissstoffwechsels im Harn vorhanden sind und ungefähr in welcher Menge. Die genauere Untersuchung muss dann allerdings dem Chemiker überlassen bleiben.

¹⁾ In einer nach Einsendung dieser Zeilen erschienenen Arbeit von S. P. L. Soerensen. Enzymstudien (Biochem. Zeitschr. 7, 45) wird im Anschluss an früheren Arbeiten von Hugo Schiff über Methylenasparagine und die Trennung der Amin- und Säurefunktion mittels Formaldehyds (Ann. d. Chemie 310. 25; 319, 59 u. 287; 325, 348) die Formoltitrierung von Aminosäuren eingehend beschrieben.