

Ueber die Ausscheidung von Salpetersäure und salpetriger Säure.

Von F. Röhmann.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin).

(Der Redaction zugegangen am 1. April 1861).

Gelegentlich der Untersuchungen über die saure Harn-
gährung ¹⁾ hatte ich die salpetrige Säure, welche zuerst
Schönbein bei der beginnenden Harnzersetzung beobachtete,
in einer Reihe von Fällen genauer verfolgt. Ich wies ferner
nach, dass sich im frischen Harn bei der Einwirkung von
Eisenchlorür und Salzsäure Stickoxyd entwickelt und bestätigte
hiermit das Vorkommen von Salpetersäure, welches ebenfalls
von Schönbein allerdings auf Grund einer durchaus nicht
einwandfreien Methode behauptet worden war. Dadurch
wurde es wahrscheinlich, dass die salpetrige Säure wenigstens
zum Theil unter dem Einfluss von Spaltpilzen durch Reduction
aus der Salpetersäure entstünde. Ob ein Theil des Stick-
oxyd bildenden Körpers im frischen Harn salpetrige Säure
und die im faulenden Harn auftretende salpetrige Säure zu
einem entsprechenden, übrigens sehr kleinen Theile als solche
bereits im frischen Harne vorhanden sei, liess sich nicht ent-
scheiden. Ausserdem war aber noch der Möglichkeit gedacht
worden, dass sich salpetrige Säure bei der Harnfäulniss durch
fermentative Oxydation aus Ammoniak bilden könnte.

Die letztere Frage liess sich entscheiden durch einen
Vergleich der Mengen von Stickoxyd, welche sich im frischen
Harn finden, mit der Menge colorimetrisch bestimmter sal-
petriger Säure, die sich bei der Harnfäulniss bildet. Wenn
nämlich die Menge der letzteren grösser war, als dem Stick-

¹⁾ Vergl. diese Zeitschrift, Bd. V, S. 94.

oxydgehalt des frischen Harns entsprach, so konnte sich dies nur durch eine Oxydation von Ammoniak erklären.

Zur Bestimmung des Stickoxyd diene die Schulze'sche Methode. In einem 150—200 Cc. fassenden Kölbchen wurde die zu untersuchende Flüssigkeit auf ein kleines Volumen eingedampft, die darin enthaltene Salpetersäure durch Eisenchlorür und concentrirter Salzsäure in Stickoxyd verwandelt, letzteres über ausgekochter Natronlauge aufgefangen und aus dem Volumen desselben die entsprechende Menge von Milligrammen N_2O_5 berechnet.¹⁾ Wie aus den angeführten Controlversuchen zu ersehen ist, gibt diese Methode bei der Bestimmung der Salpetersäure nicht nur im Wasser, sondern auch im Harne durchaus genaue Resultate. Anders dagegen bei der salpetrigen Säure. Hier erhält man im Wasser ebenfalls gute, übereinstimmende Werthe, aber nicht im Harn. Wenn man frischem Hundeharn salpetrigsaures Natrium zusetzt, so findet man bei der Behandlung mit Eisenchlorür und Salzsäure stets zu wenig Stickoxyd, gleichgültig ob die Bestimmung in saurer, schwach oder stark alkalischer Lösung erfolgt. Ich will noch bemerken, dass es Anfangs nicht gelang, das Schäumen des Kaninchen- und Menschenharnes beim Kochen (der Harn des Hundes schäumte nicht) zu vermeiden. Es wurde deshalb der Harn eingedampft, mit Alkohol extrahirt und im alkoholischen Rückstand die Menge der Salpetersäure bestimmt. Erst als ich den Harn, wenn er schäumte, im Drahtkorb über Asbest eindampfte, wurde es möglich auch in diesen Fällen die Bestimmung im Harn direct auszuführen. Uebrigens erhält man bei der Alkoholfällung ebenso genaue Resultate wie bei der directen Bestimmung.

(Tabellen folgen auf der nächsten Seite.)

Bestimmt man nach dieser Methode die Menge von Stickoxyd, welche man bei der Zersetzung mit Eisenchlorür und Salzsäure aus frischem Harn erhält, vergleicht mit dieser

¹⁾ In Bezug auf die Ausführung der Bestimmung vgl. Anleitung zur Untersuchung von Wasser von Kubel-Tiemann. Braunschweig, Vieweg und Sohn 1874, S. 73. — Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. VIII. S. 358.

1. Bestimmung der Salpetersäure im Wasser.

Zugesetzt		Gefunden $N_2 O_5$ mgr.	Bemerkungen.
Kaliumnitrat mgr.	entsprechend $N_2 O_5$ mgr.		
4	2,1	2,1	Keine.
6	3,2	2,8	
8	4,2	a) 4,2	
10	5,3	b) 4,3 5,3	

2. Bestimmung der Salpetersäure im Hundeharn.

Zugesetzt		Gefunden $N_2 O_5$ mgr.	Bemerkungen.
Kaliumnitrat mgr.	entsprechend $N_2 O_5$ mgr.		
2	1,07	0,97	Bestimmung in 50 Cc. Harn direct. Harn liefert vor dem Zusatz von Kalium nitrat kein NO.
4	2,1	2,1	
6	3,2	3,0	

3. Bestimmung der Salpetersäure im Kaninchenharn.

Zugesetzt		Gefunden $N_2 O_5$ mgr.	Bemerkungen.
Kaliumnitrat mgr.	entsprechend $N_2 O_5$ mgr.		
10	5,3	5,1	Bestimmung in 50 Cc. Harn direct. Fällung mit Alkohol. Harn liefert vor dem Zusatz von Kaliumnitrat kein NO.
6	3,2	3,2	

die Menge Stickoxyd, welche sich bei derselben Behandlung nach Eintritt der Fäulniss aus einer gleich grossen Quantität desselben Harnes gewinnen lässt, und verfolgt man das Verhalten der salpetrigen Säure, wie es sich in der Einwirkung auf angesäuerten Jodkaliumstärkekleister zu erkennen gibt, so erhält man folgende Resultate.

1) 100 Ccm. Harn (sauer).

16. Februar 1,5 mgr. $N_2 O_5$; keine
 17. » mässig starke
 18. » keine

} Reaction auf
salpetrige Säure

2) 100 Ccm. Harn (sauer).

10. März 4,2 mgr. N_2O_5

11. » gleichmässig trübe

12. » Reaction noch sauer

keine salpetrige
Säure.

3) 100 Ccm. Harn.

10. März 4,1 mgr. N_2O_5 ; keine salpetrige Säure.11. » 2,8 mgr. N_2O_5 ; gleichwerthig 3,6 mgr. Natr. nitrit. —
Nicht sehr starke Reaction auf salpetrige Säure; die
colorimetrische Bestimmung ¹⁾ ergibt etwa 0,5 bis
0,7 mgr. Natr. nitrit.12. » kein N_2O_5 ; keine Reaction auf salpetrige Säure;
Harn reagirt schwach alkalisch.

4) 100 Ccm. Harn.

17. Februar 5,2 mgr. N_2O_5 .18. » 3,6 mgr. N_2O_5 ; gleichwerthig 4,6 Natr. nitrit. —
Starke Reaction auf salpetrige Säure; die colo-
rimetrische Bestimmung ergibt:
4—5 mgr. Natr. nitrit.

19. Februar 4—5 »

20. » 3—4 »

Die Menge der colorimetrisch nachweisbaren salpetrigen Säure ist also nie grösser, als dem Stickoxydgehalt des frischen Harnes entspricht. Die salpetrige Säure bildet sich also bei der Fäulniss des Harnes nicht durch Oxydation von Ammoniak. Die Menge des im frischen Harn vorhandenen Stickoxyd nimmt bei Eintritt der Harnfäulniss ab. Die Salpetersäure verschwindet, sie wird zu salpetriger Säure und diese selbst noch weiter reducirt.

Es liegt nahe die Frage aufzuwerfen, woher denn die Salpetersäure im Harn stammt. Schönbein²⁾ gibt an, dass «alles Quell-, Fluss-, Seewasser u. s. w., wie auch viele als Speise dienende Pflanzen: Kohl, Spinat u. s. w. kleine Mengen salpetersaurer Salze enthalten, welcher Umstand die ausnahmslose Nitrathaltigkeit des Harnes leicht begreiflich macht. Ob

¹⁾ Vergl. diese Zeitschrift, Bd. V, S. 114.

²⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 92, 1864.

aber alles in dieser Flüssigkeit vorkommende Nitrat von Speise und Trank herrühre, dürfte schwer zu entscheiden sein, da möglicher-, wenn auch unwahrscheinlicher Weise ein kleiner Theil dieses Salzes innerhalb des Organismus sich gebildet haben könnte. Diese letztere Möglichkeit ist aber für die Auffassung der chemischen Vorgänge im Organismus von grosser Bedeutung, so dass, wenn sie entschieden werden konnte, sie auch entschieden werden musste. Und sie liess sich entscheiden.

Es zeigte sich, dass eine Anzahl Nahrungsmittel: Milch, Weissbrod, Fleisch keine Salpetersäure enthalten. 250 Ccm. Milch wurden zur Trockene verdampft, mit wenig Wasser wieder aufgenommen, letzteres zur Entfernung des Fettes mit Aether geschüttelt. Es liess sich nach der Schulze'schen Methode kein Stickoxyd darin nachweisen. Darauf wurden 500 Ccm. Milch mit Alkohol gefällt, das Filtrat in schwach alkalischer Reaction eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und in zwei Theile getheilt. In dem einen wurde direct, im anderen nach Zusatz von 2 mgr. Kaliumnitrat auf Salpetersäure untersucht, in letzterem liess sie sich deutlich nachweisen, in ersterem keine Spur. Dasselbe Resultat ergab die Untersuchung des Liebig'schen Fleischextractes von welchem zweimal etwa 10 gr., einmal 5 gr. verarbeitet wurden.

Von Weissbrod wurden zweimal je 250 gr. auf das gründlichste mit Wasser extrahirt, der Extract mit Alkohol gefällt, im übrigen ebenso wie bei der Milch verfahren.

Es wurde nun ein Kaninchen mit Milch und Weissbrod, ein Hund nur mit Fleisch gefüttert. Dabei zeigte es sich, dass, während der Harn des Kaninchens bei Fütterung mit Hafer verhältnissmässig reich an Salpetersäure war, dieselbe bei Fütterung mit Milch und Semmel vollständig verschwand. Ebenso wenig liess sich eine Spur von Salpetersäure bei Fleischnahrung oder bei protrahirtem Hunger im Hundeharn nachweisen. Und doch war es möglich, mit Leichtigkeit 2 mgr. Kaliumnitrat, ja schon 1 mgr., welchen man 50 Ccm. desselben Harnes zusetzte, deutlich als Salpetersäure zu erkennen.

Die Salpetersäure des Harnes wird, wie sich hieraus ergibt, nicht im Organismus gebildet, sondern stammt ausschliesslich aus der Nahrung.

Damit war aber das Interesse, welches die Beziehung der Salpeter- bez. salpetrigen Säure zum Organismus bietet, noch nicht erschöpft. Schönbein hatte die salpetrige Säure auch im Speichel aufgefunden¹⁾; andere Autoren²⁾ hatten diese Beobachtung bestätigt, ohne eine genügende Erklärung für diese Thatsache geben zu können. Auch hier handelte es sich in erster Linie darum, ob die salpetrige Säure innerhalb des Organismus, vielleicht in der Speicheldrüse selber entsteht, oder ob sie sich durch Reduction des Salpeters, welcher in der Nahrung zugeführt wird, bildet. War ersteres der Fall, so müsste sich auch bei salpetersäurefreier Nahrung salpetrige Säure im Speichel finden. Ich prüfte deshalb den Speichel zweier Kinder, welche nur die Mutterbrust erhielten — das Eine war sieben, das Andere acht Wochen alt — auf salpetrige Säure. Es war keine vorhanden. Dagegen gab der Speichel eines Knaben von 1 1/2 Jahr, welcher eines Bronchialkatarrhs wegen in seiner Arznei Natrium nitricum bekam und davon sieben Stunden vor der Untersuchung zum letzten Male genommen hatte, eine sehr intensive Reaction auf angesäuerten Jodkaliumstärkekleister.

Ganz analog dem Speichel verhält sich der durch Pilocarpin gewonnene Schweiss. Auch hier findet sich häufig salpetrige Säure. In einem Falle, wo, wie ich mich wiederholt überzeugt hatte, der Speichel und Schweiss frei von salpetriger Säure war, trat dieselbe in beiden auf nach Eingabe von salpetersaurem Kalium. Alles dies beweist, dass die salpetrige Säure im Schweiss und Speichel aus der eingeführten Salpetersäure, vermuthlich in den Drüsen selbst entsteht.

Ebenso wie hier konnte aber auch in anderen Theilen des Körpers eine Reduction der Salpetersäure zu salpetriger Säure und weiter zu Ammoniak oder Stickstoff stattfinden. Dann musste bei Einführung einer bestimmten Menge von

¹⁾ Vergl. Hoppe-Seyler, Physiolog. Chemie, Bd. II, S. 188.

²⁾ P. Griess, Jahresbericht d. Thierchemie, Bd. VIII, S. 72, 1878.

Salpetersäure die Menge der ausgeschiedenen Salpetersäure um soviel geringer sein, als Salpetersäure im Organismus der Reduction unterlag. Da nun wie wir gesehen, der Harn des Kaninchens und Hundes bei obiger Nahrung vollkommen frei von Salpetersäure ist und die Schulze'sche Methode für die Bestimmung derselben durchaus zuverlässig, so konnte man hierüber bald in's Klare kommen.

Das Kaninchen, welches sich zur sorgfältigen Aufsammlung des Harnes in einem Glastrichter befand, erhielt mit der Nahrung

30 mgr. Kaliumnitrat schied aus 21 mgr.

50 » » » 27 »

mittelst Schlundsonde

50 mgr. Kaliumnitrat schied aus 41 mgr.

In diesen Fällen wurde der Harn eingedampft, mit Alkohol extrahirt, und im alkoholischen Rückstand die Menge des Stickoxyd bestimmt.

Weiterhin erhielt das Kaninchen am 28. Februar 0,5 gr. Kaliumnitrat, entsprechend 269 mgr. N_2O_5 subcutan.

Davon schied es aus:

am 1. März in 157 Ccm. Harn 133 mgr. N_2O_5

2. » 205 » 25 »

3. März kein Harn.

4. März in 225 Ccm. Harn 0 mgr. N_2O_5 .

Demnach wurden von den eingeführten 269 mgr. N_2O_5 ausgeschieden 148 mgr. N_2O_5 .

Beim Hunde, dessen Harn vorher ebenfalls vollkommen frei von Salpetersäure, stellt sich die Sache folgendermassen.

(Tabelle folgt auf nächster Seite.)

Von den eingeführten 53 mgr. N_2O_5 werden ausgeschieden 10 mgr., von 539 mgr. werden ausgeschieden 228 mgr. Bemerkenswerth ist die Art der Ausscheidung, welche sich über fünf Tage erstreckt, ihr Maximum am zweiten Tage hat, von da stetig abnimmt, dabei am dritten und vierten Tage noch grösser als am ersten ist.

Ein ähnliches Verhalten wie die Salpetersäure zeigt die salpetrige Säure. Das erste Kaninchen, ein verhältnissmässig

Hund.**Eingabe von Salpetersäure.**

Datum.	Harn- volum.	Spec. Gew.	Ausgesch. N ₂ O ₅ mgr.	Bemerkungen.
26. Febr.	—	—	—	Der Hund erhält 100 mgr. Kalium- nitrat, entsprechend 53 mgr. N ₂ O ₅ . Hund erhält 1 gr. Kaliumnitrat, ent- sprechend 539 gr. N ₂ O ₅ .
27. »	460	1042	10	
28. »	340	1045	0	
1. März	450	1047	24	
2. »	280	1049	92	
3. »	390	1049	65	
4. »	700	1050	39	
5. »	555	1040	8	
6. »	270	1047	0	in Summa 228

grosses und kräftiges Thier starb nach der subcutanen In-
jection von 0,3 gr. Natriumnitrit innerhalb weniger Stunden.
Das Blut war braun und zeigte im Spectrum den caracte-
ristischen Methaemoglobinstreifen.

Zweites Kaninchen.**Eingabe von salpetriger Säure.**

Datum.	Harn- volum.	N ₂ O ₅ mgr.	Bemerkungen.
9. März.	285	0	Erhält 50 mgr. Natriumnitrit = 39 mgr. N ₂ O ₅ subcutan.
10. »	205	14	Bestimmung in 25 Ccm. direct; bei alkalischer Reaction.
11. »	95	3	Erhält 100 mgr. Natriumnitrit = 78 mgr. N ₂ O ₅ .
12. »	200	27	Keine Reaction auf salpetrige Säure.
13. »	260	9	
14. »	67	0	

Es wurden also ausgeschieden:

von 50 mgr. Natriumnitrit entsprechend 39 mgr. N₂O₅ —
17 mgr. N₂O₅;

von 100 mgr. Natriumnitrit, entsprechend 78 mgr. N₂O₅ —
36 mgr. N₂O₅.

(Tabelle folgt auf nächster Seite.)

Es wurden ausgeschieden:

von 500 mgr. Natriumnitrit, entsprechend 391 mgr. N₂O₅ —
141 mgr. N₂O₅.

Hund.**Eingabe von salpetriger Säure.**

Datum.	Harn- volum.	Spec. Gew.	N ₂ O ₅ mgr.	Bemerkungen.
6. Novbr.	—	—	—	Erhält 500 mgr. Natriumnitrit = 391 mgr. N ₂ O ₅ subcutan.
7. >	420	1049	126	Bestimmung in 50 Ccm. direct.
8. >	450	1046	15	Harn vom 7. und 8. März von auffal- lend heller Farbe, am 9. März wieder dunkler.
9. >	400	1046	0	Keine Reaction auf salpetrige Säure.

Gegen die Richtigkeit der angeführten Zahlen könnte man ein Bedenken geltend machen. Es wurde bereits erwähnt, dass die Schulze'sche Methode für die Bestimmung der salpetrigen Säure im Harn nicht geeignet ist. Wenn nun die eingeführte salpetrige Säure als solche oder ein Theil der Salpetersäure als salpetrige Säure ausgeschieden wurden, so würde sich ein Theil des Stickoxyds der Bestimmung entziehen und sich hierdurch die Differenz zwischen Ein- und Ausfuhr erklären können. Dies ist aber nicht der Fall. Denn wenn es schon an sich unwahrscheinlich ist, dass eine durch Säuren so leicht zu zerstörende Substanz wie das salpetrigsaure Kalium oder Natrium durch die Nieren in den sauren Harn übergehen kann, so spricht hiergegen vor Allem der Umstand, dass sich im frischen Harn nie salpetrige Säure nachweisen liess. Dagegen könnte man allerdings einwenden, dass der Harn des Hundes vielleicht ebenso wie der des Menschen die Fähigkeit besitzt, die Einwirkung der salpetrigen Säure auf den angesäuerten Jodkaliumstärkekleister zu verhindern. In der That während man dem letzteren nur 0,1 mgr. Natriumnitrit¹⁾ auf 10 Ccm. zuzusetzen nöthig hat, um eine Reaction zu erhalten, tritt diese im Hundeharn erst nach Zusatz von 2—3 mgr. ein. Trotzdem lässt sich auch ein Einwand, welcher von dieser Seite her erhoben würde, zurückweisen. Wenn als Grund für die Verhinderung jener Reaction die Anwesenheit gewisser reducirender oder oxy-

¹⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. V, S. 117.

dirender Substanzen zu betrachten ist, so wird ihre Menge bei gleichbleibenden Ernährungsverhältnissen innerhalb gewisser Grenzen constant und die Menge salpetriger Säure, welche man um die Reaction zu erhalten zusetzen muss, im Wesentlichen dieselbe bleiben. Wurde nun bei obigen Versuchen die salpetrige Säure als solche, oder ein Theil der eingeführten Salpetersäure als salpetrige Säure ausgeschieden, so musste man in diesem Falle weniger salpetrige Säure zuzusetzen nöthig haben als in dem Falle, wo kein Stickoxyd sich aus dem Harn entwickeln liess. Dem war aber nicht so. Bei dem Versuch am Hunde mit salpetriger Säure wurden am 7. März 3,4 mgr; am 8. März 2 mgr., am 11. März 2 mgr. Natriumnitrit zugesetzt, bis man eine geringe Blaufärbung der angesäuerten Jodkaliumstärke erhielt. Letztere trat, beiläufig bemerkt, in sehr charakteristischer Weise von der Oberfläche aus ein. Diese Erscheinung erklärt sich am leichtesten so, dass die salpetrige Säure sich, nachdem sie durch die Einwirkung der erwähnten Substanzen zu Stickoxyd reducirt ist, durch Aufnahme von Sauerstoff wieder regenerirt und nun zur Einwirkung auf die Jodkaliumstärke gelangt.

Ein Theil der Salpetersäure wird also unverändert, ein Theil der salpetrigen Säure als Salpetersäure ausgeschieden. Viel wichtiger ist aber die andere Thatsache, welche durch obige Versuche festgestellt ist, dass von der eingeführten Salpetersäure und salpetrigen Säure ein sehr grosser Theil nicht ausgeschieden, sondern im Körper reducirt wird. Bei dieser Reduction kann sich nur Ammoniak oder vielleicht durch Vermittelung von salpetrigsaurem Ammoniak Stickstoff bilden. Diese letztere Möglichkeit ist insofern von Bedeutung als sie auf den Weg führen würde zu entscheiden, ob sich beim Stoffwechsel der stickstoffhaltigen Körperbestandtheile gasförmiger Stickstoff bildet und als solcher durch die Lungen entweicht.

Hierfür würde es sprechen, wenn sich mittelst des Regnault-Reiset'schen Respirationapparates nachweisen liesse, dass bei Einfuhr von Salpetersäure und salpetriger Säure die Menge des Stickstoffs in der Expirationsluft zunimmt.

Pettenkofer und Voit¹⁾ haben zwar in neuester Zeit die Versuche von Seegen und Nowack einer zum grossen Theil berechtigten Kritik unterzogen und ihre eigenen bisherigen Angaben über den Stoffwechsel der Eiweisssubstanzen in vollstem Masse aufrecht erhalten. Wir wollen uns auch nicht gegen die allgemeine Richtigkeit, welche den Anschauungen jener ausgezeichneten Forscher zu Grunde liegt, und ihre Bedeutung für Stoffwechselversuche aussprechen. Aber trotz der, man könnte fast sagen, zu genauen Uebereinstimmung zwischen den in der Nahrung aufgenommenen und den durch Harn und Koth ausgeschiedenen Stickstoffmengen in den Versuchen von M. Gruber könnten sich geringe Mengen von Stickstoff der Bestimmung entziehen. Für die Beurtheilung der chemischen Vorgänge im Organismus bleibt es aber von Wichtigkeit auf die Möglichkeit der Bildung von gasförmigen Stickstoff hinzuweisen. Die obigen Versuche beweisen, dass der Organismus neben der Fähigkeit niedrige Oxydationsstufen des Stickstoff zu höheren zu oxydiren, z. B. salpetrige Säure zu Salpetersäure, er auch ausserhalb des Darmkanals eine sehr energische Reduction ausübt, bei welcher aus Salpetersäure salpetrige Säure entsteht und ausser Ammoniak gasförmiger Stickstoff entstehen kann.

¹⁾ Zur Frage der Ausscheidung gasförmigen Stickstoffs aus dem Thierkörper. Zeitschrift f. Biologie, Bd. XVI.