

Der Nachweis und die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten.

Von Dr. J. Latschenberger.

(Mit 1 Holzschnitt.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. März 1884.)

In den letzten Jahren ist die wichtige Rolle, welche das Ammoniak im Thierkörper spielt, entdeckt worden, trotzdem wir bisher keine exacte Methode des Nachweises und der Bestimmung desselben besitzen.

Heintz versetzt den sauer reagirenden Harn mit Alkohol, filtrirt, fügt einige Tropfen Platinechloridlösung hinzu, nach einiger Zeit giesst er die Flüssigkeit vom Niederschlag ab, welcher wesentlich Ammonium- und Kaliumplatinchlorid ist. Hoppe-Seyler wäscht denselben mit Alkohol, trocknet und erhitzt ihn in einem Kölbchen, Chlorammonium sublimirt. Es ist aber hiebei zu bemerken, dass Walter gefunden hat, dass auch andere stickstoffhaltige Substanzen ausser Ammoniak mit ausfallen.

Neubauer hat den Harn mit Bleizucker und Bleiessig gefällt, das Filtrat in der Kälte mit Kalkmilch nach Schlösing's Methode versetzt, in einiger Zeit lässt sich in der Luft des die Mischung enthaltenden bedeckten Gefässes Ammoniak nachweisen.

Schlösing gab eine Methode der quantitativen Bestimmung des Ammoniaks im Harn. Nach Neubauer ist sie folgende: Es werden 10 CC. Normalsäure in eine Schale gebracht, darüber setzt man auf ein Glasdreieck eine kleine Schale, welche 20 CC. Harn und 10 CC. Kalkmilch, die kurz nach der Einbringung vermischt worden sind, enthält; man lässt drei Tage unter aufgeschliffener Glasglocke stehen und prüft um wie viel weniger Lauge von den 10 CC. verbraucht wird, als dem Titre der Lauge und der Säure entspricht, und berechnet daraus das Ammoniak.

Dr. I. Munk (unter Salkowski's Leitung)¹ hat Schlösing's Methode für Hundeharn geprüft und gute Resultate erhalten, während Lange (unter Böhm's Leitung),² v. Knieriem³ und Walter⁴ nicht befriedigende Resultate erhalten haben. I. Munk hat die Thiere ausschliesslich mit Fleisch gefüttert und bei manchen Harnen wurde noch am fünften Tage von der Kalkmilch in dem nach Schlösing's Methode construirten Apparat Ammoniak ausgetrieben. Er verglich diese Methode mit einer der directen Fällung durch Platinchlorid: 25 CC. Harn wurden mit dem gleichen Volumen Alkohol und Äther versetzt, filtrirt, das Filtrat mit einer alkoholischen Lösung von Platinchlorid im Überschuss versetzt, nach 24—48 Stunden der Niederschlag abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen, getrocknet, mässig geglüht, metallisches Platin und Chlorkalium bleiben zurück; dieser Rückstand wurde gewogen, mit heissem Wasser auf einem Filter ausgewaschen, geglüht, gewogen; Chlorkalium ist auf diese Weise entfernt und daraus ist die Menge des Ammoniaks berechnet worden.

E. Hallervorden⁵ wendete bei vielen Ammoniakbestimmungen im Menschenharn ebenfalls die Schlösing'sche Methode an und erhielt gute Resultate, nur musste er oft eine Woche warten, bis alles Ammoniak durch die Kalkmilch ausgetrieben worden ist, 48 Stunden reichen nicht hin, Fäulniss ist nicht zu befürchten.

Walter⁶ hat im Hundeharn nach einer von Schmiedberg angegebenen Methode das Ammoniak bestimmt. 20 CC. Harn wurden mit Platinchlorid, dann mit der fünf- bis sechsfachen Menge einer Mischung von Alkoholäther (2:1) versetzt, nach 24-stündigem Stehen wurde der Niederschlag gesammelt, ge-

¹ Dr. Immanuel Munk: Physiologisch-chemische Mittheilungen, Arch. f. pathol. Anat. etc. 69, Bd.

² Lange: Über das Verhältniss und die Wirkung der Ammoniaksalze im thierischen Organismus, Arch. für exp. Path. II.

³ v. Knieriem: Beiträge zur Kenntniss der Bildung des Harnstoffs im thierischen Organismus, Zeitsch. f. Biol. X.

⁴ Arch. f. exp. Path. VII.

⁵ E. Hallervorden. Über Ausscheidung von Ammoniak im Urin bei pathologischen Zuständen. Arch. f. exp. Path. XII.

⁶ l. c.

waschen, getrocknet, mit Zink und verdünnter Salzsäure reducirt, das Filtrat in einer Retorte mit Magnesia destillirt, das Ammoniak in Normalsäure aufgefangen, das Destillat am Wasserbad auf ein kleineres Volumen eingedampft und dann mit Lauge titirt, sodann das Ammoniak berechnet. Wenn er nach dem Austreiben des Ammoniaks mit Magnesia Kalilauge zusetzte und weiter destillirte, so trat neuerdings Ammoniak auf! Es gehen also mit dem Platinchlorid auch Substanzen heraus, welche mit Kali Ammoniak entwickeln. Nach Munk¹ sind die Resultate nach dieser Methode bis zu 10⁰/₀ zu niedrig.

Alle diese Methoden sind nur zur Ammoniakbestimmung im Harn anzuwenden, nur E. Salkowski² hat eine Methode der Ammoniakbestimmung im Blut und serösen Flüssigkeiten angegeben: Es werden 20 Grm. Chlornatrium gepulvert, 50 CC. Blut oder seröser Flüssigkeit, 100 CC. einer Mischung von 7 Vol. gesättigter Chlornatriumlösung und 1 Vol. Essigsäure (1·040 spec. Gewicht) gut gemischt; man lässt 15—20 Minuten stehen, bestimmt das Gesamtvolumen der Flüssigkeit, filtrirt durch ein trockenes Filter. Das Filtrat soll frei von Eiweißstoffen sein, in 50—100 CC. desselben wird nach Schlösing's Methode das Ammoniak bestimmt. Er hat mit dieser Methode keine bedeutenderen, über die Fehlergrenzen der Methode reichenden Ammoniakmengen im Blute nachweisen können.

E. Bosshard³ hat eine Methode der Ammoniakbestimmung in Pflanzensäften angegeben. Nach der Methode von E. Schulze fällt er nach dem Ansäuern mit Phosphorwolframsäure im Überschuss, wäscht den Niederschlag mit Wasser, welchem Salz- und Phosphorwolframsäure zugesetzt worden ist, und bestimmt mit Kalkmilch nach Schlösing's Methode das Ammoniak. Er erhält 97·3, 94·4, 97·3⁰/₀; bei Gegenwart von flüchtigen Alkaloiden, Methylamin, Trimethylamin etc. ist die Methode nicht verwendbar.

Noch andere für die Ammoniakbestimmung angewendete Methoden sind wesentlich nur Modificationen der angeführten.

¹ l. c.

² Cblt. f. med. Wiss. 1880.

³ E. Bosshard, Über Ammoniakbestimmung in Pflanzensäften und Pflanzenextracten. Zeitschr. f. anal. Chem. 22. Jahrg. 1883.

Es wurde von vielen die Gegenwart von Ammoniak in frischen Körperflüssigkeiten angezweifelt, indem es denkbar ist, dass das Ammoniak erst nachträglich in den Flüssigkeiten aufgetreten sei, da dieselben sich so leicht zersetzen, oder dass durch die Procedur selbst die Abspaltung des Ammoniaks veranlasst worden sei.

Leicht ist es, die Gegenwart des Ammoniaks in den Körperflüssigkeiten nachzuweisen. Ich benützte dasselbe Filtrat, in welchem ich mit Dr. Schumann¹ die Chloride bestimmt habe; nur nehme ich zur Neutralisation der sauren Flüssigkeit Barytlösung statt Natronlauge. Die zu untersuchende Flüssigkeit (20 CC.) wird mit dem gleichen Volumen kalter, gesättigter Kupfervitriollösung vermischt und dann so lange Barytlösung hinzugefügt, bis nach meiner Methode vorbereitetes neutrales Lackmuspapier² durch einen Tropfen der Flüssigkeit nicht mehr verändert wird; es sind dann alle Bestandtheile der zugesetzten Kupfersulfatlösung und Barytlösung im Niederschlag enthalten. Das Filtrat ist stets wasserklar und farblos.

Mit Nessler's Reagens erhält man in diesem Filtrate je nach der Menge des vorhandenen Ammoniaks sofort einen rothbraunen Niederschlag, oder eine mehr oder weniger intensive Braun- oder auch nur Gelbfärbung. Es beruht also diese Methode des Ammoniaknachweises auf der Voraussetzung, dass die Lösung des Kupfersulfats, welche bekanntlich eine saure Reaction besitzt, in der kurzen Zeit, während welcher dieselbe mit der Flüssigkeit in Berührung ist, kein Ammoniak aus den vorhandenen stickstoffhaltigen Substanzen abspaltet. Durch quantitative Bestimmungen des Ammoniaks fand ich, dass diese Voraussetzung vollständig richtig ist. Bei allen quantitativen Bestimmungen habe ich vollkommen gleich durchgeführte Doppelanalysen gemacht; es fand sich da öfter, dass gerade bei jenen Analysen, bei welchen die Flüssigkeit oft über 12 Stunden länger mit der Kupfersulfatlösung in Berührung war, weniger Ammoniak gefunden wurde, als bei jenen, bei welchen sofort das Gemisch neutralisirt und

¹ Genauer quantitativer Nachweis des Chlors in den thierischen Flüssigkeiten ohne Verbrennung von Dr. J. Latschenberger und Dr. J. Schumann. Zeitschr. f. Physiol. Chem. 3. Band, Seite 161.

² Ebendasselbst. Seite 165.

weiter verarbeitet wurde. Es kann also keine nennenswerthe Abspaltung von Ammoniak aus den stickstoffhaltigen Substanzen innerhalb 12 Stunden stattgefunden haben.

Mit Hilfe dieser Methode konnte Ammoniak im frischen Menschen- und Hundeharn nachgewiesen werden; ich erhielt sofort nach dem Zusatze von Nessler's Reagens dunkelbraune Niederschläge. Ebenso gab Kuhmilch stets einen dunkelbraunen Niederschlag, der aber nicht mehr in so grossen Mengen wie bei den Harnen ausfiel. Rinderblut gab eine dunkelbraune Färbung, aber keinen Niederschlag. Das aus Rindergalle gewonnene Filtrat wurde mit Nessler's Reagens versetzt nur mehr gelb, es enthält also die Rindergalle nur Spuren von Ammoniak.

Ich versuchte auch diese Methode zur quantitativen Bestimmung des Ammoniaks zu verwenden; hiebei stiess ich aber auf sehr grosse Schwierigkeiten und erst nach geraumer Zeit gelang es mir dieselben zu überwinden.

Um in dem nach der angeführten Methode gewonnenen Filtrate das Ammoniak zu bestimmen, konnte ich die bis jetzt angewendeten Methoden nicht benützen. Der Anwendung der Methode Schlösing's stand die bedeutende Verdünnung entgegen, welche die Flüssigkeit erfährt, und es war zu befürchten, dass von der Flüssigkeit Ammoniak zurückgehalten und deshalb ein Fehler begangen werde, der bei Flüssigkeiten, welche wie z. B. die Rindergalle nur Spuren von Ammoniak enthalten, von erheblicher Bedeutung sein müsste. Andererseits sind aber auch im Filtrate noch stickstoffhaltige Körper, wie wir sehen werden, aus denen leicht Ammoniak abgespalten wird, was bei dem langen Contact mit der Kalkmilch umso mehr zu befürchten ist.

Die Verdünnung ist auch das Hinderniss für die Anwendung der Fällung des Ammoniaks durch Platinchlorid, welche Munk, Schmiedeberg benützt haben. Nach Munk und Salkowski gibt Schmiedeberg's Methode sogar bei concentrirtem Hundeharn bis zu 10% zu wenig Ammoniak, welche Angabe ich bestätigen kann.

Von der Arbeit von E. Bosshard,¹ welcher nach E. Schulze mit Phosphorwolframsäure Ammoniak fällt, habe ich erst Kennt-

¹ Über Ammoniakbestimmung in Pflanzensäften und Pflanzenextracten. Zeitsch. f. analyt. Chem. 1883.

niss erhalten, nachdem ich meine Methode schon durchgeführt hatte; ich glaube aber auch hier, dass die grosse Verdünnung der Flüssigkeiten ein Hinderniss abgeben werde.

Ich wollte den Nessler'schen Niederschlag selbst zur Bestimmung benützen; zunächst sollte derselbe so rasch als möglich von der Flüssigkeit getrennt und mit Nessler's Reagens ausgewaschen werden. Ursprünglich versuchte ich die Menge des Ammoniaks durch den Quecksilbergehalt des Niederschlags zu bestimmen; ich hoffte die Fehler möglichst gering zu machen, da die Zahl der Quecksilberatome im Niederschlag eine beträchtliche ist, nach Nessler vier auf ein Atom Stickstoff, und ausserdem das Atomgewicht des Quecksilbers ein sehr hohes ist. Da der Nessler'sche Niederschlag ohne Zersetzung nicht von der quecksilberhaltigen Mutterflüssigkeit durch Auswaschen befreit werden kann, so ist eine directe Bestimmung des im Niederschlage enthaltenen Quecksilbers unmöglich; ich bestimmte daher den Quecksilbergehalt des Nessler'schen Reagens, sodann nach dem Hinzufügen der ammoniakhaltigen Flüssigkeit den der vom Nessler'schen Niederschlag abfiltrirten Flüssigkeit, die verschwundene Quecksilbermenge ist im Niederschlag enthalten. Leider fand ich, dass der Quecksilbergehalt des Nessler'schen Niederschlags kein constanter ist; er ist abhängig von der Concentration der Flüssigkeit in Bezug auf Ammoniak, ein Verhalten, das sehr an das des Harnstoffs bei der Fällung desselben mit einer Lösung von Quecksilberoxydnitrat erinnert. Es würde deshalb die Methode eine sehr umständliche; dazu kommen noch die wiederholten Filterwägungen, so dass ich schliesslich diesen Weg der Ammoniakbestimmung verlassen musste. Ich versuchte es nun aus dem Nessler'schen Niederschlag das Ammoniak wieder zu gewinnen und so zu bestimmen. Ich verwendete hiezu eine Lösung von Salmiak von bekanntem Gehalte, welcher dem der thierischen Flüssigkeiten nahe war; es enthielt das Liter 0·4 Grm. bis 0·6 Grm. Chlorammonium. 20 CC. einer solchen Lösung wurden zu einer Bestimmung verwendet, so dass also 0·008 Grm. bis 0·012 Grm. Chlorammonium zu bestimmen waren. Zuerst brachte ich den ausgewaschenen Nessler'schen Niederschlag mit dem Filter in eine Porzellanschale, fügte etwas Wasser hinzu, säuerte mit Salzsäure an und leitete Schwefelwasserstoff durch,

das Schwefelquecksilber wurde abfiltrirt, das Filtrat in möglichst kurzer Zeit auf dem Wasserbad eingeengt und schliesslich im Platintiegel nach Zusatz einiger Tropfen Salzsäure zur Trockne gebracht etc. und gewogen; sodann auf einer Asbestplatte durch eine halbe Stunde vorsichtig erhitzt und neuerdings gewogen; die Differenz als Chlorammonium berechnet. Die Zahlen waren aber bis zu 10⁰/₀ zu hoch. Ich entfernte nun ausser dem Quecksilber auch noch das Jod, indem ich den Nessler'schen Niederschlag nach dem Übergiessen mit Wasser mit Salpetersäure ansäuerte und sodann Silbernitrat so lange zusetzte, als ein Niederschlag entstand. Aus dem Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff das Quecksilber und das überschüssige Silber entfernt und dann ebenso verfahren, wie vorher angegeben worden ist; auch jetzt noch erhielt ich Zahlen, die gegen 10⁰/₀ zu gross waren. Es wurde versucht, durch Alkalien aus dem Nessler'schen Niederschlag das Ammoniak auszutreiben und in Säuren dasselbe aufzufangen. Direct ist dieses Verfahren nicht möglich, da man das Ammoniak durch Kochen mit Kalilauge aus dem Niederschlag nicht vollständig austreiben kann. Zunächst habe ich das Jod allein ausgeschieden, indem ich Nessler's Niederschlag nach dem Übergiessen mit Wasser mit Salpetersäure ansäuerte und dann durch Höllenstein wie früher das Jod entfernte, hierauf das Filtrat mit Kalilauge kochte und das Ammoniak in vorgelegter verdünnter Säure auffing; ich erhielt aber nur einen Theil des Ammoniaks, in einem Fall sogar überhaupt nur wenige Procente der Gesamtmenge desselben. Es ist also die Gegenwart des Quecksilbers das Hinderniss der Austreibung des Ammoniaks; ist eine Quecksilberverbindung zugegen, so ist es nicht möglich das Ammoniak durch Kali aus Flüssigkeiten vollständig auszutreiben.¹ Deshalb wurde von jetzt ab nur das Quecksilber entfernt; der Niederschlag mit Wasser übergossen, mit Salzsäure angesäuert und durch Schwefelwasserstoff unter gelindem Erwärmen das Quecksilber als Schwefelquecksilber ausgeschieden. Das Filtrat wurde mit Kalilauge gekocht und das Ammoniak in vorgelegter verdünnter Salzsäure aufgefangen; der Inhalt der Vorlage in einer Platinschale auf dem Wasserbad zur Trockne

¹ Bosshard gibt ähnliches an.

gebracht etc., durch Erhitzen das Chlorammonium ausgetrieben und aus der Gewichts-differenz dasselbe bestimmt. Aber auch bei diesem Verfahren waren die Resultate sehr schwankend; es musste deshalb die Methode neuerdings geändert werden. Sehr erschwert wird das Destilliren durch das Stossen und plötzliche Aufschäumen der kalihältigen Flüssigkeit; ich habe daher an Stelle der Kalilauge festes Baryhydrat hinzugesetzt, es kocht dann die Flüssigkeit ganz gleichmässig, wenn man nicht zu viel Baryt anwendet. Ferner bestimmte ich im Destillate das Ammoniak nicht mehr durch Erhitzen des Rückstandes, sondern durch Platinchlorid; es wurde demselben eine wässrige Lösung von Platinchlorid zugesetzt bis die Flüssigkeit orangegelb gefärbt war und dann am Wasserbade eingedunstet, aus dem syrupösen Rückstand durch Alkohol Chlorplatinammonium ausgefällt und dieses nach 10 Minuten auf einem Filter gesammelt, mit Alkohol ausgewaschen, sammt dem Filter getrocknet, in gewogenem Porzellantiegel verascht, das Ganze gewogen und aus dem zurückgebliebenen Platin das Ammoniak berechnet. Die Resultate, welche bei den ersten Analysen sehr befriedigten, waren später dennoch schwankend und sie wurden erst dann constant sehr gute, als ich sehr genau auf die Menge des Rückstandes achtete, welcher bei dem Eindampfen der mit Platinchlorid versetzten Flüssigkeit blieb. Man darf weder zu wenig, noch zu viel eindampfen; ich habe so weit eingeengt, bis sich an der Oberfläche eben Kryställchen von Chlorplatinammonium in Form kleiner Häutchen zeigten. Der Fehler bei diesen Analysen war kleiner als 1%. Endlich habe ich in die Vorlage eine gemessene Menge Normal-salzsäure gebracht und die nach dem Auffangen des Ammoniaks zurückgebliebene freie Säure durch Titration mit Normallauge bestimmt. Ich erhielt um 2% zu wenig; es ist dies ein befriedigendes Resultat, da nur ganz geringe Ammoniakmengen bestimmt wurden und daher durch Zurückhalten durch Pfropfen etc. solche Verluste entstehen können. Dass mit Platinchlorid ein besseres Resultat erhalten wurde, erkläre ich mir dadurch, dass man bei der Bestimmung mit Platinchlorid immer positive Fehler erhält und diese daher den negativen verringern.

Nun musste untersucht werden, ob diese Methode der Ammoniakbestimmung auch bei Anwesenheit der in thierischen

Flüssigkeiten vorkommenden stickstoffhaltigen Körper anwendbar ist. Zunächst musste der Harnstoff berücksichtigt werden, aus dem verhältnissmässig leicht Ammoniak abgespalten werden kann. Der Harnstoff zeigt folgendes, von dem des Ammoniaks abweichende Verhalten gegenüber dem Nessler'schen Reagens: fügt man zu einer wässrigen Lösung von chemisch reinem Harnstoff tropfenweise Nessler's Reagens, so verschwindet bei den ersten Tropfen jedesmal beim Umschütteln der entstandene weisse Niederschlag und die Flüssigkeit bleibt klar und farblos. Erst wenn eine grössere Menge des Reagens zugesetzt worden ist, verschwindet der entstandene weisse Niederschlag nicht mehr.

Damit also der Harnstoff gefällt werde, muss Nessler's Reagens in grösserer Menge zugegen sein, während bei den Ammoniakverbindungen schon die ersten Tropfen desselben bei concentrirten Lösungen den braunen Niederschlag, oder bei verdünnten die gelbe Färbung erzeugen. Es erschien daher möglich, dass durch Nessler's Reagens alles Ammoniak aus einer Flüssigkeit entfernt werden kann, bevor der Harnstoff gefällt wird. Ich löste 0.2072 Grm. chemisch reinen Harnstoff in 20 CC. Salmiaklösung, welche 0.00937 Grm. Chlorammonium enthielten. Zu dieser Harnstoff-Salmiaklösung fügte ich 18 CC. des genau nach Nessler's Vorschrift bereiteten Reagens und filtrirte den entstandenen rothbraunen Niederschlag ab. Zu einer Probe des Filtrats setzte ich tropfenweise Nessler's Reagens und es verschwand nach den ersten Tropfen jedesmal beim Umschütteln der entstandene weisse Niederschlag, erst nachdem mehr zugefügt worden war, verschwand der weisse Niederschlag beim Umschütteln nicht mehr. Es war also durch diese Menge des Nessler'schen Reagens alles Ammoniak ausgefällt worden, während der Harnstoff in Lösung geblieben und erst durch neuerdings im Überschuss zugefügtes Reagens gefällt worden ist. Durch diese Eigenschaft des Harnstoffs ist es möglich durch Nessler's Reagens das Ammoniak vom Harnstoff zu trennen. Ich habe wiederholt Versuche in der gleichen Weise mit denselben Resultaten gemacht. Zu bemerken ist noch, dass das nach dem Ausfalle des Ammoniaks zurückbleibende, den Harnstoff enthaltende Filtrat auch nach drei Stunden noch vollständig klar blieb und erst nach zwölf Stunden

war es trübe und zeigte einen schwachen, gelb-röthlichen Niederschlag am Boden des Gefässes, so dass also die Zerlegung des Harnstoffs durch Nessler's Reagens unter diesen Umständen eine sehr langsame ist.

Nachdem dieses festgestellt worden war, konnte zur quantitativen Bestimmung des Ammoniaks neben Harnstoff nach der früher beschriebenen Methode geschritten werden. Es stellte sich hierbei eine neue Schwierigkeit ein; der Harnstoff, welchen ich als chemisch rein erhielt, enthielt immer Spuren von Ammoniak. Wenn ich zu einer wässerigen Lösung desselben einige Tropfen von Nessler's Reagens hinzufügte, so verschwand allerdings der entstandene Niederschlag beim Umschütteln wieder, aber wenn ich so viel zugesetzt hatte, dass eine bleibende Trübung auftrat, so fiel ein citronengelber und kein weisser Niederschlag aus; erst nachdem ich den citronengelben Niederschlag abfiltrirt hatte, erzeugte ein weiterer Zusatz den weissen Harnstoffniederschlag (der immer eine ganz geringe Spur einer gelblichen Färbung zeigte). Ich habe mit diesem Harnstoff mehrere Bestimmungen vorgenommen; nur eine Analyse soll als Beispiel angeführt werden. Zu 40 CC. Salmiaklösung, welche 0·01864 Grm. Salmiak enthielten, werden 0·2095 Grm. Harnstoff hinzugefügt und mit 35 CC. Nessler's Reagens das Ammoniak ausgefällt; das Filtrat war frei von Ammoniak. Der Niederschlag wurde mit dem Filter in einer Porzellanschale mit Wasser übergossen, mit Salzsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff das Quecksilber entfernt, das Filtrat in einem Kolben nach Zusatz von 12 Grm. Barythydrat destillirt, das Ammoniak in 10 CC. Normalsalzsäure aufgefangen. Das Resultat war um 3·33% zu hoch; dasselbe war auch bei anderen Analysen der Fall. Da überhaupt nur ganz geringe Mengen Ammoniak in thierischen Flüssigkeiten zu bestimmen sind und deshalb auch bei diesen Analysen keine grösseren Mengen angewendet wurden, so bringt die Spur Ammoniak, welche noch im Harnstoff vorhanden ist, schon eine beträchtliche Störung im Resultate hervor. Alle meine Versuche, welche dahin abzielten, aus dem vorhandenen Harnstoff kleinere, vollständig reine Mengen darzustellen, haben mir kein günstiges Resultat ergeben, ich erhielt sogar immer noch mehr Ammoniak. Um dennoch zum Ziele zu gelangen, habe ich folgenden Weg eingeschlagen. Die

gewogene Menge Harnstoff wurde in etwas Wasser gelöst und so viel gemessene Mengen von Nessler's Reagens zugesetzt, dass ein reichlicher, citronengelber Niederschlag ausfiel. Dieser wurde abfiltrirt und mit ihm also alles Ammoniak entfernt; nun wurde der Salmiaklösung rasch (damit durch Abdunsten des Ammoniaks aus der alkalischen Lösung kein Verlust eintrete) der Rest der entsprechenden Menge von Nessler's Reagens hinzugefügt und nun wie gewöhnlich weiter verfahren. Es sei mir gestattet eine Analyse als Beispiel anzuführen. 0.400 Grm. Harnstoff wurden in etwas Wasser gelöst, 17 CC. Nessler's Reagens hinzugefügt, der gebildete citronengelbe Niederschlag abfiltrirt. Zum Filtrat wurden 40 CC. Salmiaklösung, welche 0.01864 Grm. Salmiak enthielten, und sofort weitere 22 CC. von Nessler's Reagens hinzugefügt, so dass insgesamt 39 CC. von Nessler's Reagens verwendet worden waren. Das Filtrat war frei von Ammoniak und aus ihm stellte ich den noch in demselben vorhandenen Harnstoff dar. Der Niederschlag wurde zehnmal mit verdünntem Nessler'schen Reagens (1 : 3) gewaschen, das Washwasser mit dem Filtrat zur Harnstoffdarstellung vereinigt; hierauf wurde Filter und Niederschlag mit Wasser übergossen, mit Salzsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff das Quecksilber entfernt, das Filtrat mit den Washwässern im Kolben mit 12 Gr. Barythydrat destillirt, das Ammoniak in 10 CC. Normalsalzsäure aufgefangen, der Rest der freien Säure durch Titration bestimmt. Das Resultat ist:

Chlorammonium berechnet	0.01864 Grm.	(100%)	} 1
„ gefunden	0.01830 Grm.	(98.18%)	

Das vom Nessler'schen Niederschlage getrennte Filtrat wurde mit den entsprechenden Washwässern vereinigt und mit Schwefelsäure neutralisirt, bei 60° auf dem Wasserbad eingeengt, mit Alkohol versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit Alkohol ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit dem zum Waschen verbrauchten Alkohol vermengt, bei niederer Temperatur eingeengt, der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert, durch

¹ Um einen rascheren Überblick zu gewinnen, setze ich in dieser Arbeit immer bei zwei zu vergleichenden Analysen der grösseren 100% und der kleineren die entsprechend kleinere Zahl bei.

Schwefelwasserstoff das Quecksilber entfernt, bei niederer Temperatur und schliesslich über Schwefelsäure zur Trockne gebracht und gewogen; ich erhielt noch 0.1871 Grm. Harnstoff, welcher alle Reactionen des Harnstoffs gab, mit Salpetersäure sowohl wie mit Oxalsäure die charakteristischen Krystalle, die Biuretreaction etc. Es ist also möglich mit-Hilfe von Nessler's Reagens das Ammoniak neben Harnstoff zu bestimmen.

Von den in thierischen Flüssigkeiten in grösseren Mengen vorkommenden Substanzen hatte ich nur den Harnstoff zu fürchten, da aus ihm am leichtesten unter diesen Verhältnissen das Ammoniak abgespalten wird; es würde mich zu weit geführt haben, wenn ich die in geringer Menge vorkommenden bekannten Substanzen ebenso einzeln in das Bereich der Prüfung gezogen hätte, ich prüfte deshalb die Methode sofort an den Flüssigkeiten selbst, es musste sich die Verwendbarkeit hierbei vollständig feststellen lassen. Stets wurden von derselben Flüssigkeit zwei Analysen unter denselben Umständen gemacht; Harn und Milch wurden sofort zur Analyse verwendet, wobei letztere immer vorher rasch wiederholt von einem Becherglas in ein anderes gegossen wurde, um alle Bestandtheile derselben gut mit einander zu vermengen, damit beide Proben möglichst gleich zusammengesetzte Milch enthielten. Von Galle und Blut jedoch wurden gemessene und gewogene Mengen mit gleichen, gewogenen Mengen Wasser innigst gemischt, und dieses Gemisch wurde zur Bestimmung benützt. Es ist dieses deshalb nothwendig, weil es mir nie gelungen ist, zwei gleich zusammengesetzte Proben von Blut und Galle zu bekommen, es zeigte sich dieses schon in den sehr verschiedenen Gewichten gleicher Volumina dieser Flüssigkeiten. Bei Harn und Milch fügte ich das doppelte und bei den Galle- und Blutgemischen das gleiche gemessene Volumen einer kalt gesättigten Kupfersulphatlösung zur gewogenen Flüssigkeit, neutralisirte genau mit Barytlösung, welche ich aus einer Bürette zufließen liess, so dass deren Volumen bekannt war. Eine genau gemessene Menge des Filtrates (etwas mehr als die Hälfte der Gesamtfüssigkeit) wurde mit dem halben Volumen Nessler's Reagens versetzt, der Niederschlag auf einem Filter gesammelt, sechsmal mit verdünntem Reagens (1 : 1) ausgewaschen und dann sammt dem Filter mit Wasser übergossen, mit Salzsäure angesäuert, mit

Schwefelwasserstoff das Quecksilber entfernt, vom Schwefelquecksilber in einem langhalsigen Kolben abfiltrirt, fünf- bis sechsmal nachgewaschen, zu diesem mit den Waschwässern vereinigten Filtrat 12 Grm. Barythydrat gefügt und destillirt; das Ammoniak wurde in gemessener Menge vorgelegter Normalsalzsäure aufgefangen und der Rest der freien Säure durch Titration bestimmt. Menschenharn bot bei den Analysen keine besonderen Schwierigkeiten; durch Zusatz von Nessler's Reagens fiel sofort ein reichlicher Niederschlag aus, das von ihm getrennte Filtrat gab mit dem Reagens keinen weiteren braunen Niederschlag und keine Gelbfärbung, erst nach dem Zusatz grösserer Mengen desselben fiel der weisse Harnstoffniederschlag aus. Ich will eine Analyse als Beispiel anführen. Von Morgenharn, dessen spezifisches Gewicht 1·022 war, wurden zwei Proben zu je 10 CC. zur Ammoniakbestimmung genommen; die eine Probe ergab 0·1101% (100%) Ammoniak, die andere 0·1041% (94·55%) Ammoniak. Die Übereinstimmung der beiden Analysen ist also keine so befriedigende, wie ich es doch nach den Resultaten der Bestimmungen des Ammoniaks neben Harnstoff hätte erwarten können.

Der Hundeharn zeigt eine bedeutende Abweichung im Verhalten zu Nessler's Reagens; während beim Menschenharn der Zusatz von einem halben Volumen des Reagens zur vollständigen Fällung des Ammoniaks genügte, musste beim Hundeharn mehr als das vierfache Volumen zur vollständigen Fällung genommen werden, also achtmal so viel als bei den übrigen Flüssigkeiten. Auch beim Hundeharn sind die Resultate unbefriedigend gewesen.

Der bei der Kuhmilch entstandene Niederschlag brauchte einige Zeit um sich zu ballen und konnte erst, nachdem er einige Zeit gestanden hatte, abfiltrirt werden. Das Filtrat zeigte eine Eigenthümlichkeit; es floss ganz klar ab, aber nach kurzer Zeit trübte es sich, indem zuerst ein gelblicher Niederschlag auftrat, der dann der Reihe nach roth, rothbraun, schwarzbraun, endlich schwarz wurde. Offenbar wurde das Quecksilbersalz des Filtrates durch den in demselben noch enthaltenen Milchzucker reducirt. Zwei Analysen einer frischen Kuhmilch ergaben 0·01426% (100%) Ammoniak und 0·01097% (76·93%) Ammoniak; also ist die Übereinstimmung eine äusserst schlechte und daher ist diese Methode der Ammoniakbestimmung für die Milch geradezu unbrauchbar.

Ebenso schlimm steht es bei der Rindergalle und dem Rinderblut. Zunächst tritt der Nessler'sche Niederschlag nicht sofort nach dem Zusatz des Reagens auf, sondern ich musste eine volle Viertelstunde warten, bis ich ihn sammeln konnte. Zwei mit Rindergalle ausgeführte Analysen ergaben 0.0086% (100%) Ammoniak und 0.0063% (72.58%) Ammoniak; demnach ist die Übereinstimmung ebenfalls eine sehr schlechte.

Das vom Nessler'schen Niederschlag beim Rinderblut getrennte Filtrat zeigte eine ähnliche Veränderung wie das bei der Milch; es floss klar ab, nach einiger Zeit wurde es trüb, die anfangs gelbe Trübung ward schliesslich grau, eine Erscheinung, welche ebenfalls auf Reduction der Quecksilbersalze durch den im Blut enthaltenen Zucker beruht. Zwei mit demselben Blut ausgeführte Analysen ergaben 0.01363% (100%) Ammoniak und 0.01119% (82.13%) Ammoniak; es ist also die Methode für das Blut ebenfalls nicht verwendbar.

Der Grund dieser grossen Differenzen der Resultate der einzelnen Analysen kann nur der sein, dass in den thierischen Flüssigkeiten Substanzen enthalten sind, aus denen das Ammoniak leichter als aus Harnstoff abgespalten werden kann; denn bei den Flüssigkeiten, bei welchen des grösseren Ammoniakgehaltes wegen sich der Nessler'sche Niederschlag sofort ausscheidet und deshalb allsogleich abfiltrirt wurde (Harn), finden sich auch die geringsten Differenzen.

Unter diesen Umständen blieb mir nichts anderes mehr übrig, als zur colorimetrischen Methode zu greifen, die mich auch glücklich zum Ziele führte.

Wanklyn hatte zur Bestimmung des Ammoniaks im Trinkwasser die colorimetrische Methode verwendet.¹ Er benützte mehrere Glaseylinder, aus weissem Glase und von gleichen Dimensionen, welche an der Stelle bis wohin sie 50 CC. fassten mit einer Marke versehen waren. In einen der Cylinder liess er 50 CC. der zu untersuchenden Flüssigkeit² fliessen und setzte 2 CC. Nessler's Reagens zu; in einen zweiten Cylinder liess er

¹ J. A. Wanklyn, Water-Analysis etc. London 1876.

² Wanklyn nahm nicht das Trinkwasser direct zur Untersuchung, sondern die ersten 50 CC. des Destillats von einem halben Liter der zu untersuchenden Flüssigkeit.

aus einer Bürette eine gewisse Menge einer Salmiaklösung, welche $\frac{1}{100}$ Mg. Ammoniak im CC. enthielt, einfließen, füllte destillirtes Wasser bis zur Marke nach, setzte 2 CC. Nessler's Reagens zu und verglich die Farbe der Lösungen, welche in den auf eine weiße Unterlage gebrachten Cylindern enthalten waren. Sind die Lösungen gleich dunkel, so enthalten die 50 CC. der untersuchten Flüssigkeit ebensoviel Ammoniak, als in der angewendeten gemessenen Salmiaklösung enthalten ist; ist die Farbe der Salmiaklösung heller, so wird ein neuer Versuch mit mehr Salmiaklösung, im entgegengesetzten Falle mit weniger Salmiaklösung gemacht und das so lange fortgesetzt, bis die Färbung der Probe der Salmiaklösung gleich ist der der untersuchten Flüssigkeit.

Ich musste für die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten diese Methode modificiren. Da durch das im Nessler'schen Reagens im Überschuss vorhandene Kali allmählich Ammoniak aus den stickstoffhaltigen Körpern dieser Flüssigkeiten abgespalten wird, so habe ich nicht die zu untersuchende, mit dem Reagens versetzte Flüssigkeit während der ganzen Dauer der Procedur als Vergleichsflüssigkeit behalten und die Salmiaklösung von bekanntem Gehalt der Menge nach in der zu vergleichenden Lösung variirt, da während der hierzu notwendigen Zeit Ammoniak abgespalten und deshalb die Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit bedeutend nachdunkeln würde und das erhaltene Resultat falsch wäre. Ich behielt daher die Salmiaklösung von bekanntem Gehalt zum Vergleich und variierte die Portionen der zu untersuchenden Flüssigkeit. Es ist hierbei zu bemerken, dass auch bei der reinen Salmiaklösung ein Nachdunkeln stattfindet, am schnellsten geschieht dies in den ersten 10 Minuten nach dem Vermischen mit Nessler's Reagens, später ist die Zunahme der Farbenintensität nicht mehr bedeutend; ich habe deshalb bei allen Proben 10 bis 15 Minuten nach dem Vermischen mit dem Reagens gewartet, bevor ich die Farbe derselben mit der der reinen Salmiaklösung verglich.

Die Methode,

welche ich bei der quantitativen Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten befolgte, ist im Allgemeinen folgende: In ein gegen 120 CC. fassendes Becherglas werden mit einer

Pipette 20 CC. einer kaltgesättigten Kupfersulphatlösung gebracht, sodann wird das Ganze gewogen, mit derselben Pipette 20 CC. der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzugefügt und neuerdings gewogen, die Gewichtszunahme ist das Gewicht der zu untersuchenden Flüssigkeitsprobe. Die Mischung wird mit gesättigtem Barytwasser mit Hilfe von neutralem Lackmuspapier¹ sorgfältigst neutralisirt und dann in einen Litermesskolben gebracht; das Becherglas wird mit Wasser wiederholt ausgespült und dieses Spülwasser mit der Flüssigkeit im Kolben vereinigt und Wasser bis zur Marke des Kolbens unter stetem Umschwenken hinzugefügt, filtrirt, das gewonnene Filtrat direct zur Bestimmung des Ammoniaks verwendet — es muss vollkommen klar und farblos sein.

Drei über 100 CC. fassende Bechergläser von ganz gleichen Dimensionen (solche sind sehr leicht zu haben), so dass nach dem Einfüllen von 100 CC. Flüssigkeit mittelst ein und derselben Pipette das Niveau der Flüssigkeiten in allen dreien gleich hoch steht, werden auf den Deckel eines entsprechend grossen, niederen, mit aufgeschliffenem Glasdeckel versehenen Präparatenglases, wie sie von den Anatomen verwendet werden, gestellt; unter dem Glase befindet sich ein weisser Papierbogen. 4 bis 40 CC. (die Menge variirt je nach der Natur der Flüssigkeit, wie wir später bei den einzelnen Flüssigkeiten sehen werden) einer Salmiaklösung, welche 0.01 Mg. Ammoniak im CC. enthält, lässt man aus einer Bürette in einen 100 CC. fassenden Messkolben fliessen und fügt bis zur Marke Wasser hinzu. Der Kolbeninhalt wird in eines der Bechergläser gegossen und unter stetem Umrühren werden 5 CC. Nessler's Reagens zugesetzt. Von dem Probefiltrat werden 40 CC. ebenfalls in einen 100 CC. fassenden Messkolben aus einer Bürette einfliessen gelassen und mit Wasser bis zur Marke der Kolben ausgefüllt; diese Flüssigkeit wird ebenfalls in eines der drei Bechergläser gebracht, 5 CC. Nessler's Reagens unter stetem Umrühren hinzugefügt und nach 10 bis 15 Minuten die Intensität der Färbung mit der der Probe der Salmiaklösung verglichen, sodann auf einem Blatt Papier die Zahl 40 CC. mit + bezeichnet, wenn die Intensität auf Seite des Filtrates grösser, mit —, wenn sie kleiner ist als auf Seite der Salmiaklösung. Ist

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 3. Band. S. 165.

sie mit — bezeichnet worden, so muss neuerdings eine Probe vom Filtrat mit mehr als 40 CC. genommen und dieses so lange fortgesetzt werden, bis man vor einer Probe endlich das Zeichen + erhält. Ist jedoch bei der ersten Probe schon + vorgesetzt worden — was in der Regel der Fall ist — so stellt man eine neue Probe des Filtrates für das dritte Becherglas in der eben beschriebenen Weise her, bei welcher man nur die halb so grosse Menge der Flüssigkeit, also 20 CC. in unserem Falle in den Messkolben hat einfliessen lassen; wird die Probe auch noch mit + bezeichnet, so wird neuerdings eine Probe hergestellt, bei welcher die Zahl der verwendeten CC. des Probefiltrates neuerdings um die Hälfte verkleinert worden ist, und so fort bis man eine Probe hat, welche mit — bezeichnet ist. Ist die den 20 CC. entsprechende Probe schon mit — bezeichnet, so hat man also sofort den Ammoniakgehalt der Salmiaklösung zwischen dem der + und — Probe eingeschlossen. Ich brauche nicht zu erwähnen, dass die Probe, welche schon mit dem Zeichen versehen worden ist, im Bedarfsfalle beseitigt und das Becherglas für die Aufnahme einer neuen Probe gereinigt wird. Um die Grenzen einander zu nähern, wird eine Probe, welche dem Mittel der Zahl der CC. des Probefiltrates der kleinsten + und der grössten — Probe entspricht, mit der Salmiaklösung verglichen und entsprechend bezeichnet; man fährt in dieser Weise fort, indem man stets das Mittel aus den Zahlen der kleinsten + und der grössten — nimmt, bis die Grenzwerte nur mehr eine Differenz von 0.3 bis 0.8 CC. zeigen. Aus diesen letzten + und — Grenzwerten wird das Mittel genommen und zur Rechnung verwendet. Man setzt den Ammoniakgehalt der Volumseinheit der dem Mittel entsprechenden Probe gleich dem der Volumseinheit der der Salmiaklösung; es ist also in den 100 CC. der Probe vom Probefiltrat eben so viel Ammoniak enthalten, als in der Vergleichsprobe der Salmiaklösung — die zugesetzte Menge derselben, also auch die des Ammoniaks ist bekannt. Diese Ammoniakmenge ist in der dem Mittel entsprechenden Menge des Probefiltrates enthalten, man berechnet daraus die im ganzen Liter des Filtrates enthaltene Ammoniakmenge, welche also der zur Herstellung des Filtrates verwendeten und gewogenen Flüssigkeitsmenge entspricht; hieraus berechnet man den Procentgehalt der entsprechenden Flüssigkeit.

Besser als jede weitläufige Beschreibung wird ein Beispiel das Verfahren erläutern; ich verweise auf die ausführlich mitgetheilte Analyse des Menschenharns (Seite 19). Es ist früher angeführt worden, dass ich stets zwei Analysen in vollkommener Übereinstimmung ausgeführt habe, wobei es bei der zweiten Analyse nicht mehr nothwendig ist mit eben so weit auseinander liegenden Grenzen wie bei der ersten zu beginnen; man fängt, die Erfahrung bei der ersten Analyse benützend, mit Grenzen an, welche um 0·5 bis 1·0 CC., oder noch weniger im Sinne des entsprechenden Zeichens von den letzten Grenzen der ersten Analyse abgerückt sind, wie dieses ebenfalls das angeführte praktische Beispiel zeigt.

Diese Beschreibung entspricht der beim Harn und bei der Milch angewendeten Methode, für Blut und Galle jedoch musste diese etwas modificirt werden, und es soll diese Modification bei der Untersuchung dieser Flüssigkeiten selbst angegeben werden. Die Methode selbst habe ich zuerst mit reiner Salmiaklösung geprüft; zuerst wurde eine concentrirtere Lösung von bekanntem Gehalte gemacht, mittelst welcher ich erst die verdünntere, welche 0·01 Mg. Ammoniak, also 0·0314 Mg. Chlorammonium in CC. enthält, hergestellt habe. Mit Hilfe dieser Methode habe ich mittelst der 0·01 Mg. Ammoniak im CC. enthaltenden Lösung den bekannten Gehalt der concentrirteren bestimmt. Wenn ich diesen bekannten Gehalt mit 100⁰/₀ bezeichne, so wurden davon 98·51⁰/₀ durch diese Methode gefunden; es ist dieses Resultat also ein sehr befriedigendes gewesen und ich habe deshalb die Methode sofort an den thierischen Flüssigkeiten selbst geprüft; untersucht wurden Menschenharn, Hundeharn, Kuhmilch, Ochsen-galle, Ochsenblut.

Menschenharn. Alle Messgefäße habe ich mit Hilfe einer bestimmten Bürette geaicht, von der ich mich überzeugt hatte, dass die Volumina, welche den obersten Theilstrichen entsprechen, nur ganz unbedeutend von denen der unteren Theilstriche abweichen, so dass diese Differenz vollständig vernachlässigt werden konnte. Der Inhalt aller Messgefäße ist also in Volumseinheiten dieser Bürette angegeben; ich will dieses dadurch anzeigen, dass ich dem Zeichen CC. ein *b* als Index in der Form CC._b beifüge. Der Litermesskolben fasste 1001·85 CC._b, die verwendete 20 CC. Pipette 19·90 CC._b; der 100 CC. fassende Mess-

Kolben ist nicht geaicht, es wurde zu allen Analysen ein und derselbe verwendet.

Das spezifische Gewicht des Harns war 1.021.

1. Analyse.

Gewicht von 19.90 CC. _b Kupfervitriollösung mit dem des Becherglases	76.0648 Grm.
Dasselbe mit 19.90 CC. _b Harn	96.4203 „
	<hr/>
Gewicht des Harns	20.3555 Grm.

Das Gemisch wird mit Barytwasser neutralisirt, in den Litermesskolben gespült und dieser mit Wasser bis zur Marke unter Umschwenken vollgefüllt; der Kolbeninhalt wird filtrirt, das Filtrat ist klar und farblos.

2. 19.90 CC._b = 39.80 CC._b der Salmiaklösung, welche in 1 CC._b 0.01 Mg. Ammoniak enthält, werden in den 100 CC.-Kolben mittelst der 20 CC.-Pipette gebracht und Wasser bis zur Marke unter Umschwenken nachgefüllt, der Kolbeninhalt in das eine der drei Bechergläser gebracht und unter stetem Umrühren 5 CC. Nessler's Reagens hinzugefügt. In genau derselben Weise wurde bei den nachfolgenden Proben des Filtrats verfahren; der 100 CC.-Kolben wurde natürlich jedesmal sorgfältig gereinigt.

Proben des untersuchten Filtrats.

— 30 CC. _b	Mittel aus 35.0 CC. _b und 35.7 CC. _b = 35.35 CC. _b
— 35 „	35.35 CC. _b des Filtrats enthalten $39.80 \cdot \frac{1}{100}$ Mg. NH ₃
+ 48 „	= 0.0003980 Grm. Ammoniak
+ 41 „	1001.85 CC. _b des Filtrats enthalten 0.01127 Grm. NH ₃ , daher
+ 38 „	20.3555 Grm. Harn ebenfalls 0.01127 Grm. NH ₃
+ 36.5 „	
+ 35.7 „	100 Grm. Harn 0.0553 Grm. NH ₃ (99.28 ^o / _o).

2. Analyse.

Gewicht von 19.90 CC. _b Kupfervitriollösung mit dem des Becherglases	71.0131 Grm.
Dasselbe mit 19.90 CC. _b Harn	91.3152 „
	<hr/>
Gewicht des Harns	20.3021 Grm.

Alles übrige ist wie bei der 1. Analyse durchgeführt worden.

Proben des untersuchten Filtrats.

— 34·0 CC. _b	Mittel aus 35·0 CC. _b und 35·5 CC. _b = 35·25 CC. _b
+ 36·0 „	35·25 CC. _b des Filtrates enthalten also 0.0003980
— 35·0 „	Grm. NH ₃
+ 35·5 „	1001·85 CC. _b des Filtrates enthalten also
	0·01131 Grm. NH ₃ , daher
	20·3021 Grm. Harn ebenfalls 0·01131 Grm. NH ₃
	100 Grm. Harn enthalten 0·0557 Grm. NH ₃
	(100 ⁰ / ₀).

Die Übereinstimmung der Resultate ist also eine sehr befriedigende.

Nimmt man zur Vergleichsprobe 100 CC. von der Salmiaklösung, welche 0·01 Mg. im CC. enthält, selbst, so dass die andern Proben ebenfalls concentrirter in Bezug auf das zu untersuchende Filtrat sein müssen, so tritt in diesen Proben in kurzer Zeit Trübung ein, so dass kein Vergleich möglich ist, während die Probe der Salmiaklösung klar bleibt; daraus muss ich schliessen, dass der Menschenharn Substanzen enthält, welche leichter als das Ammoniak durch das Nessler'sche Reagens gefällt werden, da ich bei dieser grossen Verdünnung nicht annehmen kann, dass etwa durch die Anwesenheit gewisser Verbindungen die Fällbarkeit des Nessler'schen Niederschlages vergrössert wird, und da ausserdem die Farbe der Trübung lichter ist als die, welche dem Nessler'schen Niederschlag entspricht.

Ich habe mehrmals beim Menschenharn die Resultate der Analysen in der Weise controlirt, dass ich nochmals die Probe mit der Salmiaklösung, dann mit der Menge des Filtrats, welche der kleinsten positiven Probe und ebenso mit der, welche der grössten negativen Probe, welche somit den beiden zur Rechnung verwendeten Proben entsprachen, anstellte und nun rasch nach einander in jede der Proben 5 CC. Nessler's Reagens brachte, so dass fast gleichzeitig die Proben hergestellt und mit einander sofort verglichen wurden. Die Resultate blieben dieselben, welche ich bei der eben beschriebenen Methode erhalten habe. Nur beim Harn habe ich dieses durchgeführt, da bei den andern Flüssigkeiten die im ersten Momente entstehende grünliche Farbe den Vergleich hindert.

Hundeharn. Nur eine Analyse soll als Beispiel angeführt werden. Das spezifische Gewicht des untersuchten Harns war 1·018; das Resultat der ersten Analyse ist 0·07997% (100%) Ammoniak, das der zweiten Analyse 0·08080% (98·97%) Ammoniak. — Die Übereinstimmung ist ebenfalls sehr befriedigend. Bei diesem Harn wurden wie beim Menschenharn 39·80 CC_v der Salmiaklösung für die Vergleichsprobe genommen.

Kuhmilch. Es musste hier eine geringere Concentration der Vergleichsflüssigkeit angewendet werden, da sich sehr bald immer Trübungen der einzelnen Proben einstellten. Ich hatte schliesslich für die Vergleichsprobe nur 6 CC_v der Salmiaklösung aus einer zweiten, mit Hilfe der ersten geaicheten Bürette zufließen lassen, also etwas mehr als den siebenten Theil der beim Harn verwendeten Menge. Die Trübungen rühren offenbar davon her, dass in der Milch ebenfalls Substanzen sind, die leichter als Ammoniak durch das Nessler'sche Reagens gefällt werden, da die gleichconcentrirte Probe einer Salmiaklösung klar bleibt. Die beiden Analysen einer Milch lieferten als Resultate 0·02115% (100%) Ammoniak und 0·02097% (99·13%) Ammoniak. Störend bei den Milchanalysen ist der Farbenton, welchen die mit dem Probefiltrat versetzten Proben zeigen; sofort nach dem Zusatz von Nessler's Reagens werden dieselben gelblichgrün, erst nach zehn Minuten tritt der gelbe Farbenton so vor, dass eine Bestimmung möglich ist. Die Ursachen dieser Erscheinungen sind die ganz geringen Spuren von Kupfer, welche trotz der sorgfältigsten Neutralisation zurückbleiben; versetzt man eine Probe statt mit Nessler's Reagens mit Kalilauge allein, so nimmt die scheinbar farblose Flüssigkeit sofort einen blauen Ton an, dieser gibt mit dem durch Nessler's Reagens hervorgerufenen gelben Ton die Mischfarbe Grün, bis endlich durch das Nachdunkeln das Gelbe überwiegt. Beim Harn ist der grüne Ton nicht erschienen, da von vorneherein infolge des hohen Ammoniakgehaltes das Gelb allein hervortritt.

Rindergalle. Ein geräumiges Becherglas wird gewogen, dann werden 50 CC. Rindergalle mittelst einer Pipette in dasselbe gebracht und neuerdings gewogen, ferner mittelst derselben Pipette 50 CC. Wasser zugesetzt und gewogen; die einzelnen Gewichts-differenzen ergaben 51·1182 Grm. Galle und 49·9605 Grm.

Wasser; nach gründlichem Vermischen der Galle und des Wassers wurde das Gemisch filtrirt. Zu 19·90 CC._b (mit der Pipette gemessen) kaltgesättigter Kupfervitriollösung werden 2·19·90 CC._b = 39·80 CC._b der verdünnten Galle hinzugesetzt und der übrige Theil der Analyse, wie früher angegeben worden ist, durchgeführt. Zur Vergleichsprobe habe ich nur 4 CC._b der Salmiaklösung nehmen können, da sehr rasch Trübungen bei den Proben eintraten, veranlasst durch die durch Nessler's Reagens leichter als Ammoniak fällbaren Substanzen.

Die infolge dieser Abänderung nothwendige Änderung in der Rechnung ist natürlich leicht ersichtlich. Ich will die Resultate nur einer Analyse anführen; die erste Probe ergab 0·00282% (98·63%) Ammoniak, die zweite Probe 0·00285% (100%) Ammoniak. Da also das Ammoniak geradezu nur in Spuren in der Galle vorkommt, so ist die Bestimmung bei derselben auch schwieriger als bei den anderen Flüssigkeiten; auch hier tritt anfangs der bei der Milch erwähnte grünliche Farbenton der Probe aus denselben Gründen auf. Hiezu kommt noch eine Störung bei der Vergleichsprobe; ich konnte keine länger als $\frac{3}{4}$ Stunden benützen, da bei der grossen Verdünnung eine Zersetzung eintrat mit Ausscheidung von Quecksilberjodid in Form rother Krystalle, woher der röthliche Farbenton der Probe rührt, der bei seinem Auftreten natürlich die Vergleichung unmöglich macht.

Rinderblut. 100 CC., 105·2466 Grm. Ochsenblut wurden mit 100 CC., 100·0469 Grm. Wasser gemischt, bei den einzelnen Proben 39·80 CC._b Kupfersulfatlösung mit 79·60 CC._b des verdünnten Blutes vermenget, mit Barytwasser sorgfältigst neutralisirt und zu 1001·85 CC._b mit Wasser ergänzt u. s. w.; für die Vergleichsprobe wurden 6 CC._b der Salmiaklösung verwendet, 15 Minuten nach dem Vermischen mit Nessler's Reagens gewartet und dann erst verglichen. Das Nachdunkeln war beim Blut besonders auffallend und es wurde genau dieselbe Zeit hindurch bei allen Versuchen gewartet (15 Minuten), bis der Vergleich vorgenommen wurde. Die beiden Proben einer Analyse ergaben als Resultate: 0·00787% (100%) Ammoniak und 0·00776% (98·59%) Ammoniak.

Ich habe Schlössing's Methode beim Menschenharn geprüft und wie andere Autoren schon angeben (Hallervorden¹) gefunden, dass nach 48 Stunden noch Ammoniak in der Luft der Glocke nachzuweisen war und dass nach dieser Zeit die mit dieser Methode gefundene Ammoniakmenge zu gering ist. Beim Hundeharn erging es mir mit dieser Methode wie Walter¹, nach 8 Tagen war noch Ammoniak in der Glockenluft nachzuweisen, trotzdem erhielt ich bei der Analyse immer viel zu grosse Mengen desselben, es sind also durch die Kalkmilch in diesem Harn stickstoffhaltige Substanzen zerlegt worden; Munk und Salkowski¹ erhielten beim Hundeharn, wenn nur Fleisch verfüttert worden ist, gute Resultate.

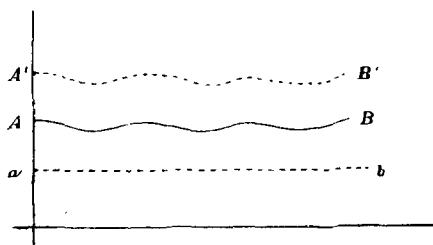
Es scheint daher die Brauchbarkeit dieser Methode beim Hundeharn von der Nahrung abzuhängen; ich habe immer den Harn von Thieren untersucht, welche dem Institute zur Vertilgung übergeben und daselbst nicht mehr gefüttert worden sind, sie haben also wahrscheinlich gemischte Kost erhalten. Bei demselben Hundeharn, von dem ich früher (Seite 21) die nach der colorimetrischen Methode gewonnenen Resultate mitgetheilt habe, wendete ich auch Schmiedeberg's Methode an und erhielt damit beinahe um 20% zu niedrige Resultate. Das Mittel aus dem mit Hilfe der colorimetrischen Methode gewonnenen Resultate ist 0.08038% (100%) Ammoniak und nach Schmiedeberg's Methode erhielt ich 0.06445% (80.18%) Ammoniak. Es ist also durch das Platinchlorid trotz des Äther-Alkoholzusatzes nicht alles Ammoniak gefällt worden; ich dunstete auf dem Wasserbade bei 60° Celsius das von dem durch Platinchlorid erzeugten Niederschlag abgelaufene Filtrat ein — es ging dieses sehr rasch, da ja der Äther-Alkohol mit etwas Wasser rasch verdunstet — und ich erhielt beim Erkalten neuerdings Krystalle, die ich auf einem Filter sammelte, mit Äther-Alkohol auswusch und nach dem Verdunsten desselben mit etwas Salzsäure und Zink reducirte. Im Filtrate erhielt ich mit Nessler's Reagens einen sehr starken rothbraunen Niederschlag, und durch Kalkmilch wurde in einem Becherglase reichlich Ammoniak ausgetrieben, das ich

¹ l. c.

mit rothem Lackmuspapier leicht nachweisen konnte. Bei einem andern Hundeharn habe ich das Filtrat im Vacuum über Schwefelsäure eingeengt, wozu ich zwei Tage brauchte, so dass das Platinchlorid statt 24, dreimal 24 Stunden mit dem Harn in Berührung war; auch hier konnte ich in dem ebenso, wie ich früher beschrieben habe, gewonnenen Filtrate mit Hilfe von Nessler's Reagens Ammoniak nachweisen und es ebenso durch Kalkmilch aus demselben austreiben. Diese Beobachtung war bei jedem analysirten Hundeharn bezüglich der Schmiedeberg'schen Methode zu machen. Wenn auch die Schwankungen des Ammoniakgehaltes des Harns gross sind — die Einflüsse auf dieselben sind durch verschiedene Arbeiten klargelegt worden — so interessirt es doch, das Verhältniss des in Form von Ammoniak ausgeschiedenen Stickstoffes zur Gesamtmenge desselben im Harn in einem concreten Falle zu kennen. Ich habe bei Menschenharnen dasselbe mehrmals bestimmt, nur ein Beispiel will ich anführen. Das specifische Gewicht eines Nachmittagharns war 1·021, die colorimetrische Methode gab in zwei Proben 0·05541% (99·46%) Ammoniak und 0·05571% (100%) Ammoniak, also im Mittel 0·05556% Ammoniak. Die Menge des nach der Seegen'schen Methode bestimmten Stickstoffes war 1·008% Ammoniak. Der 18. Theil des gesammten im Harn enthaltenen Stickstoffes wurde in Form von Ammoniak ausgeschieden, so dass die Lehre, dass der Stickstoff wesentlich in Form von Harnstoff und nicht von Ammoniak ausgeschieden werde, nicht mehr aufrecht zu erhalten ist.

Zum Schlusse muss ich die Frage erörtern, ob die Resultate, die man in Bezug auf die Rolle des Ammoniaks mit den weniger zuverlässigen Methoden erhalten hat, aufrecht bleiben. Zunächst haben Munk und Salkowski mit der Schlösing'schen Methode zuverlässige Resultate erhalten, indem sie reine Fleischfütterung anwendeten, während ich die Methode bei gemischter Nahrung geprüft habe. Hallervorden hat bei Menschenharn ebenfalls zuverlässige Resultate erhalten. Die von Walter nach Schmiedeberg's Methode gewonnenen Resultate bleiben ebenfalls aufrecht, da bei Schmiedebergs Methode der Fehler dadurch bedingt wird, dass durch Äther-Alkohol nicht alles Chlorplatinammonium aus dem Harn gefällt wird; da nun stets die-

selben Flüssigkeitsvolumina unter den gleichen äusseren Verhältnissen angewendet wurden, so ist die bei jeder Analyse



gelöst gebliebene Menge fast immer dieselbe gewesen. Wenn nun in der nebenstehenden Figur die Curve *AB* die Schwankungen der Ammoniakmenge bei einer Untersuchungsreihe darstellt, so stellte

die zur Abscissenachse parallele Gerade *ab* die Curve der gelöst gebliebenen Ammoniakmenge dar. Die wahre Curve *A¹B¹* erhält man durch Addition beider, sie zeigt genau dieselben Schwankungen wie *AB*, nur ist sie zu dieser parallel von der Abscissenachse weiter abgeschoben. Da die Resultate Walter's nicht auf den absoluten Zahlen, sondern auf diesen Schwankungen ruhen, so bleiben sie unverändert.

Schliesslich will ich die Resultate der mitgetheilten Analysen in einer kleinen Tabelle zusammengestellt überblicken.

Ammoniakmengen.

Flüssigkeit	Mittel aus den zwei Analysen
Menschenharn, spec. Gew. 1·021	0·055500%
Hundeharn, spec. Gew. 1·018	0·080380%
Kuhmilch	0·021060%
Rinderblut	0·007810%
Rindergalle	0·002830%

Die Analysen der drei letzten in der Tabelle enthaltenen Flüssigkeiten sind besonders zu berücksichtigen, da sie an derselben Thierart, wenn auch nicht bei demselben Thierte gewonnen sind; ich habe hierzu noch zu bemerken, dass ich viele Analysen dieser Flüssigkeiten gemacht habe, und immer den in der Tabelle

enthaltenen Resultaten sehr nahestehende erhalten habe. In der Kuhmilch ist also immer bedeutend mehr Ammoniak (in unserem Falle fast dreimal so viel) als im Rinderblut; in diesem wieder ist bedeutend mehr (in unserem Falle ebenfalls fast dreimal so viel) als in der Galle enthalten, in welcher überhaupt nur Spuren vorkommen. Da es für mich unwahrscheinlich ist, dass die Brustdrüse ein Secretionsorgan für Ammoniakverbindungen ist, so glaube ich berechtigt zu sein, aus den Resultaten dieser Analysen schliessen zu dürfen, dass bei der Abspaltung des Milchfettes aus den Eiweisskörpern der Stickstoff zum Theil als Ammoniak abgespalten wird.

Ferner ist es mir ebenfalls nicht sehr wahrscheinlich, dass die Leberzellen bei der Gallensecretion das Ammoniak im Blute zurückhalten sollen, sondern ich glaube die Vermuthung aussprechen zu dürfen, dass in den Leberzellen das Ammoniak in der Weise umgewandelt werde, wie es für die Ammoniakverbindungen im Thierkörper nachgewiesen worden ist, dass also die Leber bei der Erhaltung der Alkalescenz des Blutes eine Rolle spielt. Ich habe mich begnügt, diese Thatsachen vermuthungsweise auszusprechen, da ich nicht ihretwegen die Arbeit unternommen habe, sondern um eine exacte Methode des Nachweises und der Bestimmung des Ammoniaks zu gewinnen.

Einen Theil der Arbeit habe ich in dem Laboratorium des Herrn Prof. Barth ausgeführt; für die Freundlichkeit, mit welcher er und Herr Dr. Goldschmidt mir das Laboratorium mit allen Mitteln zur Verfügung gestellt haben, erlaube ich mir meinen besten Dank abzustatten. Den Schluss der Arbeit, die Bestimmung des Ammoniaks in den thierischen Flüssigkeiten selbst, habe ich im k. k. Thierarzneiinstitute ausgeführt.
