

X.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Gießen.

(Direktor: Geh. Med.-Rat F. Voit.)

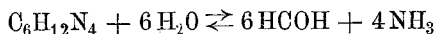
Zur Frage des qualitativen und quantitativen Nachweises des Formaldehyds im Harn nach Zuführung von Urotropin.

Von

Kurt Voit.

_____ (Eingegangen am 30. VI. 1922.)

Die Eigenschaft des Hexamethylentetramins, Formaldehyd abzuspalten, war seit der Einführung des Urotropins in die Therapie bei bakteriellen Erkrankungen der Harnwege durch Nikolaier¹⁾ wiederholt Gegenstand eingehender Untersuchungen. So wiesen Höst²⁾ und P. Trendelenburg³⁾ genauer nach, daß der Verlauf der Zersetzungsgleichung:



neben der Temperatur vor allem von der H-Ionenkonzentration der Lösung abhängt, daß bei $\text{P}_\text{H} = 1,0$ nach 6 Stunden etwa 100%, bei $\text{P}_\text{H} = 5,0$ noch etwa 10% Formaldehyd abgespalten werden, daß aber entgegen der früheren Ansicht auch bei gleichem Gehalt an H- und OH-Ionen ($\text{P}_\text{H} = 7,07$), ja selbst bei einem Überwiegen der OH-Ionen bis zu $\text{P}_\text{H} = 9,0$ noch Formaldehyd in nachweisbaren Mengen frei wird. (Eine Lösung von $\text{P}_\text{H} = 9,0$ gibt mit Phenolphthalein, dessen Farbumschlag bei $\text{P}_\text{H} = 8,3$ bis 10,0 liegt, deutliche Rosafärbung.).

1) Nikolaier, Experimentelles und Klinisches über Urotropin. Ztschr. f. klin. Med. 1899, Bd. 38.

2) Höst, Über Urotropin als Desinfizienz der Harnwege. Ebenda 1915, Bd. 81.

3) P. Trendelenburg, Quantitative Messungen über die Spaltung des Hexamethylentetramins. Biochem. Ztschr. 1919, Bd. 95.

An qualitativen Proben zum chemischen Nachweis des Formaldehyds fehlt es nicht: Die Untersuchungen von Salkowski¹⁾ über geeignete Reaktionen, um Formaldehyd im Urin nachzuweisen, zeigen, daß vor allen anderen die Probe von Jorissen-Vanino mit 15%iger Kalilauge und 0,1%iger Phlorogluzinlösung den Vorzug verdient. Er erhielt mit ihr bei einer Verdünnung von 1:100 000 noch deutliche Rotfärbung, d. h. positiven Ausfall. P. Trendelenburg²⁾ empfiehlt, anstatt 15%iger Kalilauge solche von 33% zu nehmen, da das Phlorogluzin sich in ihr nicht mit violetter Farbe löst, die Lösung also farblos bleibt und der Ausfall der Reaktion dadurch bei starker Verdünnung deutlicher sichtbar wird. Von Wichtigkeit ist, daß Urotropin diese Reaktion nicht gibt.

Mit Hilfe dieser Probe gelingt der qualitative Nachweis von Formaldehyd im sauer reagierenden Harn von Personen, die per os Urotropin erhalten hatten, ohne weiteres; bei starker Eigenfarbe kann man, wie dies Salkowski tat, mit Tierkohle entfärben, ohne daß merkliche Mengen Formaldehyd verloren gehen. Die Reaktion fällt deutlich stärker aus, wenn neben Urotropin noch eine Phosphorsäurelösung gegeben wurde. Ich erhielt aber nach Dosen von Urotropin auch positiven Ausfall in dem Urin einer Patientin, der infolge vegetabilischer Kost auf Lackmus schwach, aber deutlich alkalisch reagierte. Dies bestätigt die Untersuchungen von Höst und P. Trendelenburg, wenn auch Lackmus als besserer Indikator schon bei $p_H = 6,97$ seinen Umschlagspunkt hat. Bei großen Dosen von NaHCO_3 neben Urotropin gelang in dem stark alkalischen Urin der Nachweis nie, wohl aber fiel die Reaktion auf Urotropin mit Bromwasser stark positiv aus.

Nicht möglich war es mir dagegen, Formaldehyd im Blut und Liquor von Patienten, die per os Urotropin in großen Dosen erhalten hatten, nachzuweisen, obgleich, wie P. Trendelenburg gezeigt hat, Blut, Liquor, Ascitesflüssigkeit und Zysteninhalt, mit $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$ % Hexamethylentetramin versetzt, nach längerem Stehen bei Körpertemperatur Formaldehyd abspalteten und obwohl v. Caneghem³⁾ berichtet, daß durch Darreichung von Urotropin der normale Liquor cerebrospinalis eine deutliche, das Bakterienwachstum hemmende

1) Salkowski, Zum Verhalten des Urotropins und Formaldehyds im Organismus. Biochem. Ztschr. Bd. 87. — Derselbe, Zur Kenntnis einiger Formaldehydreaktionen. Ebenda Bd. 68.

2) P. Trendelenburg, Münch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 24.

3) v. Caneghem, Experimentelle Untersuchungen über Urotropinwirkung bei Meningitis. Ebenda 1912, Bd. 28.

Wirkung erhält. Zur Erklärung dieser widersprechenden Tatsache wird auf die Arbeit von P. Trendelenburg verwiesen.

Eine einwandfreie Identifizierung des Formaldehyds im Urin von Personen, die Urotropin per os erhalten hatten, gibt das Kondensationsverfahren mit Dimethylhydroresorcin. Die Fähigkeit des Dimethylhydroresorcins, mit einfachen Aldehyden unter Bildung von gut reagierenden Kondensationsprodukten zu reagieren, wurde von Vorländer entdeckt und von Neuberg zum ersten Male zur Identifizierung des Azetaldehyds aus lebendem Material verwendet.

Stapp und Feulgen¹⁾ haben mit Hilfe dieses Verfahrens das Vorkommen des Azetaldehyds im Harn zum ersten Male zeigen können. Bezüglich der Einzelheiten bei der Anstellung des Versuchs sei auf die Arbeit von Stapp und Feulgen verwiesen. Die Krystalle der Formaldehydverbindung, die ich erhielt, schmolzen nach Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol scharf bei $186\frac{1}{2}^{\circ}$. Man darf hierbei allerdings den Formaldehyd nicht durch Destillation, sondern durch Absaugen im Vakuum aus dem Harn gewinnen, aus welchen Gründen wird weiter unten erörtert.

Auf jeden Fall ist damit einwandfrei erwiesen, daß Formaldehyd vorliegt.

So leicht und sicher der qualitative Nachweis ist, um so größer sind die Schwierigkeiten, auf die man bei dem Versuch, die Formaldehydmengen im Urin quantitativ zu erfassen, stößt. Es fehlt zwar nicht an quantitativen Bestimmungsmethoden, die, wie ich mich überzeugte, mit reinen Formaldehydlösungen ohne weiteres sehr gute Resultate geben, die aber zum Teil für eine Bestimmung von Formaldehyd im Harn sich als ungeeignet erweisen. So mußte ich von vornherein die Methode nach Romijen²⁾ mit Natriumthiosulfat ausschalten, da sie in natronalkalischer Reaktion arbeitet und dadurch Teile des Formaldehyds in Gegenwart von Ammoniumsalzen sich mit Ammoniak wieder zu Hexamethylentetramin verbinden können. Das gleiche gilt für die von Stapp und Fricke³⁾ ursprünglich für die Bestimmung des Azetaldehyds ausgearbeitete »Silbermethode«.

1) Stapp und Feulgen, Über die Identifizierung der aldehydartig reagierenden Substanzen im Harn von Diabetikern. Ztschr. f. physiol. Chemie 1921, Bd. 114. — Stapp, Zur Frage des Azetaldehydnachweises im Harn. Biochem. Ztschr. 1922, Bd. 127.

2) Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chemie: Bestimmung des Formaldehyds nach Romijen.

3) Stapp und Fricke, Eine einfache und exakte Methode zur direkten quantitativen Bestimmung von Azetaldehyd. Ztschr. f. physiol. Chemie Bd. 116.

Dagegen erschien mir die Methode von Ripper¹⁾ mit Natriumbisulfit und Jod und ebenso die von Barschall und Auerbach²⁾ ausgearbeitete Methode mit Natriumsulfit (Na_2SO_3) als brauchbar.

Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Lösung der Aufgabe, auf welche Weise es möglich ist, den Formaldehyd so zu isolieren, daß er mit einer der oben angegebenen Methoden quantitativ bestimmt werden kann.

Salkowski³⁾ wendet bei seiner quantitativen Bestimmung des Formaldehyds im Blut eine mehrmalige Destillation an. Diese ist bei der Bestimmung im Urin von vornherein auszuschließen, da, selbst wenn es gelingt, ein Übergehen des Ammoniaks ins Destillat zu verhindern und so eine Fehlerquelle auszuschalten, doch immer bei der zur Destillation nötigen Erhitzung aus dem gleichzeitig vorhandenen Hexamethylentetramin Formaldehyd sich abspaltet, man also aus diesem Grunde zu hohe Werte erhalten muß, immer vorausgesetzt, daß bei mehrmaliger Destillation der Formaldehyd wirklich quantitativ übergeht.

Meine Versuche, den Formaldehyd unter Vermeidung höherer Temperaturen im Vakuum abzusaugen, schlugen fehl. Ich erhielt, selbst bei 15 Stunden langer Dauer des Versuchs höchstens 50% des vorhanden gewesenen Formaldehyds in die mit Na_2SO_3 gefüllte Vorlage; größere Mengen gingen nie über.

So bleibt noch zu überlegen, ob es nicht möglich ist, die so äußerst empfindliche Jorissensche Probe kolorimetrisch auszuwerten, um auf diese Art den Formaldehyd quantitativ zu bestimmen. Nun hat aber P. Trendelenburg in seiner oben aufgeführten Arbeit gezeigt, daß durch die Anwesenheit von Ammoniak die Jorissensche Probe zu kleine Werte zeigt, daß Formaldehyd + Ammoniumsalz eine erheblich schwächere Färbung gibt als Formaldehyd allein. Höst vermutet ferner, daß beim Entfärben durch Tierkohle sowohl H^+ - wie OH^- -Ionen adsorbiert werden und damit die Reaktion des Urins sich ändert, was gleichbedeutend wäre mit einer Änderung des Formaldehydgehaltes. Die neuesten Untersuchungen von Silberstein⁴⁾ über die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration im Harn mit Indikatoren scheinen allerdings zu zeigen, daß durch ein

1) Ripper, Sitzungsber. d. Akad. d. Wissenschaften. Mathem.-naturw. Klasse Abt. IIb, 1899/1900, Bd. 108, 9.

2) Auerbach und Barschall, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1905, Bd. 22.

3) Salkowski, Quantitative Bestimmung des Formaldehyd im Blut. Biochem. Ztschr. 1919, Bd. 97.

4) Silberstein, Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration im Harn mit Indikatoren. Ebenda 1922, Bd. 128.

Entfärben mit Tierkohle die Wasserstoffzahl des Harns nicht beeinflußt wird. Ich glaube aber kaum, daß eine kolorimetrische Bestimmung exakte Werte liefern kann; Versuche hierüber wurden von mir aber nicht angestellt.

Dagegen schlug ich noch einen anderen Weg ein: Ich versuchte so vorzugehen, wie es P. Trendelenburg in seiner Arbeit: »Quantitative Messungen über die Spaltung des Hexamethylentetramins« tut, d. h. den Ammoniak zu bestimmen und aus Verlusten von Ammoniak auf die vorhanden gewesene Formaldehydmenge zu schließen. Einer Anregung Trendelenburgs folgend, ging ich folgendermaßen vor: Ich bestimmte mit der von ihm angegebenen Apparatur den Ammoniak, setzte einer gleich großen Menge desselben Harns Natronlauge in geschlossenem System zu und bestimmte wieder den Ammoniak unter der Voraussetzung, daß zur Bildung von Hexamethylentetramin aus Formaldehyd und Ammoniak ein Teil des letzteren verbraucht würde.

Aber auch diese Methode führte nicht zum erwünschten Ziel, da in dem geschlossenen System viel mehr Ammoniak, offenbar aus dem Harnstoff, entsteht, als bei der ersten Bestimmung zu finden war. Außerdem gibt eine quantitative Ammoniakbestimmung im Urin, wie Fränkel¹⁾ schreibt, nur bei ganz frischem Harn und bei solchem, von dem man sicher ist, daß in der Blase keine Zersetzung stattfand, genaue Werte. Harnstoff wird durch bakterielle Einwirkung schnell in kohlensaures Ammon unter Wasseraufnahme verwandelt und man erhält viel zu hohe Werte.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1. Eine exakte quantitative Bestimmung des Formaldehyds im Urin von Personen, die per os Hexamethylentetramin erhielten, scheint einerseits an der Bindung des Formaldehyds im Harn, andererseits hauptsächlich an der gleichzeitigen Anwesenheit von Hexamethylentetramin zu scheitern. Es bedarf nur einer verhältnismäßig geringen Änderung in der Temperatur und in der H-Ionenkonzentration, um das chemische Gleichgewicht der Zersetzungsgleichung des Hexamethylentetramins zu verschieben, es müßte denn möglich sein, das im Urin gleichzeitig vorhandene Hexamethylentetramin chemisch so zu binden, daß es auch beim Erwärmen keinen Formaldehyd abspaltet. Ich stellte hierüber Versuche an, die aber mißlangen.

2. Dagegen ist die Probe von Jorissen-Vanino eine ausgezeichnete Reaktion zum qualitativen Nachweis des Formaldehyds im Urin.

3. Der Nachweis von Formaldehyd im Blut und Liquor von Personen, die Urotropin per os erhalten hatten, gelang nie.

1) Fränkel, Bei Neuberg, Untersuchungen organischer Harnbestandteile.