

Weitere Beiträge zur Theorie der Harnstoffbildung. Das Verhalten des Glycocoll etc. im Organismus.

Von E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des patholog. Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 23. Dezember 1879.)

Zweiter Theil. Thierversuche.

A. Versuche an Hunden.

I. Glycocoll.

Soviel mir bekannt, ist die von Schultzen und Nencki¹⁾ mitgetheilte Versuchsreihe die einzige in der Litteratur geblieben; bei der Wichtigkeit, welche ihr zukommt, sei mir gestattet mit einigen Worten auf dieselbe einzugehen. Schultzen und Nencki brachten einen Hund durch Fütterung mit Brod und Milch auf niedrige und annähernd constante Harnstoffausscheidung und gaben ihm alsdann an einigen Tagen neben seinem Futter Glycocoll. Den Harnstoffgehalt bestimmten sie nach der gewöhnlichen Bunsen'schen Methode durch Wägung des kohlen-sauren resp. schwefel-sauren Baryt. Die hiebei von ihnen erhaltenen Zahlen sind folgende:

Datum.	Harnmenge.	+	+			
		Ur.	N aus Ur.	N direct.	N als NH ₃ .	
24.	360 Cc.	3,96	—	—	0,2034	
25.	302 »	3,76	—	—	0,273	
26.	250 »	7,187	3,30	3,42	0,1977	15 gr. } Glyco- 15 gr. } coll.
27.	345 »	9,47	4,32	4,22	0,3703	
28.	265 »	3,81	2,31	2,33	0,2435	
29.	332 »	3,78	1,85	1,76	0,2626	

Die Verfasser erläutern diese Tabelle durch folgende Worte:

¹⁾ Zeitschr. f. Biolog. VIII, S. 124.

« Wenn wir in obiger Tabelle die Harnstoffzahlen von den 4 Tagen, welche nicht unter Wirkung des Glycocoll stehen, zusammenzählen und die Summe durch 4 dividiren, so kommt im Durchschnitt auf jeden Tag 3,8 gr. Harnstoff; an den beiden der Fütterung entsprechenden Tagen wurde 16,60 Harnstoff ausgeschieden, also an diesen Tagen ein Mehr von 9,0 Harnstoff, dessen Stickstoffgehalt nahezu dem des Glycocoll entspricht: die 30 gr. Glycocoll würden 11,97 Harnstoff entsprechen, der kleine Ausfall erklärt sich leicht daraus, dass das Glycocoll nicht absolut rein und trocken war.

Um sicher zu sein, dass keine erhebliche Menge Stickstoff in anderer Form, wie als Harnstoff ausgeschieden war, wurden an den der Glycocollfütterung entsprechenden und den beiden folgenden Tagen directe N Bestimmungen nach Schneider-Seegen vorgenommen; die Columne VIII (Differenz zwischen N aus Harnstoff und N direct) ergiebt, wie wenig die aus dem Harnstoff berechneten und die direct für den N berechneten Zahlen von einander differiren. Es ist hiemit der Beweis geliefert, dass das Glycocoll auf seinem Wege durch den Organismus in Harnstoff verwandelt wird.»

Unter der Voraussetzung, dass nach Fütterung mit Glycocoll kein anderer Körper auftreten kann, der beim Erhitzen in alkalischer Flüssigkeit Kohlensäure bildet, unter dieser Voraussetzung kann man in der That den Beweis als erbracht ansehen, wenn ich auch die Versuchsreihe nicht für mustergültig halte. Nach der Rechnung von Schultzen und Nencki fehlte $\frac{1}{4}$ des Harnstoffes, der sich aus dem Glycocoll hätte bilden sollen. Die hiefür von den Autoren gegebene Erklärung, « dass das Glycocoll nicht absolut rein und trocken war », kann ich für keine glückliche halten. Dass es nicht ganz rein und trocken war, wird man ja wohl glauben müssen, wenn die Autoren selbst es sagen, aber ich bin überzeugt, dass Schultzen und Nencki ein Präparat, das nur zu $\frac{3}{4}$ aus Glycocoll bestand, gewiss nicht angewendet haben würden. Allerdings fehlt nicht allein Harnstoff, sondern auch ein erheblicher

Bruchtheil des mit dem Glycocoll eingeführten Stickstoffs, wenn man, Schultzen und Nencki folgend, nur 2 Tage als unter dem Einfluss des Glycocolls stehend ansieht. Addirt man nämlich die am 24., 25., 28. und 29. entleerten N.-Mengen aus der directen Bestimmung (für den 24. und 25. fehlt die directe Bestimmung, aus dem Harnstoff berechnen sich die Zahlen 1,843 und 1,758 gr.), so ergiebt sich 7,696 N, für 2 Tage also 3,848 gr. An den beiden Glycocolltagen sind entleert 7,640 gr.; zieht man davon die normale Ausscheidung ab, so bleiben noch 3,792 gr. auf das Glycocoll zu beziehen; nun enthalten aber 30 gr. Glycocoll 5,6 gr. N. Die Differenz ist, wie man sieht, sehr erheblich. Etwas geringer wird sie, wenn man, wozu Schultzen und Nencki alles Recht gehabt hätten, die Ausscheidung am 28. als noch unter dem Einfluss des Glycocoll's stehend ansieht, immerhin bleibt sie erheblich. Der Grund liegt wohl weit weniger in der Unreinheit des Präparates, als in der Anordnung des Versuches selbst: es bleibt zweifelhaft, ob die N.-Einfuhr mit der Nahrung an allen Tagen dieselbe war.

Uebrigens bemerke ich noch, dass die Tabelle einige Versehen zu enthalten scheint. Für den 28. ist angegeben «3,81 Harnstoff und 2,31 N aus Harnstoff». 3,81 Harnstoff würde aber nur 1,748 N. entsprechen. In diesem Fall würde die Differenz zu dem direct gefundenen N. 2,33. sehr gross sein; wahrscheinlich ist die Zahl für den Harnstoff irrthümlich; aus der angegebenen N.-Menge berechnen sich 4,95 Harnstoff statt 3,81. Für den 29. berechnet sich aus der angegebenen Harnstoff-Zahl 3,78 gr. nicht 1,85 N, sondern 1,764. Diese Zahl steht in der Columne «N direct»; die Zahlen sind also wohl vertauscht.

Diese Ausstellungen beeinträchtigen aber nicht das Hauptfactum der Harnstoffvermehrung, die sich nicht aus einer Steigerung des Eiweisszerfalles ableiten lässt. In diesem Falle müsste der Harn unverändertes Glycocoll in grosser Menge enthalten haben, darauf weisen aber die Versuchszahlen nicht hin.

Wie ich bereits in der Einleitung zum ersten Theil erörtert habe, ist nun die Voraussetzung, dass Kohlensäureentwicklung bei der Bunsen'schen Bestimmung nur vom Harnstoff herrühren könne, jetzt nicht mehr stichhaltig; wir wissen jetzt, dass sie auch von Uramidosäuren herrühren kann; eine Wiederholung der Versuche war daher nothwendig. Betreffs der Ausführung derselben kann ich auf meine Bemerkungen im Bd. 1 S. 2 dieser Zeitschrift verweisen. Der erste Fütterungsversuch ist mit der dort erwähnten Mischung aus Brod, Speck und condensirter Milch angestellt.

Das angewendete Glycocoll war völlig trocken, rein und aschefrei; überhaupt habe ich auf die Herstellung der Präparate die grösste Sorgfalt verwendet, sie können als absolut rein gelten.

Tabelle I. Fütterungsversuch mit Glycocoll

Datum	Körpergewicht.	Harnmenge.	N nach Liebig.	CO nach Bunsen.	Schwefelsäure als Ba SO ₄ .	Bemerkungen.
3/7 75	19,450 k	180 ¹⁾ Cc.	3,248	3,366	0,784	14,585 gr. Glycocoll.
4.	19,430	195	3,061	2,881	0,700	
5.	19,320	220	5,675	5,148	0,936	
6.	19,330	175	3,442	3,041	0,600	
7.	19,430	220	3,253	3,142	0,816	

An den Tagen der Glycocollfütterung zeigt die Menge der durch Erhitzen gebildeten Kohlensäure eine ansehnliche Steigerung. Um nachzuweisen, dass sie auf einer Vermehrung der Harnstoff-Ausscheidung beruht, wurden an allen Tagen je 50 Cc. des auf 400 verdünnten Harns, also $\frac{1}{8}$ der täglichen Harnmenge bei gelinder Wärme verdampft, mit Salpetersäure gefällt, der salpetersaure Harnstoff abgepresst, durch Ba CO₃ in Harnstoff übergeführt, die Lösung auf 50 Cc gebracht und 10 Cc. titirt. Es wurden gebraucht Quecksilberlösung:

3/7.	9,9 Cc.
4.	9,4 »
5.	20,2 »
6.	9,6 »
7.	9,4 »

¹⁾ Die Harnmenge wurde nur auf 5 Cc. abgelesen; zu den Bestimmungen wurde der Harn auf 400 Cc. verdünnt.

Für den 5. ergibt sich also eine Steigerung, die gar keinen Zweifel lässt: es ist in der That nach der Glycocollfütterung eine ansehnliche Steigerung der Harnstoffausscheidung eingetreten. Warum die Differenz zwischen « Normaltag » und Versuchstag bei diesen Verfahren grösser erscheint als bei der Bunsen'schen Bestimmung, habe ich schon früher erörtert¹⁾; ich will nicht versäumen, noch zu wiederholen, dass diese Zahlen nur etwas bedeuten bezüglich des Verhältnisses, in dem sie zu einander stehen.

Unzweifelhaft aber ist auch unverändertes Glycocoll ausgeschieden. Die N.-Ausscheidung nach Bunsen beträgt im Durchschnitt an 4 Normaltagen 3,104 gr., am Glycocolltag 5,148 gr., Differenz 2,044. Das eingeführte Glycocoll enthält 2,704 N. Dem entsprechend giebt die Liebig'sche Bestimmung am 5. und 6. ein ansehnliches Plus gegenüber der Bunsen'schen,²⁾ ein weit ansehnlicheres wie an den anderen Tagen. Der erste 4 1/2 Stunden nach der Fütterung durch den Catheter entnommene Harn schmeckte süss und zwar recht intensiv; der Gesammtharn löste reichlich Kupferoxydhydrat, weit mehr als der Harn des vorhergehenden Tages.

Es fragt sich nun noch, ob wir Grund haben, eine Steigerung des Eiweisszerfalles als Ursache der vermehrten Harnstoff-Ausscheidung anzunehmen. Ich glaube, dass hiezu keine Nöthigung vorliegt. Allerdings ist die $\text{SO}_4 \text{H}_2$ Ausscheidung am Glycocolltage ansehnlich höher wie an den vorhergehenden Tagen, aber sie ist am nächsten Tage wieder ebensoviel geringer. Derartige Schwankungen sind bei Fütterung mit heterogenen Substanzen ganz gewöhnlich; sie sind leicht erklärlich bei gesteigerter Diurese, (alsdann handelt es sich gewissermassen um eine Ausspülung der schwefelsauren Salze des Körpers), sie kommen aber auch ohne wesentliche Steigerung der Diurese vor. Im Mittel ergibt sich für den 5., 6. und 7. 0,768 gr. Ba SO_4 , für die 3 anderen Tage

¹⁾ Diese Zeitschrift I, S. 21.

²⁾ Dass die Liebig'sche Titirung in diesem Fall ungefähr den Gesamt-N-Gehalt anzeigt, ist im ersten Theil erörtert.

0,766. Man kann danach eine Steigerung des Eiweisszerfalles ausschliessen.

Der zweite Glycocollversuch ist an einem hungernden Hunde ausgeführt. Derselbe war einige Tage vorher mit einer sehr eiweissarmen und fettreichen Nahrung gefüttert, sodass er gleich am ersten Hungertage nur 4,54 gr. N ausschied. Die Stickstoffausscheidung zeigt übrigens an den einzelnen Tagen grössere Schwankungen, wie bei der sonst von mir gewählten spärlichen Fütterung und es gelang auch nicht, die N.-Ausscheidung ebensoweit herabzudrücken. Das Körpergewicht betrug im Beginn des ersten Hungertages, d. h. 24 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme 20,400 kg., am Ende des Versuches nach sechs vollen Hungertagen 19,44 kg. Das Glycocoll erhielt der Hund durch die Schlundsonde; hier stellten sich nun sofort die Fehler des Hungerversuches ein. Der Hund erbrach einen Theil und frass die Flüssigkeit nicht ganz vollständig wieder auf. Eingegeben wurden 25 gr. Glycocoll mit 4,666 N. Ich hatte beabsichtigt den Harn noch mehrere Tage nach der Glycocollfütterung zu untersuchen, wurde aber leider durch Erkrankung genöthigt den Versuch am 27. abzubrechen.

Tabelle II. Fütterungsversuch mit Glycocoll.

Datum	Harn- menge.	N nach Seegen.	CO nach Bunsen.	SO ₄ H ₂ als Ba SO ₄ .	Bemerkungen.
22/2 76	240	4,50	—	—	
23.	140	4,52	4,506	1,240	
24.	140	4,14	4,084	1,040	
25.	160	4,58	4,661	1,036	
26.	250	7,44 ¹⁾	7,313 } 7,218	1,272	25 gr. Glycocoll.
27.	150	—	7,124 } 4,137	0,864	

Auch in diesem Versuch wurden je 50 Cc. des auf 400 Cc. verdünnten Harns eingedampft, mit Salpetersäure gefällt, etc., 10 Cc. Harn erforderten Quecksilberlösung:

¹⁾ Durch Verbrennen mit Natronkalk im Rohr bestimmt. Die Seegen'sche Bestimmung ergab 7,22, also auch keine erhebliche Differenz.

am 24.	13,5 Cc.
25.	15,3 »
26.	32,1 »
27.	13,9 »

Die Alkaleszenzabnahme bei der Bunsen'schen Bestimmung betrug, ausgedrückt in $\frac{1}{10}$ Normallauge für 7,5 Cc. Harn.

am 23.	2,5 Cc.
24.	2,3 »
25.	2,8 »
26.	2,7 »
27.	2,2 »

Diese Zahlen zeigen unzweifelhaft, dass die Substanz, die bei der Bunsen'schen Bestimmung zersetzt wurde, auch in dem nach Glycocollfütterung entleerten Harn keinen Ueberschuss an Säure liefert. Sie kann also nicht Hydantoin sein. Dagegen könnte sie, wenn wir von der directen Ausfällung des Harnstoffes als salpetersauren absehen, noch Hydantoin-säure sein (als Na-Salz), allein diese wird ausgeschlossen durch die Bestimmung des abgespaltenen Ammoniaks. Das bei den Bunsen'schen Bestimmungen am 26. abgespaltene Ammoniak entsprach a) 9,75, b) 9,52, also im Mittel 9,635 Cc. Normalsäure. Das ergiebt für den 26. 7,1904 N in Form von NH_3 abgespalten; die Menge der CO Gruppe ist 7,216 gr. Es ist also gezeigt, dass der durch die Bunsen'sche Reaction zersetzte Körper im Harn Kohlensäure und Ammoniak in äquivalenten Mengen liefert und dass eine Bildung von Säure (mehr als in der Norm beim Erhitzen des Harns) nicht stattgefunden hat. Der nach der Glycocollfütterung entleerte Körper kann also nur Harnstoff sein.

Die Frage, ob die Harnstoffsteigerung vielleicht von vermehrtem Eiweisszerfall herrührt, werden wir wiederum verneinen können. Allerdings zeigt sich am 26. eine Steigerung der Schwefelsäureausscheidung, dieselbe wird aber am 27. wieder eingebracht. Das Mittel dieser beiden Tage beträgt 1,068 gr., das Mittel der drei vorangehenden Tage 1,105 gr. Ba SO_4 .

Am 25. und 26. wurde noch der Schwefelgehalt im Filtrat vom BaSO_4 durch Schmelzen mit Soda und Salpeter etc. bestimmt. Es ergab sich für den 25. 0,358 gr. BaSO_4 , für den 26. 0,482 gr. Das Verhältniss zwischen dem in Form von Schwefelsäure¹⁾ und dem in Form organischer Verbindung, sog. neutralem Schwefel, ausgeschiedenem Schwefel betrug also am 25. 1 : 2,89, am 26. 1 : 2,63. Bildung schwefelhaltiger Substanzen aus dem Glycocoll scheint also nicht stattzufinden.

II. Sarkosin.

Nach den Angaben von Schultzen verhält sich das Methylglycocoll nicht so wie das Glycocoll, es bildet nicht Harnstoff, auch nicht methylirten Harnstoff, sondern eine Säure von der empirischen Zusammensetzung $\text{C}_4 \text{H}_8 \text{N}_2 \text{O}_3$, welche sich beim Erhitzen mit Barytwasser in NH_3 , CO_2 und Sarkosin spaltet, somit nichts anderes als Methylhydantoinensäure ist. Ausserdem sollte sich noch eine zweite schwefelhaltige Säure bilden, die man als Sarkosinsulfaminsäure bezeichnen kann. Dabei sollte der Harnstoff, falls eine genügende Menge Sarkosin verabreicht wurde, gänzlich schwinden.

Die Angaben von Schultzen waren auffallend genug, um zu einer Nachprüfung aufzufordern, doch erfolgte eine solche länger als 2 Jahre hindurch nicht. Ein Fütterungsversuch, den ich in Ende des Jahres 1874 anstellte, hatte nicht den Zweck, die Angaben von Schultzen zu prüfen, er ging vielmehr von der Voraussetzung aus, dass diese Angaben im Wesentlichen richtig seien. Ich hatte umsoweniger Grund, sie von vornherein zu bezweifeln, als ich am Taurin ein ganz analoges Verhalten, die Bildung von Taurincarbaminsäure im Körper gefunden hatte. Der Stoffwechselversuch sollte unter Voraussetzung der Richtigkeit von Schultzen's Angaben die Frage entscheiden, ob die Bildung des Schultzen'schen Sarkosinkörpers auf Kosten von Harnstoff erfolgt oder ob die Ausscheidung dieses unbeeinflusst bleibt und der zum Sarkosin

¹⁾ Die «Schwefelsäure» umfasst hier, wie in meinen früheren Publicationen, stets die an Basen gebundene und die Baumann'schen Aetherschwefelsäuren.

hinzutretende Atomcomplex von neu zerfallendem Eiweiss geliefert wird. Im ersten Fall musste der Harnstoff schwinden, im 2. Fall in der Sarkosinperiode die Stickstoffausscheidung höher sein, als die Summe des Stickstoffs der Normalperiode und des im Sarkosin eingeführten N. Der Erfolg des Versuches zeigte, dass weder das Eine, noch das Andere eintrat, dass somit die Prämisse, die Bildung von Methylhydantoinsäure falsch war.

Die Versuchsanordnung war folgende: Ein kleiner Hund wurde einige Tage mit 200 Cc. Milch und 70 gr. Brod gefüttert, bis die Harnstoffausscheidung einigermaßen constant geworden war. Während des eigentlichen Versuches, der 9 Tage umfasst, erhielt der Hund stets dieselbe Milch und dasselbe Brod, beides in gefrorenem Zustand aufbewahrt. Die 9 Versuchstage zerfallen in 3 Perioden von je 3 Tagen. In der 3. Periode erhielt der Hund 24 gr. Sarkosin, je 8 gr. täglich. Der N- und S Gehalt von Milch und Brod wurde festgestellt. Harn und Faeces wurden gesammelt, der N- und S- Gehalt der Entleerungen einer jeder Periode bestimmt; der Harn wurde zu dem Zweck gleichfalls in gefrorenem Zustand aufbewahrt. Schwefelsäure und neutraler Schwefel wurden im Harn gesondert bestimmt. — Ich stelle zunächst das Endresultat dieses Versuches übersichtlich zusammen:

Tabelle III.

Einnahme in je 3 Tagen.

1) Stickstoff.

In 210 gr. Brod	1,475 gr.
In 600 Cc. Milch (verdünnt)	3,204 gr.
Zusammen	4,679 gr.

2) Schwefel.

In der Milch entsprechend.	1,404 gr. Ba SO ₄
Im Brod	1,161 —
Zusammen	2,565 gr. Ba SO ₄ .

A u s g a b e n.

1) Stickstoff.

	Harn.	Faeces.	Summe.
Periode I	4,056	0,697	4,753
Periode II.	4,062	0,697	4,759
Periode III	7,251	1,247	8,498

2) Schwefel als Ba SO₄.

	Harn.	Faeces.	Summe.
Periode I . . .	1,646	0,691	2,337
Periode II . . .	1,811	0,691	2,502
Periode III . .	1,755	0,832	2,587

Der Hund war also in Periode I und II sehr annähernd im Stickstoff und Schwefelgleichgewicht. Die Darreichung von Sarkosin steigerte den Eiweisszerfall nur sehr unbedeutend: die Schwefelausscheidung ist fast dieselbe wie die Einnahme. Zieht man von der N-Ausscheidung die N-Einnahmen ab, so bleiben 3,818 N, vom Sarkosin herrührend, entsprechend 24,278 gr., gegenüber 24 gr. verfüttertem Sarkosin. — Hatte nun eine erhebliche Bildung von Methylhydantoinsäure oder Methylhydantoin stattgefunden, so musste der Harnstoff abgenommen haben. Die directe Ausfällung als salpetersaurer Harnstoff ergab keine Abnahme (die Zahlen sind mir leider abhanden gekommen).

Eine irgend erhebliche Quantität Methylhydantoinsäure konnte sich also keinen Falls gebildet haben. Indessen versäumte ich natürlich doch nicht, den von den quantitativen Bestimmungen übrig gebliebenen Rest des Harns auf Methylhydantoinsäure zu untersuchen. Der Harn wurde zu dem Zweck mit Bleiessig gefällt, mit Ag₂O von Salzsäure befreit, abfiltrirt, durch H₂S entbleit und entsilbert, eingedampft, mit SO₄H₂ angesäuert und mit 3 bis 4 Liter Aether successiv ausgeschüttelt.

Die ätherischen Auszüge erweisen sich zunächst als schwefelfrei, Bildung der Schultzen'schen Sarkosinsulfaminsäure konnte also nicht stattgefunden haben, wie auch aus den weiter unten mitgetheilten Zahlen für SO₄H₂ und S hervorgeht. Der nach dem Abdestilliren und Verdunsten des Aethers bleibende Rückstand reagirte sauer, roch nach Essigsäure; die saure Reaction verschwand allmählig nach wiederholtem Abdampfen mit Wasser. Aus dem syrupsösen Rückstand krystallisirte Harnstoff aus, ausserdem eine kleine Menge härterer Krystalle, deren Schmelzpunkt ungefähr bei 130° lag. Die Quantität war zu klein, um über ihre Natur

Näheres festzustellen; möglicherweise lag unreines Methylhydantoin vor.

Der wässrige schwefelsäurehaltige Rückstand wurde durch BaCO_3 von SO_4H_2 befreit, dann etwas eingedampft und mit Alkohol extrahirt. Der Rückstand bestand vorwiegend aus unorganischen Salzen, zeigte jedoch süßen Geschmack. Die alkoholische Lösung wurde mit Aether versetzt, wobei eine syrupöse Flüssigkeit ausfiel. Diese hatte intensiv süßen Geschmack, löste CuH_2O_2 zu einer tiefblauen Flüssigkeit, die nach längerem Stehen krystallisirte. Die Analyse ergab, dass es sich um Sarkosinkupferoxyd handelte. 0,252 g. der aus Wasser unkrystallisirten Verbindung gab, in Wasser gelöst, mit einem Tropfen H Cl versetzt und durch $\text{H}_2 \text{S}$ gefällt, nach der Rose'schen Methode $0,0738 \text{ Cu}_2 \text{S} = 23,49 \%$. Die Formel $\text{C}_3 \text{H}_6 \text{NO}_2 + \text{H}_2 \text{O}$ erfordert $23,02 \%$. Aus dem Filtrat von Schwefelkupfer krystallisirte nach der Entfernung der Salzsäure durch Ag_2O etc., beim Einengen Sarkosin heraus, das durch süßen Geschmack und Sublimation festgestellt wurde.

Die Bestimmungen der Schwefelsäure A und des neutralen Schwefels B ergaben für je 100 Cc. Harn:

	A.	B.
Periode I	0,158	0,0615
Periode II	0,165	0,0765
Periode III.	0,155	0,0790

Die Zahlen stehen in Einklang mit der Beobachtung, dass die Aetherauszüge schwefelfrei waren, wenigstens geht daraus hervor, dass eine wesentliche Aenderung des Verhältnisses A : B unter dem Einfluss des Sarkosin's nicht stattfindet.

Es bleibt noch übrig, den scheinbaren Harnstoffgehalt nachzutragen. Die Titrirung mit Quecksilberlösung ergab Harnstoffgehalt:

Periode I.	9,375 gr.
» II.	9,625 »
» III.	16,275 »

Dass die Liebig'sche Methode in diesem Fall nicht den Harnstoffgehalt anzeigt, sondern annähernd den Stickstoffgehalt ist schon früher erörtert.

Was war nun aus dem Sarkosin geworden? Ein Umwandlungsproduct desselben ist nicht aufzufinden, dagegen unverändertes Sarkosin, aber nur in geringer Menge. Die Bunsen'schen Bestimmungen sprechen auch dagegen, dass alles Sarkosin unverändert ausgeschieden ist. Es ergab sich nach derselben abgespaltene CO-Gruppe:

Periode I. 4,368 gr. Periode II. 5,383 gr.

Es lag am nächsten, Uebergang eines Theils des Sarkosins in Harnstoff anzunehmen; in diesem Fall könnte sich wohl Methyl- oder Dimethylharnstoff gebildet haben und der Nachweis des Methyls im Harnstoff hätte also den Schluss wesentlich gestützt. Es wurden daher 50 Cc. des Harns der Versuchsperiode II eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet, stark abgekühlt und mit gleichfalls stark abgekühlter Salpetersäure gefällt, der erhaltene, in der Kälte abgepresste salpetersaure Harnstoff in Harnstoff übergeführt, dieser durch Erhitzen mit Natronkalk im Seegen'schen Kolben zersetzt, das Ammoniak in Salzsäure aufgefangen. Die beim Verdampfen bleibende Salzmasse mit starkem Alkohol ausgezogen. Ganz ebenso wurde mit 50 Cc. aus Periode III verfahren. In beiden Fällen wurde mit dem alkoholischen Auszug schliesslich die Hofmann'sche Isonitrilreaction angestellt: sie fiel bei Periode III ganz unzweifelhaft positiv aus, bei Periode II war kein Isonitrilgeruch wahrzunehmen.

Ein Theil dieser Versuchsergebnisse ist schon in dem Ber. der chem. Ges. Bd. VIII S. 116 mitgetheilt. In demselben Bande S. 584 theilten Baumann und v. Mering das Ergebniss ihrer Versuche mit. Baumann und v. Mering konnten nach dem Eingeben von Sarkosin weder beim Menschen noch beim Hund Methylhydantoinsäure in irgend merklicher Menge nachweisen, dagegen fanden sie im Harn unverändertes Sarkosin in so grosser Menge wieder, dass sie daraus schliessen mussten, das Sarkosin passire den Körper

im Wesentlichen unverändert. Baumann und v. Mering hatten hauptsächlich die Prüfung der Angabe von Schultzen über die Bildung der Methylhydantoinensäure im Auge und haben eine etwaige Harnstoffbildung, die durch qualitative Versuche nicht ermittelt werden kann, nicht in Betracht gezogen. Auch die Möglichkeit, dass der nach Sarkosinfütterung entleerte Harn Methylhydantoin enthält, ist durch die Versuche von Baumann und v. Mering nicht ausgeschlossen. Was die von den Autoren zur Untersuchung auf Methylhydantoinensäure angewendete Methode betrifft, so scheint mir für sehr kleine Mengen der Säure ein Einwand nicht ausgeschlossen. Baumann und v. Mering versetzen die aus dem angesäuerten Harnrückstand durch Ausziehen mit absolutem Alkohol erhaltene Lösung (nach Entfernung der Salzsäure) mit Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction und leiten alsdann Kohlensäure ein zur Entfernung des überschüssigen Baryt. Man hat nun in einer solchen Flüssigkeit stets neben Baryt freies Ammoniak, beim Einleiten von Kohlensäure fällt dann nicht allein der überschüssige Baryt heraus, sondern es wird wohl auch etwa vorhandenes Baryumsalz der gesuchten Säure zersetzt und das Filtrat enthält dann nicht das Baryumsalz, wie die Methode voraussetzt, sondern das Ammoniaksalz. Ich habe daher zur Bildung des Baryumsalzes vorgezogen, nur wenig Barytwasser zu nehmen, sodass Einleiten von Kohlensäure nicht nöthig war oder auch mit kohlensaurem Baryt erwärmt, wenn auch eine vollständige Bindung der Säure an Baryum dadurch nicht zu erreichen ist.

Baumann und v. Mering prüften auch die Angabe von Schultzen, dass bei mit Sarkosin gefütterten Hühnern die Harnsäure verschwindet, konnten sie aber durchaus nicht bestätigen. Der Harn enthielt vielmehr stets Harnsäure in reichlicher Menge. -- Ich habe diesen Versuch gleichfalls wiederholt. Es wurden im Ganzen 16 gr. Sarkosin in 4 Tagen gegeben. Die Harnsäureausscheidung betrug an 2 Normaltagen bei Fütterung mit Gerste 4,01 gr.; an 2 Sarkosintagen 4,85 gr. Inzwischen hat Knieriem gefunden, dass

Glycocoll bei Hühnern in Harnsäure übergeht¹⁾. Die höhere Harnsäure-Ausscheidung an den Sarkosintagen ist wohl gleichfalls auf den Uebergang von Sarkosin in Harnsäure zu beziehen. Die Harnsäure ist der Sicherheit wegen noch durch Elementaranalyse festgestellt.

Ein zweiter Versuch am Hunde sollte vor Allem die Thatsache sicherstellen, dass Harnstoff in vermehrter Menge nach Sarkosinfütterung ausgeschieden wird, nachweisbar durch die Ausfällung mit Salpetersäure und die Bunsen'sche Bestimmung.

Tabelle IV. Zweiter Sarkosinversuch.

Hund von 20 Kilo. 250 Brod, 50 Speck, 50 condensirte Milch.

Datum.	N nach Liebig.	CO-Gruppe nach Bunsen.	N als Ammonsalz.	Schwefelsäure als Ba SO ₄ .	
6/5 75	4,594	4,416	—	—	
7.	4,654	4,342	0,178	—	
8.	4,628	4,420	0,286	1,005	
9.	7,611	6,658	0,232	1,110	25,2gr.Sarkosin=3,965N
10.	5,084	4,822	0,297	0,982	
11.	4,218	3,979	0,174	1,038	

Beim ersten Blick auf die Tabelle fällt sofort eine Erscheinung auf: das Ansteigen der N-Ausscheidung nach Liebig und das zwar nicht ebenso grosse, aber doch sehr beträchtliche Ansteigen des Werthes für CO bei der Bunsen'schen Bestimmung an dem Sarkosintage, sowie dem folgenden Tage.

Die N-Ausscheidung nach Liebig beträgt am 6., 7., 8. und 11. im Ganzen 18,094 gr., das Mittel für 2 Tage 9,047 gr. Am 9. + 10. sind ausgeschieden 12,695 gr.; zieht man davon die normale Ausscheidung ab, so bleiben 3,648 gr. als dem Sarkosin entsprechend. Das eingeführte Sarkosin enthält 3,965 N. Für die Bunsen'sche Bestimmung berechnet sich an 4 Normaltagen 17,157 gr. CO-Gruppe, also für 2 Tage 8,579 gr.; an den beiden Sarkosintagen 11,48 gr. Differenz 2,901. Es ist also jedenfalls an den Sarkosintagen

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. XIII, S. 36.

sehr viel mehr mit NH_2 verbundene CO-Gruppe ausgeschieden, wie an den Normaltagen.

Es fragt sich nun, ob diese Gruppe in Form von Harnstoff oder Uramidosäure ausgeschieden ist. Zur Entscheidung dieser Frage habe ich wieder aus je 50 Cc. den Harnstoff als salpetersauren ausgefällt und nach Ueberführung in Harnstoff titriert. Sehr ungünstig war dafür, dass der Hund dieses Versuches an grosse Quantitäten Wasser gewöhnt und deshalb die Harnmengen sehr gross, der Harn sehr verdünnt war. Dieser Umstand erklärt die niedrigen Zahlen. Der Harn ist in diesem Fall nicht auf ein rundes Volumen gebracht. Aus der Titrirung berechnet sich

7/6	5,30	gr. Ur
8	5,73	»
9	7,62	»
10	6,41	»
11	5,17	»

Die Steigerung an den beiden der Sarkosinfütterung entsprechenden Tagen ist unverkennbar, wenn sich auch weitere Schlüsse nicht ziehen lassen.

Die Steigerung der Harnstoff-Ausscheidung kann nicht auf eine Steigerung des Eiweisszerfalles bezogen werden, denn 1) ist eine solche beim ersten Sarkosinversuch nicht beobachtet worden, 2) weicht das Tagesmittel der Schwefelsäureausscheidung an den Sarkosintagen nur sehr wenig von dem Mittel der beiden Normaltage ab. Ersteres beträgt 1,046 gr., letzteres 1,032 gr. BaSO_4 .

Auch bei diesem Versuch habe ich festzustellen gesucht, ob sich vielleicht substituierter Harnstoff nachweisen lässt. Der qualitative Versuch, ganz in derselben Weise angestellt, wie bei der ersten Versuchsreihe, hatte dasselbe Resultat: auch hier unverkennbare Isonitrilreaction für die Sarkosinperiode, nicht sicher für die Normalperiode. Ich wünschte indessen womöglich Zahlen als Belege für den Methylgehalt zu gewinnen und verfuhr zu dem Zweck folgendermassen.

Aus dem Harn des Sarkosintages und des vorhergehenden Tages wurde Harnstoff möglichst gleichmässig dargestellt durch Fällen des Harns mit BaCl_2 und BaH_2O_2 , Eindampfen, Ausziehen mit Alkohol, Verdunsten des alkoholischen Auszuges, Fällen des stark abgekühlten Rückstandes mit Salpetersäure, Ueberführung in Harnstoff. Der Harnstoff wurde mit Natronkalk geglüht, das Ammoniak in Salzsäure aufgefangen, eingedampft, mit Alkohol extrahiert, der Auszug mit Platinchlorid gefällt; der Platinsalmiak wurde mit chromsaurem Blei und vorgelegtem metallischen Kupfer verbrannt und so sein Kohlenstoffgehalt festgestellt.

Um die Fehler der Methode zu ermitteln, machte ich zuerst einen Versuch mit möglichst reinem Platinsalmiak. Zur Darstellung desselben wurde reinstes käufliches Salmiak fein gepulvert, wiederholt mit Alkohol ausgekocht und abgepresst, alsdann in Wasser gelöst und mit Platinchlorid gefällt.

1) 0,692 g. dieses Platinsalmiak gab 0,129 H_2O und 0,002 CO_2 .

2) 0,900 Harnstoff aus dem Harn vom 8./5 in der beschriebenen Weise verarbeitet, gab 1,466 Platinsalmiak. 0,771 gr. desselben gab 0,145 H_2O und 0,014 CO_2 , die ganze Menge also 0,0266 $\text{CO}_2 = 0,009 \text{CH}_3$ im Harnstoff.

3) 0,900 Harnstoff aus dem Sarkosinharn gab 2,5163 Platinsalmiak (bei dem Ausziehen des Salmiaks mit Alkohol ist hier offenbar etwas mehr in Lösung gegangen, doch ist dieses für den vorliegenden Fall gleichgültig, da auch im ersten Fall der alkoholische Auszug sicher alles Methylamin enthält). 0,850 gr. desselben gab 0,1575 H_2O und 0,0155 CO_2 , also die ganze Menge 0,0459 $\text{CO}_2 = 0,0156 \text{CH}_3$.

Der Versuch hat also die gewünschte Sicherung des Befundes nicht gebracht, da sich auch der aus «normalem Harnstoff» dargestellte Platinsalmiak kohlenstoffhaltig¹⁾ erwies.

¹⁾ Baumann und v. Mering haben schon angegeben, dass Harn beim Kochen mit Aetzbaryt eine primäre Aminbase giebt; in der That scheint der Harnstoff auch in der Norm etwas substituirten Harnstoff zu enthalten. Sammelt man die Mutterlaugen aus grösserer Menge Harn von Fleischfütterung nach dem Auskrystallisiren des Harnstoffs, fällt sie mit Salpetersäure und führt diesen salpetersauren Harnstoff in Ammonsalz über, so giebt dieses Isonitrilreaction.

Trotzdem ist nach dem Ausfall der qualitativen Reactionen nicht zu zweifeln, dass der aus dem Sarkosin entstehende Harnstoff zum Theil Methyl- oder Dimethylharnstoff ist. Der höhere Kohlenstoffgehalt unterstützt wenigstens diesen aus den Reactionen gezogenen Schluss.

Durch die beiden Versuchsreihen war nun aber noch immer nicht die Frage erledigt, ob sich nicht vielleicht in dem nach Sarkosinfütterung entleerten Harn Methylhydantoin findet. Diese Frage habe ich versucht, durch eine dritte Versuchsreihe zu lösen. Die Tabelle, welche die gefundenen Werthe enthält, wird ohne Weiteres verständlich sein. Die 4. Columne bedeutet den bei den Bunsen'schen Bestimmungen in Form von Ammoniak abgespaltenen Stickstoff; es ist hiezu stets ein besonderes Rohr verwendet. Die Alkaleszenzabnahme bei den Bunsen'schen Bestimmungen ist für den ganzen Harn berechnet. Statt der Schwefelsäure habe ich es dieses Mal vorgezogen, den Gesamtschwefel zu bestimmen.

Tabelle V. Dritter Sarkosinversuch.

Hund von 16 Kilo Körpergewicht. 150 gr. Brod, 75 gr. Speck, 50 gr. condensirte Milch pro Tag.

Datum	N nach Seegen.	Bunsen'sche Bestimmungen.			S	Bemerkungen
		CO	N	Alkaleszenz- Abnahme Cc. Normal- lauge.		
18.6	—	3,232	3,060	—	—	
19.	2,70	2,503	2,450	13,33	0,1275	
20.	2,820	2,646	2,500	23,30	0,1253	
21.	2,625	2,563	2,490	22,66	0,1373	
22.	4,438	3,727	3,444	47,08	0,1491	22,0 gr. Sarko- sin.
23.	2,160	2,010	1,950	21,33	0,0827	
24.	2,400	verloren	2,330	24,66	0,1168	

Eine genauere Betrachtung der Tabelle zeigt Folgendes:

1) Die Gesamtstickstoffausscheidung nach Seegen ist am Sarkosintage erheblich gesteigert;

2) Die Frage, inwieweit die Mehrausscheidung von N auf unverändertes Sarkosin zu beziehen ist, wird durch Columne 2 beantwortet, welche die Quantität der mit 2 Amidgruppen (seien es einfache oder zusammengesetzte) verbundenen CO-Gruppe angiebt. Die Quantität dieser Gruppe ist

stets etwas geringer, als die Gesamt-N-Menge nach Seegen. Die Differenz zwischen den beiden Werthen beträgt

19.	0,170
20.	0,174
21.	0,062
22.	0,711
23.	0,064

Diese Zusammenstellung zeigt ohne Weiteres, dass der Harn vom 22. in grösserer Menge, als der Normalharn eine Substanz enthält, welche nicht Harnstoff und nicht Uramidösäure ist, also unverändertes Sarkosin.

3) Die Zahl für die CO-Gruppe zeigt aber andererseits am 22. gegenüber den Normaltagen eine sehr ansehnliche Steigerung, welche wir auf das Sarkosin beziehen müssen, falls sie nicht etwa von einer Steigerung des Eiweisszerfalles abhängt.

4) Ob eine solche besteht, darüber geben die Zahlen für die Schwefelausscheidung Aufschluss. Dieselbe ist am Sarkosintage allerdings höher, dieses Plus wird aber am nächsten Tage wieder eingeholt, sodass das Mittel von $22 + 23 = 0,1159$ gr. noch etwas unter dem Mittel der andern Tage liegt $= 0,1267$ gr. Dass derartige Störungen der Schwefelsäure und Schwefelausscheidung öfters vorkommen, habe ich schon erörtert. Wollte man aber auch eine Vermehrung des Eiweisszerfalles von Sarkosintage annehmen, so ist sie nicht entsprechend der Vermehrung der CO-Gruppe. Berechnet man das Verhältniss von S : CO, so erhält man

Den 19.	1 : 19,6
20.	1 : 21,1
21.	1 : 18,7
22.	1 : 25,0
23.	1 : 25,3
24.	1 : 20,5

Diese Verhältnisszahlen zeigen die unzweifelhafte Vermehrung der CO-Gruppe unabhängig von der S-Ausscheidung, also vom Eiweisszerfall.

5) Es fragt sich endlich noch: ist die CO-Gruppe in

Form von Harnstoff oder in Form von Uramidosäure (Methylhydantoinensäure oder Methylhydantoin) oder in beiden Formen ausgeschieden? Zur Beurtheilung dieser Frage dient das Verhältniss von CO zu dem als NH_3 abgespaltenen N. In Procenten des CO betrug der Stickstoff:

Am 18.	95,0 %
19.	97,9 »
20.	94,5 »
21.	97,1 »
22.	92,3 »
23.	97,0 »

In der Relation des Ammoniaks zur Kohlensäure zeigt sich also allerdings eine Veränderung, welche für einen Gehalt des Harns an Uramidosäure spricht. Es ist nun noch eine zweite Thatsache, welche darauf hinweist, dass der Harn Methylhydantoin enthielt. Das ist die Abnahme der Alkaleszenz. Für die ganze Harnmenge berechnet, beträgt die Alkaleszenzabnahme bei den Bunsen'schen Bestimmungen 22 bis 23 Cc. Normallauge pro Tag, am Sarkosintage dagegen 47 Cc. Wir können also ungefähr 24 Cc. als Effect des Sarkosins annehmen. Aus den früher angegebenen Umsetzungsgleichungen lässt sich nun leicht berechnen, wie gross der Gehalt an Methylhydantoinensäure sein müsste, um diese Abnahme zu bewirken. Der Harn des 22. würde danach 2,736 gr. Methylhydantoin enthalten. Diese würden liefern 0,672 CO in Form von CO_2 und 0,336 N in Form von NH_3 . Die Differenz zwischen CO und N müsste somit 0,336 betragen oder noch etwas mehr, da auch an den Normaltagen diese Zahlen nicht ganz zusammenfallen. Die Differenz ist allerdings geringer, nämlich nur 0,273. Ich will auf die ganze Rechnung keinen besonderen Werth legen, aber man wird anerkennen müssen, dass die beiden Thatsachen: die relative Abnahme des NH_3 gegenüber der CO_2 und die stärkere Abnahme der Alkaleszenz für die Auffassung sprechen, dass sich neben dem Harnstoff auch etwas Methylhydantoin aus dem Sarkosin gebildet habe, ohne indessen die Methylhydantoinbildung damit zu beweisen, da hiezu die Differenzen zu klein sind und ja

auch das Sarkosin selbst bei der Bunsen'schen Bestimmung nicht ganz unangegriffen bleibt ¹⁾).

Wenn wir also das Verhalten der beiden Amidosäuren bei Hunden in zwei Sätzen zusammenfassen sollten, so würden diese lauten:

1) Das Glycocoll geht zum grösseren Theil in Harnstoff über, ein kleinerer Theil wird unverändert ausgeschieden.

2) Das Sarcosin verhält sich im Wesentlichen gleich, nur ist der unverändert ausgeschiedene Antheil etwas grösser. Neben dem Harnstoff scheint aus dem Sarkosin auch etwas Methylhydantoin zu entstehen, mit aller Bestimmtheit hat sich der Nachweis dafür nicht führen lassen.

B) Versuche an Kaninchen.

Für die Versuche an Kaninchen ist neben den andern Bestimmungen durchweg die erweiterte Bunsen'schen Methode zu Grunde gelegt. Es fragt sich also zunächst, wieweit der Harn der Kaninchen der Zersetzungsgleichung für Harnstoff entspricht, wie sich das Verhältniss zwischen CO_2 und NH_3 gestaltet und wie gross die Abnahme der Alkaleszenz ist. Für den Hundeharn habe ich diese Frage nicht besonders erörtert, da die Beantwortung schon in den Controlversuchen liegt, in denen Hundeharn angewendet ist, sowie in den Zahlen der dritten Sarkosinversuchsreihe. Bei Fleischfütterung erreichte der Stickstoff fast den Werth von CO, bei Fütterung mit dem Gemisch von Brod, Milch und Speck blieb der Stickstoff etwas mehr hinter dem CO zurück; freilich ist dabei immer das Ammoniak der präformirten Ammonsalze schon mithinzugerechnet, da es bei der Bestimmung miterhalten wird. Die Berechtigung dazu liegt in der Abhängigkeit des Ammoniaks von den Aciditätsverhältnissen. Jedenfalls enthält der Hundeharn neben Harnstoff auch Substanzen, welche nur CO_2 liefern, und kein Ammoniak oder wenigstens solche, welche mehr Kohlensäure bilden als dem abgespaltenen Ammoniak äquivalent ist.

¹⁾ Auch stützt sich die Zahl für CO_2 leider nur auf eine Bestimmung, die 2. ging verloren.

Weit weniger übereinstimmend sind die Werthe für die bei der Bunsen'schen Bestimmung als CO_2 abgespaltene CO-Gruppe und als NH_3 abgespaltenes N beim Kaninchenharn. Das Verhältniss schwankt sogar bei ein und demselben Thier in den Harnen der einzelnen Perioden. In dem (sogleich mitzutheilenden) Glycocollversuch betrug N ausgedrückt in Procenten von CO-Gruppe:

In Periode	I	82,3 %	
»	»	II	86,3 %
»	»	IV	72,4 % (!)
»	»	VII	82,6 %

Aehnlich sind die Verhältnisse in den andern Versuchen. Es liegt auf der Hand, dass die Möglichkeit der Schlussfolgerung dadurch erhebliche Einschränkungen erfährt. —

Die Zahlen für die CO-Gruppe übertreffen nun aber nicht allein diejenige für das abgespaltene Ammoniak, sondern auch, wenigstens sehr häufig, die des Gesamt-N nach Seegen. Daraus geht hervor, dass der Harn von Kaninchen Substanzen enthält, welche mehr Kohlensäure liefern, als dem Verhältniss von CO_2 zu 2 N entspricht. Diese Substanzen können also auch nicht Uramidosäuren sein, denn der Stickstoff dieser würde ja in der Gesamtstickstoffbestimmung vollständig erscheinen. Es ist sehr wohl denkbar, dass diese CO_2 von einem N-freien, vielleicht Kohlehydrat-artigen Körper abstammt.

Auch die Abnahme der Alkaleszenz ist durchschnittlich grösser, wie beim Hundeharn, was zum Theil mit dem Ueberwiegen der Kohlensäurebildung im Harn zusammenhängt, und stark wechselnd, sodass ich von einer Verwerthung dieses Factors im Allgemeinen habe absehen müssen. Im Maximum betrug die Alkaleszenzabnahme für 7,5 Cc. Harn 5,9 Cc. $\frac{1}{10}$ Lauge, doch ist dieser Fall nur einmal beobachtet und sehr oft war die Abnahme nicht grösser, wie etwa 3 Cc. $\frac{1}{10}$ Lauge. Einige derartige Bestimmungen sind in meinen frühern Arbeiten angeführt; sie ergaben: 3,3; 3,1; 2,9; 3,1; 4,3 Cc. $\frac{1}{10}$ Lauge Abnahme für 15 Cc. der Harnbarytmischung (= 7,5 Cc. Harn). Einige neuere Versuche

ergaben ähnliche, sogar noch etwas niedrigere Werthe: 2,9; 2,65; 2,3; 2,8; 2,5 Cc. Ich habe mich vergeblich bemüht, die Ursachen dieser Abweichungen, der hohen CO_2 -Bildung und stärkere Alkaleszenzabnahme zu eruiren und namentlich durch Fällungsmittel die störenden Substanzen zu beseitigen. Die Versuche können, da sie keinen Erfolg hatten, hier übergangen werden.

I. Das Verhalten des Glycocoll.

Tabelle VI. Kaninchen von 2800 gr. 180 gr. Kartoffeln pro Tag.

Perioden von 4 Tagen.	N nach Seegen,	Bunsen'sche Bestimmungen.		S-Ausscheidung	Bemerkungen.
		CO	N		
I.	—	—	2,200	0,1517	
II.	—	2,067	1,710	0,1504	
III.	4,065	3,028	2,500 2,420	2,460 0,1202	11,490 Glycocoll.
IV.	2,010	2,214	1,875 1,905	1,89 0,1717	
V.	4,200	4,162	3,700 3,750 3,640	3,697 0,1634	14,219 Glycocoll.
VI.	1,575	2,003	1,450	0,1538	
VII.	—	2,331	1,925	—	

Das Glycocoll wurde auf alle 4 Tage jeder Periode gleichmässig vertheilt. An einigen Tagen sind die präformirten Ammonsalze des Harns nach der Methode von Schmiedeberg bestimmt: die Werthe dafür liegen durchweg fast innerhalb der Beobachtungsfehler. Als NH_3 berechnet, ergibt sich für

- Periode II 0,0106 NH_3
- » III nicht bestimmbar
- » V 0,0127
- » VI 0,0255

Die Folgerungen aus der Tabelle ergeben sich leicht. 1) In den beiden der Glycocollfütterung entsprechenden Perioden finden wir eine beträchtliche Zunahme des Gesamtstickstoffs, welche zeigt, dass das Glycocoll resorbirt und ausgeschieden ist. Dass die N-Vermehrung nicht von Steigerung des Eiweisszerfalles herrührt, ergeben die Zahlen für die Gesamtschwefelausscheidung.

2) Was die Form betrifft, in welcher das Glycocoll ausgeschieden ist, so zeigt sich in den beiden Perioden eine auffällige Differenz, trotzdem die Versuchsbedingungen durchaus gleichmässig waren. In Periode V erreicht der Werth von CO fast den des Gesamt-N — es ist also sicher der grösste Theil des Glycocolls in Form von Harnstoff oder Uramidosäure ausgeschieden, — in Periode III bleibt er dagegen erheblich dahinter zurück, es ist also ein grosser Theil des Glycocolls unverändert ausgeschieden. Im Ganzen beträgt die Menge der in Form von CO₂ aufgetretenen CO-Gruppe (unter der Reserve, dass nicht alle CO₂ aus der Gruppe CO N H₂ stammt) in den 4 Normalperioden 8,615 gr., also für 8 Tage 4,308 gr. In den beiden Glycocollperioden ist ausgeschieden 7,109 gr., somit kommen 2,892 auf Rechnung des Glycocolls.

3) Für die Frage, ob das Glycocoll als Harnstoff oder Uramidosäure ausgeschieden ist, resp. ob diese letztere neben Harnstoff anzunehmen sei, ist aus den oben erörterten Gründen die Relation zwischen CO und N nach Bunsen weniger zu verwerthen. Die in Form aus NH₃ abgespaltene Quantität N beträgt in den 4 Normalperioden 6,975. CO: N = 100: 80,9. In den beiden Glycocollperioden berechnet sich CO: N = 100: 88,2. Es liegt danach kein Grund vor, Hydantoinensäure anzunehmen, das Ergebniss der Berechnung stimmt vielmehr vollständig zu der Annahme, dass das Glycocoll in Harnstoff übergegangen sei. In diesem Fall muss nämlich offenbar das NH₃ gegenüber dem CO₂ anwachsen, weil sich nun zu dem Harn ein Körper addirt, welcher CO und N in dem Verhältniss von 100¹: 100 liefert; auch dieses Factum, nämlich das relative Ansteigen des NH₃ gegenüber der CO₂ zeigt, dass die Harnstoffvermehrung nicht von einer Steigerung des Eiweisszerfalles herrührt. Sehr eclatant ist auch das Verhalten der Harnne nach dem Abdampfen beim Zusatz der Salpetersäure. Der Harn von Periode V erstarrte sofort zu einem Brei von salpetersaurem Harnstoff, weniger reichlich war die Ausscheidung bei Periode III, dagegen trat sie bei dem Normalharn nur lang-

sam und spärlich ein. Die Unterschiede waren so augenfällig, dass mir genauere Bestimmungen überflüssig erschienen.

Schliesslich sei noch die Relation zwischen S und dem bei der Bunsen'schen Bestimmung abspaltbaren N angeführt; sie betrug in 4 Normalperioden im Mittel 1 : 11,5; in den beiden Glycocollperioden dagegen 1 : 21,6. Die relative Steigerung des Harnstoffes ist auch danach ausser allem Zweifel.

Der Nachweis des unverändert ausgeschiedenen Glycocoll gelang sehr leicht. Der Harn wurde mit Bleiessig gefällt, das Filtrat entbleit, eingedampft, die Essigsäure durch Aufgiessen von Wasser und mehrmaliges Verdampfen möglichst entfernt. Beim Kochen des Rückstandes mit Wasser und Kupferhydroxyd löst sich dieses reichlich mit tiefblauer Farbe auf, beim Erkalten schied sich massenhaft Glycocollkupfer ab. Auch in dem Harn der Periode V gelang der Nachweis unveränderten Glycocolls nach vorgängiger Fällung mit absolutem Alkohol. Das aus diesem Harn (Per. 5) dargestellte, einmal aus Wasser umkrystallisirte Glycocollkupfer gab folgende Zahlen:

0,2745 gr. lufttrocken verlor 0,0200 gr. = 7,3 % ber. 7,8 %. 0,2545 gr. wasserfrei gab 0,0965 Cu_2S = 37,9 % ber. 37,6 %. Ueber die Versuche, in dem Harn nach Glycocollfütterung Hydantoinensäure nachzuweisen, soll bei dieser berichtet werden.

II. Das Verhalten des Sarkosins beim Kaninchen.

Es mag hier zunächst ein Versuch berichtet werden, welcher auf den qualitativen Nachweis von Methylhydantoinensäure abzielt, sowie auf die Frage, ob sich schwefelhaltige Substanzen in vermehrter Menge nach Sarkosinfütterung im Harn nachweisen lassen.

Das Kaninchen (2500 gr. Körpergewicht) erhielt täglich 150 gr. Kartoffeln und 30 gr. Wasser mittelst Schlundsonde. Der Harn wurde dieses Mal in der Art gesammelt, dass die Periode dann abgeschlossen wurde, wenn eine ausgiebige Harnentleerung beobachtet war, ohne Rücksicht auf das Datum und die Stundenzahl.

Die erste Periode umfasst 75 Stunden. Der Harn auf 300 Cc., 100 Cc. gaben 0,2243 BaSO₄, also 100 Stunden 0,898 gr.

Zweite Periode: 100 Stunden. Harn auf 540 Cc. 100 Cc. gaben 0,261 BaSO₄, also Gesamtmenge 1,044 gr. Das Filtrat von BaSO₄ mit Soda und Salpeter verbrannt zur Schwefelbestimmung. Erhalten 0,085 BaSO₄, im Ganzen also 0,340 gr. Verhältniss von neutralen S zu S der Schwefelsäure 1 : 3,07.

Dritte Periode: 90 Stunden. Während derselben 9,5 gr. Sarkosin. Harn auf 500 Cc. 100 Cc. gaben 0,2015 Ba SO₄ direct und 0,070 im Filtrat. Daraus berechnet sich für 100 Stunden : 0,895 Ba SO₄ direct (A) 0,311 im Filtrat (B), also B : A = 1 : 2,88. Dieses Verhältniss liegt dem in Periode II so nahe, dass man die Bildung schwefelhaltiger Substanzen (Sarkosinsulfaminsäure) ausschliessen kann. Die Untersuchung auf Methylhydantoinsäure fiel negativ aus. Die Aetherauszüge erweisen sich auch als schwefelfrei.

Tabelle VII. Sarkosinversuch am Kaninchen. 2640 gr. Körpergewicht.

Periode.	N nach Seegen	Bunsen'sche Bestimmung.		S	Bemerkungen.
		CO-Gruppe	N		
I. 3 Tage	2,304	2,276	2,136	0,2175	Pro Tag 180 gr. Kartoffeln, in
II. 4 Tage	1,583	1,602	—	0,1971	Per. IV jedoch nur 490 gr.
III. do.	1,431	1,382	1,120	0,1476	gefressen.
IV. do.	3,357	3,279	2,863	0,1916	11,628 Sarkosin = 1,828 N.

Ammonsalz war in Per. II nicht bestimmbar, innerhalb der Fehlergrenzen (Bestimmung nach Schmiedeberg); in Per. II 0,0319 NH₃.

Bezüglich der Ableitung des Resultates aus den Versuchszahlen kann ich mich an dieser Stelle kurz fassen. Die Deductionen entsprechen genau denen der Glycocollreihe. Es leuchtet ohne Weiteres ein, dass der bei Weitem grösste Theil des Sarkosins in Form von Harnstoff ausgeschieden ist. In der That entstand auch, als zu dem Abdampfungsrückstand von 50 Cc. Harn der Per. IV Salpetersäure hinzugesetzt wurde, eine reichliche Krystallisation von

salpetersaurem Harnstoff, während der Harn der Normalperioden nur sehr wenig davon lieferte. Dass dieser Harnstoff nicht von vermehrtem Eiweisszerfall herrührt, zeigt die Schwefelausscheidung. Das Verhältniss von S : CO berechnet sich im Mittel an den Normaltagen = 1 : 9,4, für die Sarkosinperiode dagegen 1 : 17,1.

N : CO ist in der Normalperiode = 89 : 100 (also N relativ mehr, als im Glycocollversuch), in der Sarkosinperiode 87 : 100. Nach dem beim Glycocoll Erörterten ist eigentlich eine relative Zunahme des N zu erwarten, wenn der zugeführte Körper nur Harnstoff bildet; diese Thatsache spricht also für Bildung von Uramidosäure, doch lässt sich dieser Schluss nicht bestimmt ziehen; dafür ist die Differenz zu gering. Der directe Nachweis von Methylhydantoinensäure gelang nicht.

Ebensowenig gelang es aber auch, Sarkosin im Harn nachzuweisen: es gingen nur Spuren von Kupferoxyd in Lösung, sodass also die Umsetzung des Sarkosins beim Kaninchen noch vollständiger zu sein scheint; wie die des Glycocolls.

Verhalten des Alanins beim Kaninchen.

Tabelle VIII. Alanin und Hydantoinensäure.

Periode.	N nach Seegen.	Bunsen'sche Bestimmung.		S	S : Ge- sammt-N.	Bemerkungen.
		CO	N			
I. 4 Tage	1,470 1,4525) 1,461	1,683	1,272	0,1243	1 : 11,7	
II. do.	1,117	1,371	1,093	0,0839	1 : 13,4	
III. do.	4,256	3,921	3,547	0,1312	1 : 27,0 ¹⁾	21,039 Alanin = 3,309 N.
IV. do.	1,540	1,711	1,420	0,1456	1 : 10,7	
V. do.	1,470	1,554	1,297	0,1325	1 : 11,1	
VI. 3 Tage	—	2,841	1,932	0,1487	—	

Betrachten wir zunächst die Verhältnisse des Alanin, so leuchtet ohne Weiteres ein, dass dasselbe resorbirt und zum grössten Theil als Harnstoff ausgeschieden ist. Das ergibt das Ansteigen der Gesamt-N-Ausscheidung, der CO-Gruppe

¹⁾ Für diese Periode ist nicht der Gesamt-N zu Grunde gelegt, sondern nur das bei der Bunsen'sche Bestimmung abgespaltene NH₃. Für Periode III. ist noch das im Harn präformirte Ammoniak nach Schmiedeberg bestimmt. Es berechnet sich 0,0566 NH₃ im ganzen Harn.

und des bei der Bunsen'schen Bestimmung abgespaltenen NH_3 ohne wesentliche Steigerung der Schwefelausscheidung, also mit erheblicher Aenderung der Relation S zu N. Während aber an den Normaltagen die Zahl für CO die für N übersteigt, ist umgekehrt in der Alaninperiode diese letztere höher. Daraus folgt, dass ein Theil des Alanin unverändert ausgeschieden ist.

Die Gesamt-N-Ausscheidung beträgt an den Normaltagen (Periode I, II, IV und V) 5,588 gr.; für CO ist erhalten 6,319 gr., somit CO 113 % der Gesamt-Ausscheidung, in der Alaninperiode ist dagegen CO nur 92,1 %. Man kann danach die Quantität des unverändert ausgeschiedenen Alanins auf $\frac{1}{7}$ bis $\frac{1}{6}$ des eingegebenen veranschlagen, doch will ich auf diese Rechnung keinen besondern Werth legen, da die Differenzen zwischen N und CO ziemlich starke Schwankungen zeigen. Dass aber die Menge des Alanins nicht ganz unerheblich war, zeigte der süsse Geschmack des Harns und die Leichtigkeit, mit der sich Alanin isoliren liess.

100 Cc. des Harns wurden zu dem Zweck mit bas. Bleiacetat gefällt und entbleit; aus dem eingeeengten Filtrat krystallisirte nach einigem Stehen über SO_4H_2 Alanin in glashellen Krystallen mit etwas Salzen vermisch aus. Beim Kochen mit Kupferoxydhydrat entstand eine tiefblaue Lösung, die alsbald krystallisirte.

Eingedampft und mit Salpetersäure versetzt, erstarrte der Harn sofort zu einem dicken Brei aus salpetersaurem Harnstoff, während der Harn der Normalperioden das gewöhnliche Verhalten zeigte.

Für die Frage, ob neben dem Harnstoff noch Uramido-säure vorhanden war, sind die Verhältnisszahlen zwischen CO_2 und NH_3 aus der Bunsen'schen Bestimmung aus den angeführten Gründen weniger brauchbar, wie beim Hundeharn. Jedenfalls aber geben die vorliegenden Zahlen keine Veranlassung, die Bildung von Lacturaminsäure anzunehmen. An den 16 Normaltagen berechnet sich nämlich N zu 80,4 % des CO, in der Alaninperiode zu 90,0 % des CO. Die directe Untersuchung des Harns in dieser Richtung fiel negativ aus.

Es wurden nur Spuren eines in absolutem Alkohol unlöslichen Baryumsalzes erhalten.

Das beim Alanin erhaltene Resultat ist noch in anderer Beziehung von einer gewissen Bedeutung für die Theorie der Harnstoffbildung. In diesem Falle beträgt nämlich die Harnstoffvermehrung ohne Aenderung des Eiweisszerfalles mehr als das Doppelte gegenüber den Normalperioden. Ich habe früher ausgeführt, dass eine Steigerung auf mehr als das Doppelte ohne vermehrten Eiweisszerfall nach Einführung von Ammonsalz durch die Cyansäuretheorie nicht mehr erklärt werden könnte. (Die Versuche mit Ammonsalzen, auch essigsaueren Ammon in dieser Richtung sind jedoch erfolglos geblieben). Lässt sich nun nachweisen, dass die Uramidosäuren zuerst durch Oxydation in Ammonsalze übergehen¹⁾, und dann in Harnstoff, so würde also auch dieses Verhalten des Alanins ein sehr gewichtiges Argument gegen die Cyansäuretheorie darstellen. Ausser diesem Wege des Ueberganges der Amidosäure in Harnstoff ist nun zunächst noch ein anderer denkbar. Man kann sich vorstellen, dass alle Amidosäuren sich gleichmässig verhalten, alle zuerst Uramidosäure bilden, diese aber, je nach der Natur der Uramidosäure eine verschiedene Resistenz hat, bald sich unverändert erhält, bald in Harnstoff übergeht. Diese Voraussetzung lässt sich direct durch Versuche prüfen.

Für die Uramidosäthionsäure habe ich schon früher gezeigt, dass sie, fertig eingegeben, den Körper des Kaninchens unverändert passirt, wenn es auch nicht gelang, die ganze Menge wiederzufinden. Wie verhält sich nun die Hydantoin-säure als Natronsälz eingegeben? Wird sie unverändert ausgeschieden oder geht sie in Harnstoff über? Zur Entscheidung dieser Frage erhielt das Kaninchen in Per. VI an drei Tagen im Ganzen 5,757 gr. Hydantoin-säure als Natriumsälz. Aus dem Harn konnte nach dem oben angegebenen Versuche Hydantoin-säure in gut ausgebildeten Krystallen erhalten werden. Das Silbersälz, durch Kochen der Säure mit Ag_2O und Wasser erhalten, krystallisirte in warzigen Krystallaggre-

¹⁾ Z.B: $\text{CH}_3 \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH} + \text{O}_2 = \text{CO}_2 + \text{CH}_3 \cdot \text{COO NH}_2$.

gaten, genau so, wie eine Probe des zur Vergleichung dargestellten hydantoinsäuren Silber.

0,2002 gr. des Silbersalzes über $\text{SO}_4 \text{H}_2$ getrocknet, dann bei $100-110^\circ$ (wobei kaum merkliche Abnahme stattfand) hinterliess beim Glühen $0,0962 \text{ Ag} = 48,05\%$, verlangt 48,00.

Für die Frage, wieviel der Hydantoinsäure unverändert ausgeschieden ist, geben die quantitativen Bestimmungen Anhaltspunkte. Die verfütterten 5,757 gr. Hydantoinsäure enthalten 0,683 gr. in Form von NH_3 abspaltbaren N und 1,366 in Form von CO_2 abspaltbare Gruppe CO. Addirt man diese Zahlen zu denen der Periode V (man kann die Harnstoffausscheidung aus dem Eiweiss mit Rücksicht auf die S-Ausscheidung für Periode V und VI gleichsetzen), so erhält man $1,554+1,366 = 2,920 \text{ CO}$ und $1,297+0,683 = 1,980 \text{ N}$. Diese Zahlen kommen, wie man sieht, den wirklich gefundenen sehr nahe und man könnte daraus wohl eine im Wesentlichen unveränderte Ausscheidung der Hydantoinsäure ableiten. Leider stimmt damit aber die Gesamt-N-Bestimmung durchaus nicht überein, die nur 2,282 N ergab, während die Zahl nicht erheblich von der für die CO-Gruppe abweichen dürfte. Es bleibt hier also eine Unklarheit bestehen, die durch weitere Versuche beseitigt werden muss.

Findet die Bildung von Harnstoff aus Glycocoll durch die Hydantoinsäure hindurch statt, so dürfte man Reste dieser Säure in dem bei Glycocollfütterung entleerten Harn erwarten. In der That konnte auch aus solchem Harn eine ansehnliche Menge eines in Alkohol unlöslichen Barytsalzes erhalten werden, allein die daraus durch vorsichtige Ausfällung mit $\text{SO}_4 \text{H}_2$ erhaltene syrupöse, stark saure Flüssigkeit konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden. Im Ganzen ist also das Verhalten der Amidosäuren beim Kaninchen dasselbe wie beim Hunde: sie gehen in Harnstoff über, ein wechselnder kleinerer Theil wird unverändert ausgeschieden. Zwischen dem Verhalten des Glycocoll und Sarkosin zeigt sich hier noch weniger Unterschied, wie beim Hund. Bei der Uebereinstimmung in dem Verhalten bei Fleischfresser und

Pflanzenfresser kann man wohl mit Bestimmtheit sagen, dass auch der menschliche Organismus im Stande sein wird, die Amidosäuren in Harnstoff überzuführen.

Für die Frage, inwieweit die Amidosäuren bei dem normalen Ablauf der Stoffwechselforgänge Vorstufen des Harnstoffes darstellen, ist natürlich durch den Nachweis, dass eingegebene Amidosäuren in Harnstoff übergehen, nichts ausgesagt. Findet es sich, dass der Harn bei Glycocollfütterung ausser Harnstoff noch andere Körper enthält, so ist damit vielleicht ein Weg zur Beantwortung dieser Frage eröffnet.

Analytische Belege.

Zu Tab. I u. II.

Der Harn ist stets auf 400 Cc. verdünnt. Zur Bunsen'schen Bestimmung dienen, wie gewöhnlich, 7,5 Cc. Die Zahlen für $BaSO_4$ aus $SO_4 H_2$ glaube ich übergehen zu können.

Tabelle I. Erster Glycocollversuch am Hund.

Datum	Spec. Gew.	Bunsen'sche Bestimmung.		N nach Liebig Cc. Quecksilber für 10 Cc. Harn.	N nach Seegen. 5 Cc. Harn brauchen $\frac{1}{10}$ Säure.
		Ba CO_3	Ba SO_4		
3.	1,0145	—	0,526	17,4	
4.	1,0135	0,172	0,247	16,4	
5.	1,020	0,5235	0,184	30,42	
6.	1,0145	0,310	0,120	19,44	
7.	1,0145	0,264	0,178	17,43	

Tabelle II. Zweiter Glycocollversuch am Hund.

22.	1013	—	—	—	22,5
23.	1014	0,4465	0,1750	—	22,6
24.	1012,5	0,5195	0,019	—	20,7
25.	1013,5	0,4735	0,170	—	22,9
26.	1019	a. 0,739	0,267	• —	36,1 im Kolben.
		b. 0,815	0,151	—	37,2 im Rohr.
27.	?	0,3850	0,2185	—	—

Tabelle III. Erster Sarkosinversuch am Hund.

1) Brod : 2,061 gr. = 1,355 Trockensubstanz. 1,1079 trocken mit Natronkalk braucht 5,97 Cc. Ag-Lösung (1 Cc. = 0,01 NaCl). 1,100 gr. braucht 5,88 Cc. = 1,28 % N. — 12,357 gr. trocken geben mit KNO_3 und Na_2CO_3 etc. 0,1245 $BaSO_4$.

2) Milch: 5 Cc. brauchen 11,15 Ag-Lösung = 0,524 % N. 100 Cc. gaben mit Soda und Salpeter etc. 0,234 Ba SO₄.

3) Harn aus Periode I = 750 Cc. 1) 5 Cc. mit Natronkalk im Rohr 11,3 Ag-Lösung = 0,5408 % N; 2) S 100 Cc. gaben 0,158 Ba SO₄ direct; 0,0615 Ba SO₄ im Filtrat; 3) NH₃ 25 Cc. brauchen nach Schlösing 0,40 Normalschwefelsäure; 4) Ur. 10 Cc. brauchen 12,5 Quecksilberlösung.

4) Harn von Periode II = 750 Cc. 1) N-Bestimmung im Rohr 5 Cc. = 11,58 Cc. Ag-Lösung; 2) S 100 Cc. gaben 0,165 Ba SO₄ direct 0,0765 im Filtrat; 3) NH₃ 25 Cc. = 0,35 Normalsäure; 4) Liebig 10 Cc. erfordern 13,1 Quecksilberlösung; 5) Bunsen 10 Cc. gaben 0,323 Ba CO₃ und 0,1255 Ba SO₄.

5) Harn von Periode III = 750 Cc.: 1) N im Rohr 5 Cc. = 20,2 Cc. Ag-Lösung; 2) S 100 Cc. gaben 0,155 Ba SO₄ direct 0,079 im Filtrat; 3) NH₃ 25 Cc. = 0,55 Normalsäure; 4) Liebig 10 Cc. erfordern 20,9 Cc. Quecksilberlösung; 5) Bunsen 10 Cc. gab 0,5095 Ba CO₃ und 0,116 Ba SO₄.

6) Faeces von Periode I und II: (Abgrenzung durch Knochen) = 34,1 gr. trocken: 1) N 0,625 gr. braucht 10,6 Ag-Lösung; 2) S 5,055 gr. gab 0,205 Ba SO₄.

7) Faeces + etwas Erbrochenem von Per. III 30,0 gr. trocken; 1) N 0,541 gr. erfordert 9,4 Cc. Ag-Lösung; 2) S 6,530 gr. gab 0,181 Ba SO₄.

Tabelle IV. Zweiter Sarkosinversuch am Hunde.

Datum	Harn- menge	Specif. Gew.	10 Cc. erfordern Quecksilber- lösung in Cc. (corrigirt).	Bunsen'sche Be- stimmung in 7,5 Cc.		NH ₃ 25 Cc. erfordern 1/10 Säure.	SO ₄ H ₂ Ba SO ₄ aus 100 Cc.
				Ba CO ₃	Ba SO ₄		
6.5	480	1017	20,51	0,2305	0,3015	—	—
7.	530	1015,5	18,82	0,300	0,1565	4,40	—
8.	568	1014	17,46	0,198	0,2515	4,10	0,177
9.	740	1017	22,04	0,408	0,079	4,44	0,150
10.	610	1012	17,86	0,273	0,1705	4,10	0,161
11.	575	1014	15,72	0,164	0,241	4,46	0,184

Tabelle V. Dritter Sarkosinversuch am Hund.

Datum	Harn- menge.	N nach Seegen. 5 Cc. brauchen $\frac{1}{4}$ Säure.	Bunsen'sche Bestimmungen in 7,5 Cc.			S in 50 Cc. Ba SO ₄ .
			CO. — Ba SO ₄ .	NH ₃ bin- det SO ₄ H ₂ $\frac{1}{4}$ Normal	Alkalesc.- Abn. in $\frac{1}{4}$ Alkali.	
18/6	400	—	0,4998	15,3	—	—
19.	400	8,9 } 9,0	0,3905	12,25	1,0	0,1160
20.	400	9,1 }	0,4129	12,50	1,75	0,1140
21.	400	9,4 }	0,3999	12,45	1,70	0,1250
22.	500	8,75 }	0,4652	13,75 }	3,15 }	0,1085
23.	400	12,6 } 12,5	—	13,81 }	2,50 }	—
24.	400	12,4 }	0,3436	9,75	1,60	0,0753
		7,2	—	11,65	1,85	0,1065
		8,0				

Tabelle VI. Glycocollversuch am Kaninchen.

Periode.	Harn- menge. Cc.	N nach Seegen. 5 Cc. erfordern $\frac{1}{10}$ Säure. Cc.	Bunsen'sche Be- stimmung in 7,5 Cc.		S Ba SO ₄ in 50 Cc.
			CO Ba SO ₄ .	N als NH ₃ . $\frac{1}{10}$ SO ₄ H ₂ gebraucht.	
I. 4 Tage.	500	—	—	22,0	0,110
II. »	500	—	0,258	17,1	0,1095
III. »	500	27,1	0,378	25,0 } 24,2 }	0,0875
IV. »	500	13,4	0,268	18,75 } 19,05 }	0,123
V. »	500	28,0	0,5195	37,0 } 37,5 }	0,119
VI. »	»	10,5	0,2500	36,4 }	0,112
VII. »	»	12,5	0,291	14,5 } 19,25 }	0,112

Tabelle VII. Sarkosinversuch am Kaninchen.

I. 3 Tage.	300	25,6	0,4375	35,6	0,264
II. 4 Tage.	500	10,6	0,200	—	0,1435
III. »	500	10,5	0,1725	—	0,1075
IV. »	500	9,54	0,4070 } 0,4115 }	36,5 } 36,5 }	0,1395
		21,75			
		23,00			

Die in diesen beiden Versuchsreihen verwendete Säure entsprach in 100 Cc. nicht 1,4, sondern 1,5 N.

Tabelle VIII. Alanin und Hydantoin säure am Kaninchen.

Periode.	Harn- menge.	N nach Seegen. 5 Gc. erfordern $\frac{1}{4}$ Säure.	Bunsen'sche Be- stimmungen in 7,5 Gc.		S-Bestim- mung Ba SO ₄ aus 50 Gc.
			CO Ba SO ₄ .	Das NH ₃ bindet $\frac{1}{4}$ Säure.	
I. 4 Tage.	500	4,15 } 4,20 }	0,2092	5,45	0,0905
II. »	420	3,8	0,2038	5,15	0,0727
III. »	400	15,2	0,6118	19,3	0,1194
IV. »	400	5,5	0,2670	7,25	0,1326
V. »	400	5,25	0,2424	6,95	0,1206
VI. 3 Tage.	360	9,05 } 9,20 }	0,4912 } 0,4924 }	11,50 } 11,45 }	0,1504