

## X.

## Ueber die Nitrate des Thier- und Pflanzenkörpers.

Von Th. Weyl und Cand. med. Citron.

[(Aus dem Privatlaboratorium von Th. Weyl.)

III<sup>1</sup>).

Ein weiterer Versuch über die Anwesenheit der Salpetersäure im normalen menschlichen Harne.

Wir besitzen bisher drei Methoden zum Nachweis der Salpetersäure im menschlichen Harn.

- a) Entwicklung von Stickoxyd bei der Zersetzung durch Eisenchlorür und Salzsäure bei Ausschluss von Sauerstoff.
- b) Bildung von salpetriger Säure beim Stehen des Harnes an der Luft.
- c) Uebergang eines Stoffes ins Destillat, welcher die Reactionen der salpetrigen Säure zeigt, bei Destillation des Harnes mit concentrirter Schwefelsäure.

Von mancher Seite werden nun diese Reactionen so lange nicht für völlig beweiskräftig gehalten, als es nicht gelungen ist die Salpetersäure aus dem Harne in Substanz darzustellen.

Ich hoffe dieses in einiger Zeit bewerkstelligen zu können. Vorläufig aber sei es gestattet, hier einen Versuch, der jedesmal gelang, mitzutheilen, weil aus demselben mit an Gewissheit grenzender Wahrscheinlichkeit hervorgehen dürfte, dass die oben unter a, b und c angedeuteten Reactionen demselben Körper, also nicht etwa verschiedenen Stoffen zukommen.

500 ccm frischen Menschenharns werden in zwei Portionen getheilt.

Portion I: 200 ccm mit 40 ccm concentrirter Nitrose-freier Schwefelsäure destillirt. Im Destillate salpetrige Säure<sup>2</sup>).

<sup>1</sup>) Vergl. die früheren Abschnitte in diesem Archiv Bd. 96. S. 462 (1884).

<sup>2</sup>) Vergl. dieses Archiv Bd. 96. S. 466 (1884).

Portion II: 300 ccm bleiben einige Tage im offenen Becher-glae an der Luft stehen. Nach 24—36 Stunden lässt sich bei geeigneter Verdünnung salpetrige Säure nachweisen<sup>1)</sup>. Die Reaction nimmt während der folgenden 2—3 Tage zu, nimmt allmählich ab und ist nach 8 Tagen gleich Null.

Jetzt werden von Portion II wiederum 200 ccm mit 40 ccm reiner concentrirter Schwefelsäure destillirt. Im Destillate wird salpetrige Säure vergebens gesucht<sup>2)</sup>.

Es hat sich also gezeigt, dass diejenige Substanz, welche bei Destillation des frischen Harnes mit Schwefelsäure im Destillate die Reactionen der salpetrigen Säure gab, aus dem Harn verschwunden war — also bei Destillation mit Schwefelsäure im Destillate nicht mehr erschien, sobald die bei der Fäulniss des Harnes auftretende salpetrige Säure sich nicht mehr nachweisen liess.

#### IV.

#### Vorlesungsversuche die Salpetersäure des Harns betreffend.

1. Enthält der gefaulte Harn bereits salpetrige Säure, so lässt sich diese in folgender Weise nachweisen. Der Harn wird im Kolben mit  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  seines Volums an concentrirter reiner Schwefelsäure versetzt und kurze Zeit gelinde erwärmt. Die Kolbenöffnung wird mit einem Stück besten Filtrerpapieres lose bedeckt, welches kurz vorher mit den Reagentien auf salpetrige Säure getränkt ist. Metaphenylendiamin sowie Sulfanilsäure+Naphthylamin sind besonders gut verwerthbar, weniger brauchbar Jodkali und Stärkekleister. Es braucht nur kurze Zeit ganz gelinde erwärmt zu werden<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> a. a. O. S. 468.

<sup>2)</sup> Das Destillat enthält keine Substanz, welche das Auftreten der für salpetrige Säure charakteristischen Reactionen verhindert. Denn diese treten auf nach Zusatz minimaler Mengen  $\text{N}^2\text{O}^3$  zum Destillat. Auch verhindert der gefaulte Harn die Bildung von  $\text{N}^2\text{O}^3$  aus  $\text{N}^2\text{O}^5$  bei Gegenwart von Schwefelsäure nicht. Denn Zusatz kleiner Mengen von  $\text{KNO}^3$  zum Kolbeninhalt bewirkt Auftreten von  $\text{N}^2\text{O}^3$  im Destillat.

<sup>3)</sup> Es kann nicht bezweifelt werden, dass salpetrige Säure zum Theil unzersetzt flüchtig, also destillabel ist. Vergl. Gmelin-Kraut. I. 2. 456.

Nicht mit gleicher Sicherheit wie die salpetrige Säure lässt sich die Salpetersäure in der oben angegebenen Weise durch das den Dämpfen ausgesetzte Reagenspapier erkennen. Einerseits muss zur Umwandlung von  $\text{N}_2\text{O}_5$  zu  $\text{N}_2\text{O}_3$  länger erwärmt werden, sodass der richtige Moment leicht verpasst wird. Andererseits kommen die Farbenreactionen in der Hitze nicht mit voller Deutlichkeit<sup>1)</sup> zu Stande oder treten ein — wie dies bei  $\text{KJ} + \text{Stärke} + \text{Säure}$  beobachtet wurde — schon durch Wirkung heißer Wasserdämpfe ohne Anwesenheit von  $\text{N}_2\text{O}_3$ .

2. Für Demonstrationszwecke empfiehlt es sich zum Nachweis der salpetrigen oder Salpetersäure bei Destillation des Harnes oder anderer Flüssigkeiten (Bier, Wein, Hefeextract etc.) den in nachstehender Zeichnung dargestellten Apparat anzuwenden, welcher als Vorlage bei der Destillation dient.

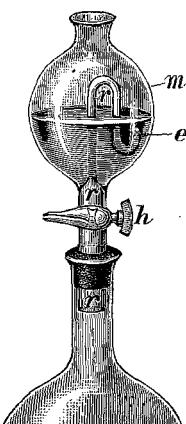
Eine unten weite, allmählich enger werdende Röhre r wird in ihrem engen Theile gebogen, wie die Figur zeigt. Sie trägt in ihrem weiteren Theile den Glashahn h mit doppelter Bohrung (Dreiwegehahn). Der gebogene Theil der Röhre ist von einem oben offenen Glasmantel von circa 40 ccm Inhalt umgeben.

Die Vorlage wird mittelst gut schliessenden Stopfens auf einem Destillirkolben mit langem Halse, der als Dephlegmator dient, von  $\frac{1}{2}$  l Inhalt befestigt.

Zunächst wird dem Hahne eine solche Stellung gegeben, dass der Kolbeninhalt mit der Atmosphäre communicirt, der Glasmantel aber gegen den Kolben abgeschlossen ist.

Das Reagens, ca. 10 ccm Lösung (z. B. Metaphenylendiamin in verdünnter Schwefelsäure) befindet sich im Glasmantel. Dasselbe muss das Ende e des Rohres r verschliessen. Hat die Dampfentwicklung begonnen, so wird durch Drehung des Hahns die Verbindung zwischen Kolben und Mantel hergestellt. Nach kürzerer oder längerer Zeit tritt die Farbenänderung ein.

<sup>1)</sup> Die Diazoverbindungen etc. werden beim Kochen mit Wasser leicht zerlegt.



Soll der Versuch abgebrochen werden, so wird der Hahn in die Ausgangsstellung zurückgedreht.

## V.

### Versuche am Hunde.

Die Anwendbarkeit der Methode von Schulze auf den Hundeharn hat Röhmann (a. a. O.) bewiesen.

Unsere Versuche ergeben das gleiche Resultat.

Z. B. wurden (Protocoll No. 100A und 100B) (vergl. die analyt. Belege im Anhange) statt 50 mg  $\text{N}^{\circ}\text{O}^5$  in zwei Parallelerscheinungen mit dem gleichen Harn, der bei schwach alkalischer Reaction eingedampft war, gefunden

a) 49,7 mg,

b) 50,8 mg.

Der Hundeharn ist, wie Röhmann schon früher<sup>1)</sup> mittheilte, bei Fleischfütterung frei von Nitraten<sup>2)</sup>.

Es sollte nun festgestellt werden, dass der Hund überhaupt ausser Stande sei aus denjenigen Materialien, aus welchen der Mensch aller Wahrscheinlichkeit nach Nitrate erzeugt, solche zu bilden.

Zu diesem Zweck erhielt eine Hündin von 16,5 kg Gewicht täglich 400 mageres Pferdefleisch, 50 g Speck und 0,75 l destillirtes Wasser.

Der Harn blieb bei zwölftägiger Beobachtung frei von Nitraten<sup>3)</sup>. Ebenso nach dreimaliger Zufuhr von Salmiak in Dosen von je 5 g.

Aus den von Schmiedeberg für die Harnstoffbildung erörterten Gründen konnte vielleicht dieser Befund nicht als zureichender Grund für die Unfähigkeit des Hundes aus Ammoniak Salpetersäure zu erzeugen angesehen werden.

Deshalb erhielt dasselbe Thier, welches für die Salmiakversuche gedient hatte, citronensaures Ammon in wässriger Lösung mit dem Futter.

<sup>1)</sup> Zeit. f. physiolog. Chem. 5. 235.

<sup>2)</sup> Vergl. dieses Arch. Bd. 96. S. 471 (1884).

<sup>3)</sup> In einem Falle erhielt der Harn eines mit Fleisch und Speck gefütterten Hundes zwei Tage lang je 2 und 4 mg  $\text{N}^{\circ}\text{O}^5$ . Das Thier entzog sich aber weiterer Beobachtung durch die Flucht.

Und zwar am 23. Dec. 2,108 NH<sup>3</sup>. Der Harn war und blieb bis zum 29. Dec. Nitrat-frei.

Es wurde nun angenommen, dass vielleicht das eingeführte Ammon deshalb nicht in Salpetersäure übergehe, weil es zur Neutralisation der bei der Fleischkost, die wir ja als „saure-Nahrung“ ansehen müssen, gebildeten Säuren benutzt würde. Wir gaben deshalb dem Thiere nach dem Vorbilde von Salkowski und Munk ausser dem Ammoniak auch noch so viel fixes Alkali, dass der Harn trotz der Fleischnahrung dauernd alkalisch blieb.

Das Thier erhielt also:

am 29. Dec. 2,108 NH<sup>3</sup> (als Citrat) + 5 g Natriumacetat.  
 „ 30. „ 12 g Natriumacetat.  
 „ 31. „ 18 g Natriumacetat.  
 „ 1. Jan. 12 g Natriumacetat.  
 „ 2. „ 3,162 g NH<sup>3</sup> (als Citrat) + 12 g Natriumacetat.  
 „ 3.—7. Jan. täglich 12 g Natriumacetat.

Am 31. Dec. traten dünne Stühle auf, welche sich bis zum 4. Jan. mehrmals täglich wiederholten, aber erst am 7. Jan. bedrohlich wurden. Der Harn blieb während der ganzen Zeit frei von Salpetersäure.

Zum Schluss wurde der zuerst von Röhmann (a. a. O.) angestellte Versuch über die Zersetzung zugeführten Nitrates wiederholt.

Der Stuhlgang war am 12. Jan. wieder völlig normal.

Am 14. Jan. erhielt das Thier mit der Nahrung 100 mg N<sup>2</sup>O<sup>5</sup> als Kaliumnitrat.

Am 14.—15. Jan. wurden mit dem Harn ausgeschieden: 22,5 mg N<sup>2</sup>O<sup>5</sup>. Bei weiterer Beobachtung von 8 Tagen war der Harn wieder völlig frei von Nitraten (vergl. Protocoll No. 101). Es waren also 88 pCt. der zugeführten N<sup>2</sup>O<sup>5</sup> im Laufe von 8 Tagen nicht wieder ausgeschieden worden, also verschwunden, d. h. chemisch verändert.

Dies Resultat bestätigt, wie schon angeführt, Röhmann's Beobachtung.

Aus den bisher mitgetheilten Versuchen folgt:

- Der Hundeharn nach Fleischfütterung ist frei von Salpetersäure.
- Der Hund scheidet weder nach Zufuhr von Salmiak

noch von Ammoniumcitrat Salpetersäure aus. Gleichzeitige Zufuhr von fixem Alkali bis zu dauernder Alkalescenz des Harnes ändert daran nichts.

c) Es ist vorläufig nicht bewiesen, dass der Hund ausser Stande ist Salpetersäure zu erzeugen, da er, wie zuerst Röhmann fand, einen Theil der zugeführten Nitrate zu zerstören vermag.

Ich kann diesen Abschnitt nicht schliessen ohne eines höchst interessanten Falles von pathologischer Nitraturie beim Hunde Erwähnung zu thun.

Ein Hund von ca. 10 kg erhielt täglich 400 g Pferdefleisch + 50 g Speck + ca.  $\frac{3}{4}$  l destillirtes Wasser.

Der Harn war bei 4tägiger Beobachtung frei von Nitraten.

Das Thier bekam dann mit der Nahrung 100 mg N<sup>2</sup>O<sup>5</sup> als Kaliumnitrat.

Der Harn der folgenden 4 Tage enthielt Nitrate, welche durch Destillation mit concentrirter Schwefelsäure<sup>1)</sup>), ferner durch die spontane Nitritbildung nachgewiesen wurden.

Am 5. Tage nach der Nitratzufuhr wurde das Thier früh Morgens im Käfig todts gefunden.

Wir erinnerten uns, dass der Hund das Futter der letzten Tage nur zum Theil verzehrt hatte und zuletzt auffallend matt gewesen war. Er konnte z. B. aus seinem Käfig nur mit Unterstützung seines Wärters herausspringen.

Die Section, welche Herr Dr. C. Posner auszuführen die Güte hatte, ergab Folgendes.

Starke Abmagerung. Blutungen in Magen, Duodenum und im unteren Abschnitt des Ileum. Im ganzen Darme starke venöse Hyperämie.

Niere: blass, trübe, geringe Blutungen in der intermediären Zone. Stellenweise frische interstitielle Zellanhäufungen. Albuminöses Transsudat in den Kapseln und zum Theil auch in den gewundenen Harnkanälchen.

Herz normal.

Es handelte sich also um frische Magen- und Darmblutungen und frische diffuse Nephritis.

<sup>1)</sup> Vergl. dieses Arch. Bd. 96. S. 471 (1884).

Die vorliegenden anatomischen Daten geben wohl den zureichenden Grund für die Unmöglichkeit die Nitrate zu zersetzen. Die normale Resorption, die chemische Action der Nierenepithelien war im höchsten Grade beeinflusst.

Dass unter solchen Umständen auch der Chemismus beeinträchtigt werden musste, ist selbstverständlich.

Unsere am Hunde angestellten Versuche dürften neben dem speciellen noch ein allgemeines Interesse beanspruchen.

Sie haben zu den bereits bekannten ein neues Beispiel von der Verschiedenheit im Chemismus nahe verwandter Thiere hinzugefügt.

Der Mensch scheidet bei Fleischnahrung Salpetersäure aus und vermag eingeführten Salpeter nicht zu verändern. Bei derselben Nahrung ist der Harn des Hundes frei von Nitrat wohl deshalb, weil das Thier zugeführten Salpeter zum grossen Theil in andere Produkte verwandelt<sup>1)</sup>.

## VI.

Die Bestimmung der Salpetersäure nach der Methode von Schulze mit Eisenchlorür und Salzsäure. Controlbestimmungen im Menschenharn und in reinen Lösungen.

Zur Bestimmung der Salpetersäure diente ausschliesslich die Methode von Schulze, wie sie in den Lehrbüchern von Kubel-Tieman und Fresenius ausführlich geschildert ist.

Eisenchlorür stellten wir uns auf folgende Weise dar. Möglichst feine Drahtstifte werden mit reiner concentrirter Salzsäure abgebeizt, dann mit der officinellen Salzsäure der deutschen Pharmakopoe in einem Kolben übergossen und bei mässiger Temperatur digerirt. Der Kolben enthielt einen grossen Ueberschuss an ungelöstem Eisen. Er wird durch einen Stopfen mit fein ausgezogenem, offenem Glasrohr verschlossen. Die nach ca. 24 Stunden entstandene, gesättigt grüne Lösung bleibt stets

<sup>1)</sup> Nach Röhmann (a. a. O.) ist der Harn des hungernden Hundes frei von Nitraten. Unsere Versuche ergaben das gleiche Resultat. Ein Insasse des Erlanger Irrenhauses, der mit der Schlundsonde nur kärglich ernährt werden konnte, schied Nitrate aus.

über dem Eisen stehen. Es wird von derselben nur so viel abfiltrirt, als zu dem laufenden Versuche nothwendig ist.

Die benutzte Salzsäure war reine, rauchende Säure.

Ueber die Herstellung der Natronlauge und die übrigen Manipulationen vergl. die Lehrbücher.

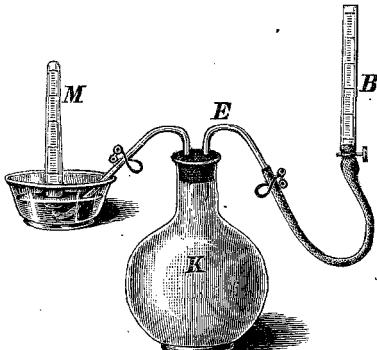
Bisweilen sammeln sich selbst beim vorsichtigsten Erwärmen geringe Mengen von Stickoxyd in dem Rohre E des Apparates<sup>1)</sup> an, durch welches Eisenchlorür und Salzsäure in den Apparat eingelassen werden.

Damit diese Gasmengen mit Sicherheit in das Messrohr M gelangen, verbindet man, wie dies nachfolgende Skizze zeigt, mit dem Einlassrohr E durch einen Schlauch und Quetschhahn ein Druckrohr (Bürette) (B), das mit concentrirter Salzsäure oder mit ausgekochtem Wasser gefüllt ist. Nach dem aus der Bürette die Luft ausgetrieben ist, werden Druckrohr und Einlassrohr verbunden und etwaige Luftblasen durch Drücken bei geöffnetem Quetschhahn der Bürette ausgetrieben. Wird nun bei längerem Kochen kein Stickoxyd mehr entwickelt, so treibt man das in dem Einlassrohr etwa enthaltene Gas in den Zersetzungskolben (K) und damit in das

Messrohr M dadurch über, dass man bei hochgehaltenem Druckrohr (B) aus diesem Flüssigkeit in den Kolben fliessen lässt. Hierbei muss der Zersetzungskolben stark erwärmt werden, damit nicht etwa die Natronlauge in den durch die eingeführte Flüssigkeit plötzlich abgekühlten Kolben zurücksteigt.

Da zur Bestimmung der Salpetersäure grössere Harnmengen — nicht unter 200 ccm — gehören und diese, weil sie beim Eindampfen im Zersetzungskolben stark schäumen, also die Bestimmung vereiteln, jedenfalls äusserst verlangsamten würden, wurde die Bestimmung der Salpetersäure nach Röh-

<sup>1)</sup> Vergl. nebenstehende Figur.



mann's Vorgang<sup>1)</sup> im Alkol-Extracte des eingedampften Harnes vorgenommen.

Es musste festgestellt werden, ob der ohne jeden Zusatz, also im Allgemeinen bei saurer Reaction eingedampfte Menschenharn weniger Salpetersäure lieferte als der gleiche Harn nach Zusatz von Alkali bis zur neutralen Reaction, da sich erwarten liess, dass die saure Reaction des Harnes mit zunehmender Concentration sich durch Neubildung von freier Säure, z. B. durch Abspaltung von Schwefelsäure aus den Aetherschwefelsäuren vermehren würde.

Es könnte dann durch die Säure Salpetersäure ausgetrieben werden. Hierüber geben die folgenden Analysen Aufschluss.

Tabelle 1<sup>2)</sup>).

Einfluss zugesetzten Alkalis auf die Nitratbestimmung.

Protocoll No.	Harn untersucht ccm	Zugesetzt	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> mg	△ mg
37 A	300	Nichts	19,5	
37 B	dito	Alkali	22,0	+ 2,5
38 A	dito	Nichts	21,14	
38 B	dito	Alkali	20,5	- 0,64
39 A	dito	Nichts	24,1	
39 B	dito	Alkali	26,8	+ 2,7
40 A	dito	Nichts	17,0	
40 B	dito	Alkali	17,4	+ 0,4

Aus vorstehender Tabelle ergiebt sich, dass fast stets bei Zusatz von Alkali mehr Salpetersäure erhalten wurde.

Deshalb neutralisierten wir den Harn mit Natronlauge und sorgten dafür, dass die Reaction während des Eindampfens stets neutral oder schwach alkalisch blieb<sup>3)</sup>. Der bis zum dünnen Syrup eingedampfte Harn wurde noch warm mit circa

<sup>1)</sup> Zeit. f. physiolog. Chemie. 5. 234 (1881). Vergl. dort auch Control-bestimmungen über die Genauigkeit der Methode im Harne von Hund und Kaninchen.

<sup>2)</sup> In dieser und in den folgenden Tabellen verweisen die Protocollnummern auf die im Anhang befindlichen analytischen Belege.

<sup>3)</sup> In einigen Versuchen liess sich nachweisen, dass die Acidität des Harnes beim Eindampfen zunahm.

$\frac{3}{4}$  seines Volums an 96 pCt Alkohol vermischt. Die Flüssigkeit blieb 24 Stunden stehen und wurde dann durch ein kleines Faltenfilter abgegossen. Das alkoholische Extract wird verdampft und mit circa 90 ccm Wasser in den Zersetzungskolben gespült. Es ist für das Gelingen einer Bestimmung durchaus nötig, dass die Flüssigkeit bis auf ein kleines Volumen (circa 15 ccm) eingedampft wird.

Der Kolben stand auf einem einfachen Drahtnetz.

Es war ferner festzustellen nötig:

- 1) ob die Methode constante Resultate liefert,
- 2) ob Salpeter, welcher einem Harne von bekanntem Salpetergehalt zugesetzt wurde, durch die Bestimmung genau ermittelt würde.

Unsere Versuche haben wir in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 2.

Protocoll No.	Harn untersucht ccm	Zugesetzt	$N^2O^5$ mg	Differenz zwisch. zwei Parallelversuchen soll betragen mg	Differenz zwisch. zwei Parallelversuchen beträgt mg
28 A	420	Alkali	20,3	0,0	+ 1,4
28 B	dito	dito	18,9		
45 A	200	dito	20,16	0,0	
45 B	dito	dito	20,24	—	+ 0,8
27 A	500	dito	19,07		
27 B	dito	15 mg $N^2O^5$ + Alkali	35,17	+ 15,0	+ 16,1
29 A	dito	Alkali	24,05		
29 B	dito	10 mg $N^2O^5$ + Alkali	33,6	+ 10,0	+ 9,55
33 A	dito	Alkali	4,84		
33 B	dito	10 mg $N^2O^5$ + Alkali	16,1	+ 10,0	+ 12,26
37 A	300	Alkali	19,5		
37 C	dito	10 mg $N^2O^5$ + Alkali	29,35	+ 10,0	+ 9,85
40 B	dito	Alkali	17,4		
40 C	dito	15 mg $N^2O^5$ + Alkali	31,5	+ 15,0	+ 14,1
49 A	dito	Alkali	31,46		
49 B	dito	10 mg $N^2O^5$ + Alkali	42,17	+ 10,0	+ 10,71

Aus vorstehender Tabelle (Protocoll No. 28A und B, 45A und B) ergiebt sich, dass bei Parallelbestimmungen völlig genügende Uebereinstimmung erreicht wird. Ferner zeigt sich, dass die dem menschlichen Harne zugesetzte Salpetermenge nahezu quantitativ wiedergefunden werden

kann. Die Analysen No. 49 A und B und No. 33 A und B gehören zu den ersten Bestimmungen, welche der eine von uns (C.) nach der Methode von Schulze ausführte. Trotz geringerer Uebung wurden auch hier völlig genügende Werthe erhalten.

Ich will nicht verfehlten ausdrücklich darauf hinzuweisen, dass überhaupt nur mit Milligrammen und Substanz gearbeitet wurde.

Nach den bisher mitgetheilten Controlbestimmungen liefert die Methode von Schulze auch für den Menschenharn zuverlässige Resultate.

Da die bisher angewandte Methode zur Bestimmung der Nitrate im Harn wegen der bedeutenden Alkoholmenge, welche sie erfordert, kostspielig, wegen der verschiedenen Manipulationen langwierig ist, versuchten wir dieselbe zu vereinfachen.

Zu diesem Zwecke versetzten wir den Harn mit neutralem essigsaurem Blei, bis durch dieses Reagens kein Niederschlag mehr hervorgerufen wurde. Die sauer reagirende Mischung wird mit verdünnter Natronlauge neutralisiert, nach einigem Stehen filtrirt, dann bis auf circa 50 ccm eingedampft. Der noch warme Rückstand wird durch ein kleines Faltenfilter direct in den Zersetzungskolben filtrirt. Das Filter wird zweimal mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Jetzt lässt sich der Harn ohne zu schäumen im Zersetzungskolben weiter eindampfen und für die Bestimmung nach Schulze gebrauchen.

Man erhält auch nach dieser Methode zuverlässige Resultate, wie die folgende Tabelle beweist.

Tabelle 3.

Bleifällung.

Proto- coll	Untersucht	Zugesetzt	$N^2O^5$ in mg soll betragen	beträgt	Differenz	
No.	ccm				zwischen	mg
5	50 dest. Wasser	20 mg $N^2O^5$ 5 g Natr.-Acetat	20,0	20,8	—	+ 0,8
7	dito	10 mg $N^2O^5$ 5 g Natr.-Acetat	10,0	10,2	—	+ 0,2
28 A	420 Harn	Alkali	—	20,3	28 A u. 28 B	+ 1,4
28 B	dito	dito	—	18,9		
29 A	500 Harn	dito	24,05	24,05		
29 B	dito	Alkali + 10 mg $N^2O^5$	34,05	33,6	29 A u. 29 B	— 0,45

Protocoll No. 5 und 7 beweisen, dass Natrium aceticum, welches in Folge der Methode im Harnen vorhanden ist, das Resultat kaum beeinflusst.

Die weiteren Bestimmungen rechtfertigen die Anwendbarkeit der Bleifällung.

Wir haben trotzdem die Salpetersäure beinahe ausschliesslich im Alkoholextract bestimmt um unsere gemeinsam angestellten Versuche mit grösserer Sicherheit mit denen vergleichen zu können, welche der eine von uns (W) früher nach der Alkoholmethode ausführte.

## VII.

Die Ausscheidung der Salpetersäure beim Menschen.

Salpetersäurebestimmungen im Menschenharn liegen bisher nur in geringer Anzahl vor<sup>1)</sup>.

Der Salpetergehalt des menschlichen Harnes wird durch die Nahrung beeinflusst werden müssen.

Milch, Weissbrot, Fleisch und Fleischextract<sup>2)</sup> sind nach Röhm ann (a. a. O. S. 237) frei von Salpetersäure.

Dagegen enthalten die Vegetabilien und das Wasser meist Nitrat e, und zwar häufig in nicht geringen Mengen.

Im Bier und Wein hat der eine von uns (W.) häufig Nitrat e nachgewiesen, und zwar pro Liter Bier und Wein circa 4 bis 10 mg. N<sup>2</sup>O<sup>5</sup><sup>3)</sup>.

Den strengen Ansprüchen der Ernährungsphysiologie genügen also eigentlich nur solche Versuche, bei welchen die Diät constant erhalten wurde.

Dieses Postulat liess sich nur in wenigen Fällen durchführen. Noch dazu in solchen, welche wir uns zu publiciren scheuen, da wir den Versuchspersonen, wie sich später herausstellte, nicht vollkommen trauen dürften.

<sup>1)</sup> Nach privater Mittheilung des Herrn Röhm ann beziehen sich seine Angaben, Zeit. f. physiolog. Chem. 5. 235, auf Menschenharn. Ausserdem erhielt derselbe im alkoholischen Extracte eines Harnes bei Pneumonie (1 Tag nach der Krise) 1,67 pCt. N<sup>2</sup>O<sup>5</sup>.

<sup>2)</sup> Nach der Destillationsmethode liess sich in 50 g käuflichem Fleischextract (Liebig) mit Sicherheit Salpetersäure in kleiner Menge nachweisen. Dieselbe stammte vielleicht aus dem zur Bereitung des Präparates benutzten Wasser.

<sup>3)</sup> Hierüber demnächst Ausführlicheres.

Es bleiben demnach nur übrig:

- 1) einige Versuche an uns selbst,
- 2) Versuche an Patienten und Convalescenten, welche die ziemlich constante Kost des gleichen Krankenhauses genossen<sup>1)</sup>.

Wenn wir jetzt zur Mittheilung unserer Resultate übergehen, so muss zunächst nachdrücklich betont werden, dass die mitzutheilenden Werthe an Personen erhoben wurden, welche das, wie bekannt, äusserst Nitrat-arme Wasser der Berliner Leitung genossen.

Die nachfolgende Tabelle enthält die vorhandenen Nitrat-bestimmungen im normalen Harn.

Tabelle 4.

Proto- coll No.	Harn unter- sucht	Ge- schlecht.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in d. unter- suchten Harn		Analy- tiker	Bemerkungen.
			10000 mg	10000 mg		
— 1	100	?	1,5	150	R.	Röhmann, Zeit. f. phys. Chem. 5. 235.
— 2	dito	?	4,2	420	R.	
— 3	dito	?	4,1	410	R.	
— 4	dito	?	5,2	520	R.	
— 5	587	♂	?	392	W.	
— 6	595	dito	?	170	dito	R. Warrington, Journ. of the Chem. Soc. Dec. 1884. Vol. XLV. Sep.-Abdr. S. 671.
— 7	650	dito	?	115	dito	
27 A 8	500	dito	19,07	381	W. u. C.	
28 A 9	420	dito	20,3	406	dito	Weyl und Citron, Gemischte Kost.
29 A 10	500	dito	24,05	481	dito	
— 11	250	dito	15,1	604	dito	Viel Kartoffeln u. Kohl.
— 12	dito	dito	14,3	572	dito	dito.
— 13	500	dito	16,1	322	W. u. C.	Weyl und Citron, Fleischdiät.
— 14	dito	dito	18,3	386	dito	
— 15	250	dito	10,1	404	dito	Gemischte Kost.
— 16	dito	dito	11,2	448	dito	
— 17	500	dito	19,3	386	dito	Kein Gemüse, wenig Kartoffeln viel Fleisch.
— 18	dito	dito	18,7	374	dito	
— 19	dito	dito	15,3	306	dito	
— 20	dito	dito	17,1	342	dito	
— 21	250	dito	8,5	340	dito	
— 22	dito	dito	10,3	412	dito	Viel Gemüse.
— 23	dito	dito	16,3	652	dito	
Mittel <sup>2)</sup> 423						

<sup>1)</sup> Wir sind Herrn Professor Jacobson und Herrn Collegen Veilchenfeld für die Ueberlassung des Materials zu grossem Dank verpflichtet.

<sup>2)</sup> Hierbei No. 1, 6 und 7 nicht berücksichtigt.

Obgleich ihre Anzahl vielleicht noch nicht gross genug ist, lässt sich doch mit einiger Sicherheit der Schluss ziehen, dass die Menge der Salpetersäure im Harne bei Fleischkost geringer ist als bei gemischter Kost, dass dieselbe ferner bei einer an Vegetabilien reichen Nahrung gesteigert wird. Die mittlere Ausscheidungsgrösse der Salpetersäure beträgt nach den vorliegenden Bestimmungen für den erwachsenen Mann

425 mgr in 10 000 Theilen Harn.

Im Nachfolgenden geben wir ferner einige der uns zu Gebote stehenden Versuchsreihen über die Ausscheidung der Salpetersäure durch den Harn unter pathologischen Bedingungen<sup>1)</sup>.

Tabelle 5.

Reconvalescentin nach Magenkattarrh.

Protocoll No.	Datum	Harn in 24 Stdn.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 24 Stdn.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 10000 Th. Harn
37 B.	8.—9.	1000	73,3	733
38 B.	10.—11.	900	61,5	683
39 B.	11.—12.	1000	89,3	893
40 B.	12.—13.	1000	58,0	580
<b>Mittel 1444</b>				

Tabelle 6.

Typhus. ♂

Protocol No.	Datum Novbr.	Harn in 24 Stdn.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 24 Stdn.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 10000 Th. Harn	Tempe- ratur.	Bemerkungen.
45 B	19.	300	50,6	1012	39,5°	
46	20.	350	? 11,27	—	38—39	
47	21.	420	66,9	1593	39°	3 g Antipyrin, 2 Bäder.
48	22.	480	61,8	1288	40,2	Roseola schwach, 2 g Antipyrin, 2 Bäder.
49 A	23.	680	72,5	1066	40,2	4 g Antipyrin, 1 Bad.
50	24. u. 25.	2010	203,5	1012	38,5—39,5	4 g Antipyrin, kein Bad. N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> für zwei Tage.
51	26.	960	82,8	862	37,5	Kein Antipyrin, kein Bad.
<b>Mittel 976</b>						

<sup>1)</sup> Bei dieser Gelegenheit erwähne ich folgenden Fall, den ich der Freundlichkeit des Herrn Collegen Koeberlin (Erlangen) verdanke. Pat. Seeberger mit progressiger Paralyse und beginnendem Decubitus er-

Tabelle 7.  
Typhus. ♂

Datum	Harn in 24 Stdn. ccm	Spec. Gew.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 24 Stdn. mg		10000 Harn mg	Bemerkungen.
			45,2	269		
3.—4.	1680	1015				Temp. Morg. 40, Abd. 39,2. Bäder. 1 g Chinin.
4.—5.	1030	1018	10,7	107		Temp. 40°. Bäder.
5.—6.	1970	1013	78,8	788		Temp. 39—40°. Bäder.

Die vorstehend mitgetheilten Werthe sind noch zu wenig zahlreich um bei der Concurrenz der verschiedenen Factoren weitere Schlüsse zu gestatten.

Dagegen haben die in Tabelle 8 zusammengestellten Werthe

Tabelle 8.

Diabetes mellitus. Furunculosis. (Fall I.)

Protocoll No.	Datum	Harn in 24 Stdn.	Spec. Gew.	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 24 Stdn. mg		Zucker in 24 Stdn. g	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> in 10000 Theilen Harn mg
52	3.—4.	1200	1035	18,4	20,4	153	
53	4.—5.	1300	1035	33,5	25,7	257	
54	5.—6.	930	1040	17,1	23,4	251	
55	6.—7.	1100	1035	15,2	19,7	179	
							Mittel 210

Diabetes. Fall II. ♂

56	500	1030	3,45	606,0	69,0
----	-----	------	------	-------	------

Diabetes. Fall III. ♀

57	1.	500	1010	4,56	24	91,0
	2.	dito	1015	5,24	27	104,8

Mittel 97

für die Nitratausscheidung bei Diabetes das übereinstimmende Resultat einer Verminderung der Salpetermenge des Harns ergeben. Dass die Anwesenheit von Traubenzucker die Anwendung der Methode von Schulze nicht beeinträchtigt, geht aus den Analysen Protocoll No. 8 bis 11B hervor.

Es werden weitere Untersuchungen entscheiden müssen, ob damit ein für den Diabetes mellitus charakteristisches Merkmal gewonnen wurde.

hält nur Milch, Fleischbrühe und Eier. Ich fand in 200 ccm Harn von 1027 spec. Gew. 12,7 mg N<sup>2</sup>O<sup>5</sup>, also in 10000 Theilen 635 mg. Der Befund ist deswegen interessant, weil er zeigt, dass trotz einer jedenfalls nahezu Nitrat-freien Nahrung im Harne Salpetersäure ausgeschieden wurde [ $v = 5,8$ ,  $t = 12^{\circ}$ ,  $B = 728$ ].

Verständlich würde vielleicht diese Erscheinung schon nach den bisher vorliegenden Thatsachen sein<sup>1)</sup>.

Wir wissen, dass bei Diabetes mellitus abnorm grosse Ammoniakmengen ausgeschieden werden. Dies heisst doch aber nichts anderes, als dass die Synthese von Ammoniak zu Harnstoff im Diabetes gestört ist, wenn nicht etwa bei dieser Affection eine abnorme Neubildung von Ammoniak erfolgte.

Es hat nun nach den Versuchen des einen von uns den Anschein, als wenn wenigstens ein Theil der Nitrate des Harnes im Organismus selbst, und zwar aus Ammoniak entsteht<sup>2)</sup>. Diese Synthese von Salpetersäure aus Ammoniak ist im Organismus des Diabetikers gestört. Daher die geringe Menge Salpetersäure im Harne des Diabetikers<sup>3)</sup>.

#### Analytische Belege.

Um die langwirigen Rechnungen zur Ableitung von  $v^o$  aus  $v$  zu umgehen benutzte ich die Tabelle III der Rechentafeln von Kohlmann und Frerichs. Dieselben, für die volumetrische N-Bestimmung entworfen, waren für meine Zwecke geeignet, wenn der in ihnen ausgerechnete Werth

$$\frac{B-w.1,25658}{760(1+\alpha t)}$$

dividirt wurde durch 1,25658 (Gewicht von 1 ccm N in mgr), multiplicirt mit  $v$  = dem aus dem Versuche abgeleiteten Werthe für ccm Stickoxyd, multiplicirt ferner mit 2.413, dem Factor zur Berechnung von  $N^2O^5$  aus NO. Also:

$$\frac{(B-w).1,25658}{760(1+\alpha t)} \cdot \frac{2.413}{1.25658} \cdot v = \frac{(B-w)1.256}{760(1+\alpha t)} \cdot 1,92 \cdot v$$

<sup>1)</sup> Vergl. Archiv f. experimentelle Pathologie Bd. XII (Haller's Vorden) und Bd. XVII (E. Stadelmann). Ferner Gaehtgens, Zeit. f. phys. Chem. Bd. 4. 36.

<sup>2)</sup> Hierüber in einer weiteren Mittheilung.

<sup>3)</sup> Der eine von uns verfügt über weitere 50 Salpetersäurebestimmungen im Harne. Dieselben wurden in Erlangen angestellt und sind durch Doppelanalysen controlirt. Sie ergeben constant eine höhere Nitratauscheidung als in den Berliner Harnen. Sobald uns Analysen des sehr Nitrat-reichen Erlanger Brunnenwassers zur Verfügung stehen, sollen jene Befunde publicirt werden. Ohne jene Wasseranalysen schweben unsere Bestimmungen, wie oben S. 186 auseinandergesetzt ist, in der Luft.

Der aus der Tabelle unter Berücksichtigung im  $t^0$  und B abgelesene Werth mit  $v \times 1.92$  multiplicirt, ergab die im Versuch erhaltenen Milligramme  $N^2O^5$ . Darnach ist verständlich, weshalb in dieser Arbeit der Werth für  $v^0$  (reducirtes Volum) nur dann berechnet wurde, wenn die Tabellen für Temperatur und Druck während des Versuches nicht ausgerechnet waren. Ich habe mich durch wiederholte Proben überzeugt, dass die mit Hülfe der Tabelle erhaltenen Werthe erst in den Decimilligrammen von den in gewohnter Weise berechneten Zahlenwerthen differiren<sup>1)</sup>.

Proto- coll No.	Gesucht mg $N^2O^5$	Zugesetzt	NO	t	B	Gefunden		$\Delta$ $N^2O^5$ mg
						$N^2O^5$ mg	$N^2O^5$ mg	
1	50	—	22,05	12	762	50,33	+0,33	
2	25	—	11,4	12	762	25,76	+0,76	
3	25	Kohlens. Ammon. 5 g	11,4	12	762	25,76	+0,76	
5	20	—	9,2	9	745	20,8	+0,8	
7	10	—	4,4	6	753	10,2	+0,2	
8	10	Alkali + 5 g Traubenzucker	4,4	8	771	10,4	+0,4	
9	10	dito	4,6	10	751	10,45	+0,45	
10	10	dito	4,8	13	756	10,85	+0,85	
11 A	10,68	10 g Traubenzucker	4,2	10	758	10,68	+0,00	
11 B	10,68	—	4,7	12	758	10,68	+0,00	
Proto- coll No.	Harn unter- sucht	Zugesetzt	NO	t	B	$N^2O^5$ mg	Methode	Bemerkungen
27 A	500	Alkali	8,6	16	757	19,07	Alkohol	Normal.
27 B	500	Alkali + 15 mg $N^2O^5$	15,8	11	760	35,17	dito	dito
28 A	420	Alkali	8,8	7	753	20,3	Blei	dito
28 B	420	Alkali	8,2	7	753	18,9	dito	dito
29 A	500	Alkali	10,5	9	754	24,03	dito	dito
29 B	500	Alkali + 10 mg $N^2O^5$	14,6	9	756	33,6	dito	dito
33 A	500	Alkali	2,1	9	758	4,84	Alkohol	Phthisis pulmon.
33 B	500	Alkali + 10 mg $N^2O^5$	7	9	758	16,1	dito	dito
37 A	300	Nichts	8,5	7	748	19,5	dito	Magenkatarrh
37 B	dito	Alkali	9,2	7	750	22,0	dito	dito
37 C	dito	Alkali + 10 mg $N^2O^5$	13	8	740	29,36	dito	dito

Vergl. ausserdem No. 38 a und 38 b; 39 a und 39 b; 40 a, 40 b und 40 c; 45 A und 45 B; 49 A und b.

1) Um Raum zu ersparen, wurden die analytischen Belege für einen Theil der im Texte erwähnten Bestimmungen fortgelassen.

Protocoll	Untersucht	Harn	Zusatz	Methode	Vol.	NO	t°	B	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup>
No.		ccm							mg
38 a	300	0		Alkohol	9,2	7	750	21,14	
38 b	300	Alkali		dito	8,9	9	758	20,5	
39 a	300	0		dito	10,5	10	758	24,1	
39 b	300	Alkali		dito	11,4	7	766	26,8	
40 a	300	0		dito	6,9	7	771	17,0	
40 b	300	Alkali		dito	7,4	7	768	17,4	
40 c	300	Alkali + 15 mg N <sup>2</sup> O <sup>5</sup>		dito	13,4	7	768	31,5	
45 A	200	Alkali		dito	8,6	8	768	20,16	
45 B	200	dito		dito	8,5	6	765	20,24	
46	300	dito		dito	4,1	8	771	9,65	
47	300	dito		dito	18,0	7	757	41,8	
48	400	dito		dito	22,2	7	757	51,5	
49 A	300	dito		dito	13	5	751	31,46	
49 B	300	Alkali + 10 mg N <sup>2</sup> O <sup>5</sup>		dito	18,4	8	751	42,17	
50	400	Alkali		dito	17,7	10	757	40,5	
51	400	dito		dito	15,2	12	756	34,5	

Protocoll	Harn untersucht	Zugesetzt	Methode	Vol.	NO	t°	B	Bemerkungen.	
No.	ccm			ccm					
52	380	Alkali	Alk.	2	10	756		Fall I. Aus der Praxis des Herrn Prof. Jacobson.	
53	400	dito	dito	4,4	5	756			
54	250	dito	dito	2,0	11	756			
55	400	dito	dito	2,5	4	749			
56	500	dito	dito	1,5	6	748		Fall II (durch die Güte des Herrn Prof. Senator).	
57	500	dito	dito	2,0	7	744		Fall III eigner Beobachtung.	
58	500	dito	dito	2,3	7	744		dito.	

Tabelle 9.

Hund.

Protocoll	Harn untersucht	Zugesetzt	NO	t°	B	N <sup>2</sup> O <sup>5</sup>	Bemerkungen.
No.	ccm					mg	
100 A	345	50 mg N <sup>2</sup> O <sup>5</sup>	22,2	12	748	49,7	100 A u. B beziehen sich auf denselben Harn.
100 B	345	dito	22,8	12	746	50,8	
101	720	nichts	10,0	11	748	22,5	Mit der Nahrung 100 mg N <sup>2</sup> O <sup>5</sup> .