

# Ueber ein Verfahren zur Bestimmung des Amidosäurenstickstoffs im Harn.

Von

Dr. Meinhard Pfandler aus Graz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 31.)

(Der Redaction zugegangen am 4. Juni 1900.)

Dem qualitativen Nachweise der in pathologischen Harnen auftretenden Amidosäuren und deren Abkömmlinge dient eine Reihe mehr oder weniger leistungsfähiger Methoden, welche zumeist auf der Darstellung dieser Körper beruhen und nur sehr mangelhaften Einblick in die quantitativen Verhältnisse dieser Form der Stickstoffausscheidung gewähren. Nun ist aber zu erwarten, dass in Fällen, wo die Ausscheidung einzelner Amidosäuren, z. B. des Leucins und Tyrosins, nachgewiesen ist, auch andere verwandte Spaltungsprodukte der Protein-substanzen im Harn auftreten, welche, wie die Asparaginsäure und die Glutaminsäure, dem qualitativen Nachweise leicht entgehen. Da ein Verfahren, welches die Grösse der Ausscheidung von Amidosäuren oder der diesen entsprechenden Stickstoffmenge zu ermitteln gestattet, gewissen klinischen Zwecken dienlich zu sein versprach, unternahm ich auf Anregung von Professor Hofmeister den Versuch, ein solches Verfahren auszuarbeiten.

Vor allen in irgend beträchtlichen Mengen auftretenden stickstoffhaltigen und näher bekannten Harnbestandtheilen zeichnen sich die Amidosäuren — wie die eingehenden Untersuchungen von Schöndorff<sup>1)</sup> neuerdings lehren — durch ihre feste Stickstoffbindung und ihre Nichtfällbarkeit durch Phosphorwolframsäure aus. Es lag nahe, die Methode auf diese beiden Eigenschaften zu gründen.

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 62, S. 1.

Zunächst galt es also, aus dem Gesammtharne die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen und die Träger des leicht abspaltbaren Stickstoffs abzuscheiden. Letzterem Zwecke konnte die Einwirkung anorganischer Säuren bei hoher Temperatur dienen.

Es wurde im Beginne versucht, den leicht abspaltbaren Stickstoff nach dem von Hausmann<sup>1)</sup> beim Studium der Stickstoffvertheilung im Eiweissmoleküle angewandten Verfahren durch Zerkochen des Harns mit concentrirter HCl in Ammoniak überzuführen und letzteres mit Magnesia abzudestilliren. Es zeigte sich aber, dass selbst 24stündiges Kochen des Harns mit dem mehrfachen Volumen der concentrirten Säure am Sandbade nicht genügt, um den Harnstoff völlig zu zersetzen. Von einer Salzsäurebehandlung im zugeschmolzenen Rohre — die nach Salaskin und Zaleski<sup>2)</sup> zum Ziele führt — wurde abgesehen mit Rücksicht auf die angestrebte klinische Verwendbarkeit der Methode. Hingegen leistete Erhitzen mit Phosphorsäure — wie nach den Erfahrungen Schöndorffs zu erwarten stand — den verlangten Dienst.

Im Laufe der Untersuchungen stellte sich die Nothwendigkeit heraus, die Phosphorwolframsäurefällung der Säurezersetzung vorangehen zu lassen, da im entgegengesetzten Falle die Körper der Harnsäuregruppe zum Theile zersetzt werden, ihre stickstoffhaltigen Spaltungsprodukte der Fällung entgehen und sich dem die präformirten Amidosäuren enthaltenden Filtrate beimengen.

Das nach mehrfacher Variation ermittelte, am besten bewährte Verfahren, welches überdies einen annähernden Ueberblick der Stickstoffvertheilung im Harne überhaupt gewinnen lässt und sich an das von Schöndorff<sup>3)</sup> zwecks Harnstoffbestimmung in Blut und Organen angegebene anschliesst, ist folgendes:

Der 24stündige Harn wird über Chloroform aufgefangen, alsbald nach der Entleerung mit stickstofffreier Salzsäure angesäuert und durch Verdünnung mit ungefähr einem halben Theile Wassers auf bestimmtes Volumen gebracht. Allfällige Niederschläge werden vor Entnahme der Proben gleichmässig

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 95.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 73.

3) l. c.

in der Flüssigkeit vertheilt. Damit werden nun folgende Bestimmungen ausgeführt:

1. Ermittlung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl in bekannter Weise. Hierauf

2. und 3. Bestimmung des Ammoniak- und leicht abspaltbaren Stickstoffs ( $n_1$  und  $f_1$ ). 20 ccm. der Flüssigkeit werden mit etwa 40 ccm. salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung (100 g Phosphorwolframsäure-Merck + 100 ccm. Salzsäure p. sp. 1,124 + 800 ccm. destillirtes Wasser) gefällt. Nach 24stündigem Stehen der Proben in ammoniakfreier Atmosphäre wird durch ein aschearmes (stickstofffreies) Filter in einen Erlenmeyer-Kolben klar filtrirt, der Niederschlag mit Hilfe des Filtrats quantitativ übergespült und zwei bis drei Mal mit der zur Fällung verwendeten Lösung gewaschen. Hierbei darf sich das Filtrat nicht mehr trüben. Filter mit Niederschlag wird hierauf gleichfalls in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht und gleich dem Filtrate mit etwa 10 g krystallisirter Phosphorsäure (oder dem gleichen Gewichte der leichter erhältlichen Metaphosphorsäure)<sup>1)</sup> versetzt. Beide Kolben kommen für 18—20 Stunden in einen auf 150° C. eingestellten Trockenkasten. Nach spontaner Abkühlung der beiden Proben werden dieselben mit heissem Wasser in einen Rundkolben aus Hartglas von etwa 1 l. Capacität gespült, mit stickstofffreier Natronlauge zunächst vorsichtig annähernd neutralisirt, hierauf mit einem grossen Ueberschusse von geglühter Magnesia bis zur deutlich alkalischen Reaction versetzt und in eine mit entsprechender Menge n/10-Säure beschickte Vorlage abdestillirt. Wenn der Trockenkasten geräumig genug ist, dann kann die Zersetzung mit Phosphorsäure natürlich zweckmässig bereits im Destillationskolben erfolgen. Das spontan meist sehr heftige Stossen der Flüssigkeit bei der Destillation kann durch Eintragen pulverisirten, geglühten Bims-

---

1) Beide Präparate, sowie die Phosphorwolframsäure sind auf Stickstoffgehalt zu prüfen. Von einer Entfernung der Phosphorwolframsäure durch CaO vor der Zersetzung (Schöndorff) wurde Abstand genommen, da bei der hierzu erforderlichen Herstellung alkalischer Reaction Ammoniakverluste zu befürchten waren.

steins oder in den Fällen, in welchen der Rückstand hinterher zu zersetzen ist, durch Luftdurchleitung (Ammoniakfilter!) vermindert werden. Nach beendeter erster Destillation und erfolgter Abkühlung des Kolbens wird dieser nochmals mit Wasser aufgefüllt und der Inhalt in eine zweite kleine Säurevorlage abdestillirt, wobei in der Regel noch einige Zehntelcubikcentimeter  $n_{10}$ -Säure neutralisirt werden.

4. und 5. Bestimmung des durch Säure nicht abspaltbaren Stickstoffs ( $f_2$  und  $n_2$ ).

Nach beendeter zweiter Destillation wird der Kolbenrückstand behufs Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt.

Die Anwesenheit von viel Phosphorwolfram- und Phosphorsäure erschwert die Zersetzung und gibt durch Bildung von harten Beschlägen an der Kolbenwand zum Springen der Kolben Anlass. Man wird diesen Schwierigkeiten am besten dadurch begegnen, dass man grosse Mengen von Zersetzungssäure anwendet und die Kolben während der Zersetzung häufig dreht. Meist bedarf es einer ständigen Ueberwachung. Eventuell lässt sich diese Bestimmung auch ganz umgehen, indem man den Differenzwerth zwischen dem in anderen Proben bestimmten Gesamtstickstoffgehalt des Phosphorwolframsäurefiltrats bzw. -Niederschlags und dem Gehalte des aus Filtrat bzw. Niederschlag durch die Phosphorsäure- und Magnesiabehandlung abspaltbaren Stickstoffs berechnet: « indirekte Bestimmung ».

Die zwei bei den Magnesiadestillationen ( $n_1 + f_1$ ) und die bei den Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ( $n_2 + f_2$ ) gewonnenen Stickstoffwerthe müssen sich zum Gesamtstickstoffwerthe ergänzen. Die Abweichungen betragen in gelungenen Versuchen thatsächlich höchstens 1–2<sup>o</sup>/<sub>o</sub>.

Der Gesamtstickstoff des — wie zunächst angenommen werden soll — eiweiss- und albumosefreien Harns wird auf diese Weise in vier Fractionen bestimmt:

1. Fraction  $n_1$ : durch Phosphorsäure abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen. Hierher gehört, so viel bekannt, der gesammte Stickstoff des Ammoniaks, der Carbaminsäure, des Rhodans und ein Theil des Stickstoffs der Harnsäure, der Purinbasen, des Kreatinins, des Harnmucoides, der Eiweisskörper, bzw. des Nucleoalbumins, des normalen Harns.

Ueber die Fällbarkeit des Harnammoniaks durch Phosphorwolfram-

säure liegen widersprechende Angaben vor. Während Bohland<sup>1)</sup> eine Harnstoffbestimmungsmethode darauf gründet, dass sich das gesammte Ammoniak im Filtrate vom Phosphorwolframsäureniederschlage findet, wies Gumlich<sup>2)</sup> nach, dass — wenigstens unter bestimmten Bedingungen — das Ammoniak des Harns quantitativ durch Phosphorwolframsäure gefällt wird. (Reine Ammoniaklösungen verhalten sich nach Gumlich anders.) Auch Salaskin und Zaleski<sup>3)</sup> fanden jüngst gelegentlich einer Harnstoffbestimmung nach Schöndorff etwa 39% des Ammoniaks im Phosphorwolframsäurefiltrate. Die Ungleichmässigkeit dieser Befunde dürfte auf der verschiedenen Qualität der Phosphorwolframsäurepräparate beruhen. Vergleichende Versuche mit der von Schöndorff angewandten Kahlbaum'schen Phosphorwolframsäurelösung und einer aus krystallinischem Merck'schen Präparate hergestellten sauren Lösung ergaben, dass letztere das Ammoniak (sowie den Rhodanwasserstoff) aus dem Harn unter den von Gumlich angegebenen Cautelen quantitativ, hingegen wässrige Harnstofflösungen von einem Gehalte unter 2—2½% binnen 24 Stunden nicht fällt,<sup>4)</sup> wogegen erstere das Ammoniak des Harns gar nicht oder nur theilweise fällt und — beiläufig bemerkt — auch Diamidosäuren und manche Peptone ins Filtrat übergehen lässt. Die Kontrolle der Ammoniakfällung wurde durch Prüfung des Filtrates auf Ammoniak nach Schlösing ausgeführt — ein Verfahren, das nach Gumlich auch bei Anwesenheit von überschüssiger Phosphorwolframsäure richtige Werthe ergibt.

2. Fraction  $n_2$ : durch Phosphorsäure nicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Körper. Es ist dies der Stickstoffrest jener bereits oben angeführten Substanzen, welche, wie Harnsäure, nur einen Theil des Stickstoffes fest gebunden enthalten, ferner der Stickstoff der Diamine, der Diamidosäuren und wohl auch der etwa vorkommenden Ptomaine. Die Summe  $n_1 + n_2$  stellt den gesammten, durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff dar.

3. Fraction  $f_1$ : leicht abspaltbarer Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper, d. h. der gesammte Stickstoff des Harnstoffs, des Allantoins, der Oxalursäure, eventuell ein Theil des Kreatinstickstoffes.

1) Pflüger's Archiv, Bd. XLIII, S. 31.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 13.

3) l. c., S. 84.

4) Zur Verhütung der Harnstofffällung in unserem Falle genügt daher die angegebene Verdünnung des Harns vor dem Zusatze der Phosphorwolframsäure.

Da nach den Angaben Cloëtta's<sup>1)</sup> die Oxyproteinsäure mit verdünnter Schwefelsäure zerkocht in Ameisensäure, Kohlensäure und Ammoniak zerfällt, musste daran gedacht werden, dass ihr Stickstoff wenigstens zum Theile auch durch Erhitzen mit Phosphorsäure abgespalten werden und in diese Fraction fallen könne. Ich hatte Gelegenheit, hierüber besondere Versuche anzustellen. Wässerige Lösungen von reinem oxyprotein-saurem Baryum<sup>2)</sup> geben bei der beschriebenen Behandlung mit Phosphorsäure und Magnesia 54,7—58,5% ihres Stickstoffgehaltes in Form von Ammoniak ab. Mithin erscheint etwas mehr als die Hälfte des Oxyproteinsäurestickstoffs in der «Harnstoff-fraction» — unter der sehr wahrscheinlichen Voraussetzung, dass sich die Oxyproteinsäure des Harnes bezüglich der Stickstoff-abspaltbarkeit nicht anders verhält, als ihr rein dargestelltes Salz.

4. Fraction  $f_2$ : fest gebundener Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper, vor allem der Amidosäuren und ihrer Derivate, wovon für den normalen menschlichen Harn das Glycocoll (die Hippursäure, Taurin- und Cystinabkömmlinge, für den pathologischen Harn namentlich Leucin und seine Homologen, Tyrosin und Cystin in Betracht kommen. Die Oxyproteinsäure stellt nach Obigem zu dieser Fraction einen Beitrag von etwa 41,5—45,3% ihres Stickstoffes.

In eiweiss- und albumosehaltigen Harnen müsste die erste Fraction ( $n_1$ ) durch den Amidstickstoff der Protein-substanzen, die zweite ( $n_2$ ) durch deren «Mono- und Diamido-stickstoff» (Hausmann) vermehrt werden.

Wie ersichtlich, wird durch das angegebene Verfahren in Fraction  $f_1$  gleichzeitig der Harnstoff sehr annähernd quantitativ bestimmt, da der Stickstoff dieser Fraction fast seiner ganzen Menge nach vom Harnstoff abstammt.

Ich lasse nun die Ergebnisse der an drei normalen Harnen durchgeführten Bestimmungen der Stickstoffvertheilung folgen.

1) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakol., Bd. 40, S. 29.

2) Ich verdanke das Präparat der Güte des Herrn Docenten Dr. Fritz Pregl in Graz.

Tabelle I.

Gesamtstickstoff	Direkte Bestimmungen			Indirekte und Kontrollbestimmungen			NH <sub>3</sub> nach Schösing
	n <sub>1</sub> leicht abspaltbarer N des P-W-S-Niederschlags	n <sub>2</sub> schwer abspaltbarer	f <sub>1</sub> leicht abspaltbarer N des P-W-S-Filtrats	f <sub>1</sub> + f <sub>2</sub> Gesamt-N des Filtrats	n <sub>1</sub> + n <sub>2</sub> Gesamt-N des Niederschlags	n <sub>1</sub> + f <sub>1</sub> Gesamt, leicht abspaltbarer N	

in 20 cem. Harn

Milligramme Stickstoff und Procente vom Gesamtstickstoff

I. Harn eines gesunden Mannes; gemischte Kost.

5 cem. Harn	13,832	130,018	8,246			
41,846	15,372	132,354	7,266			
41,604	13,510	130,369	8,302			
Mittel:	Mittel:	Mittel:	Mittel:			
41,727	14,238	130,578	7,938	22,828	146,916	
20 cem. Harn	= 8,53%	= 6,81%	= 4,76%	= 14,28%	= 88,02%	
166,908	164,108 = 98,31%					

1) Bestimmt durch Destillation des mit Phosphorsäure zersetzten Gesamtharns mit Magnesia.

Tabella I. (Fortsetzung)

Gesamtstickstoff	Direkte Bestimmungen				Indirekte und Kontrollbestimmungen			N <sub>II</sub> nach Schlösing
	$n_1$ leicht abspaltbar	$n_2$ schwer abspaltbar	$f_1$ leicht abspaltbar	$f_2$ schwer abspaltbar	$n_1 + n_2$ Gesamt-N des Niederschlags	$f_1 + f_2$ Gesamt-N des Filtrats	$n_1 + f_1$ Gesamter, leicht abspaltbar N	
	N des P-W-S-Niederschlags		N des P-W-S-Filtrats					
in 20 ccm. Harn								
Milligramme Stickstoff und Procente vom Gesamtstickstoff								
2. Harn des normalen Hundes I: Fleischkost								
5 ccm. Harn								
65,632					34,244	225,680	245,680	
65,744					34,468	224,896	245,294	
Mittel:					Mittel:	Mittel:	Mittel:	
65,688	19,796	13,160	219,450	5,824	34,356	225,280	245,357	11,354
20 ccm. Harn								
262,752	$\leftarrow$ 7,54°	$\equiv$ 5,01°	$\equiv$ 83,52°	$\equiv$ 2,22°	$\equiv$ 13,08°	$\equiv$ 85,75°	$\equiv$ 93,38°	$\equiv$ 4,33°
		258,230	$\equiv$ 98,29°					

1) Bestimmt durch Destillation des mit Phosphorsäure zersetzten Gesamtharnes mit Magnesia.

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Gesamtstickstoff	Direkte Bestimmungen			Indirekte und Kontrollbestimmungen			NH <sub>3</sub> nach Schmelzung
	n <sub>1</sub> leicht abspaltbarer N des P-W-S-Niederschlags	n <sub>2</sub> schwer abspaltbarer N des P-W-S-Filtrats	f <sub>1</sub> leicht abspaltbarer schwer abspaltbarer N des P-W-S-Filtrats	n <sub>1</sub> + n <sub>2</sub> Gesamt-N des Niederschlags	f <sub>1</sub> + f <sub>2</sub> Gesamt-N des Filtrats	n <sub>1</sub> + f <sub>1</sub> Gesamt, leicht abspaltbarer N	
	in 20 cem. Harn						

Milligramme Stickstoff und Procente vom Gesamtstickstoff

3. Harn des normalen Hundes II; Fleischkost.

10 cem. Harn	21,084	Indirekt	265,776	Indirekt	28,266		
155,540	22,064	bestimmt	267,314	bestimmt	28,714	278,644	
154,728						281,148	
Mittel:	21,574		Mittel:	13,351	Mittel:	279,896	12,502
155,434	= 6,96%	2,23%	= 85,91%	4,30%	= 9,19%	= 90,21%	= 4,03%
20 cem. Harn	308,386 = 99,40%						
310,268							

1) Bestimmt durch Destillation des mit Phosphorsäure zersetzten Gesamtharnes mit Magnesia.

Der durch die Anordnung der Bestimmungen, wie ersichtlich, mehrfach kontrollirte Befund einer nicht unbedeutlichen Stickstoffmenge in der vierten Fraction «f<sub>2</sub>» des normalen Harns war ein unerwarteter. Auf welchen normalen Harnbestandtheil kann dieser Stickstoff bezogen werden? Der Stickstoff der Hippursäure kann im normalen Harn des Fleischfressers nach den bisher vorliegenden Angaben etwa 0,05 bis höchstens 0,5% des Gesamtstickstoffs betragen, jener der im normalen Harn noch zweifelhaft vorhandenen Spuren anderer Amidosäuren, der Taurin- und Cystinabkömmlinge kaum in Betracht kommen. Dass es sich um Reste unzersetzten Harnstoffes handle, ist angesichts der Gleichmässigkeit der für die Harnstoff-Fraction in den Kontrollversuchen gewonnenen Zahlen ausgeschlossen. Nach Bondzynski und Gottlieb<sup>1)</sup> scheidet der normale Hund nach Fleischfütterung etwa 2,5%, der normale Mensch bei gemischter Kost 2—3% des gesammten Harnstickstoffs in Form von Oxyproteinsäure aus. Nach Pregl's<sup>2)</sup> Angaben berechnet, stellt sich (entgegen den Erfahrungen Töpfers<sup>3)</sup> die relative Stickstoffzahl der Oxyproteinsäure im menschlichen Harn auch wohl bis zu 4%, wobei noch zu beachten ist, dass alle Darstellungsmethoden mit hohen Verlusten arbeiten, weil die Substanz die Eigenschaft besitzt, Niederschlägen hartnäckig anzuhafte (Pregl).

Da nach den oben angeführten Versuchen nicht ganz die Hälfte des Oxyproteinsäurestickstoffs, entsprechend etwa 1½ bis 2% des Gesamtharnstickstoffs, in dieser Fraction erscheint, bleibt in derselben immerhin noch ein ungedeckter Rest, dessen Bedeutung weitere Untersuchungen werden aufklären müssen.

Wenn das mitgetheilte Verfahren der quantitativen Bestimmung zu dienen im Stande sein soll, so muss dem Harn beigemengter Amidosäurenstickstoff quantitativ in der vierten Fraction erscheinen. Um diesen Sachverhalt zu prüfen, fügte ich einem Harn, dessen Stickstoffvertheilung genau bekannt war, eine gewogene Menge Leucin zu und führte die Bestimmung der Fraction f<sub>2</sub> hierauf neuerdings durch.

1) Centralblatt für medicin. Wissenschaften 1897, Nr. 33. 14. VIII.

2) Pflüger's Archiv 1899, Bd. 75, S. 108.

3) Centralblatt für medicin. Wissenschaften 1897, Nr. 41.

20 ccm. Harn (des Hundes I in normalem Zustande): darin wurde gelöst 0.1 g chemisch reines Leucin.

Stickstoff in der Fraction  $f_3$ : berechnet: 16,52 mg  
gefunden: 17,12 .

Der Stickstoff des beigefügten Leucins — von anderen Amidosäuren darf dasselbe Verhalten erwartet werden — erscheint also quantitativ in der betreffenden Fraction.

Nachdem durch die vorgeführten Versuche der Beweis erbracht war, dass die Bestimmung des nicht durch Phosphorwolframsäure fällbaren, nicht durch Phosphorsäure abspaltbaren Stickstoffs im Harn trotz seines kleinen Werthes mit genügender Schärfe durchführbar ist, habe ich versucht, die praktische Verwendbarkeit des Verfahrens an einem experimentell zugänglichen Falle zu prüfen.

Bei gewissen schweren, acuten Infectionen, bei Lebererkrankungen und bei Phosphorvergiftung treten im Harne bekanntlich nicht selten Amidosäuren auf. Unter diesen Verhältnissen ist mithin eine Vermehrung der die vierte Fraction bildenden Stickstoffmenge zu erwarten. Ich denke die Frage nach dem Auftreten von Amidosäuren im Harne unter wechselnden pathologischen Verhältnissen demnächst von der klinischen Seite zu bearbeiten. Vorderhand liegen mir einige Daten betreffend die Stickstoffvertheilung bei der am Hunde erzeugten Phosphorvergiftung vor.

Hund I (s. Tabelle I), kleiner Rattler, erhält am 14. Februar 1 ccm concentrirter ölicher Phosphorlösung subcutan injicirt. Am 16. Februar wird die doppelte Dosis in gleicher Weise verabreicht. Ab 19. Februar scheint das Thier schwer krank, erbricht, lahmt. Tod am 20. Februar. Typischer Sectionsbefund; Leberblutungen etc.

Hund II (s. Tabelle II), mittelgrosser Rattler, erhält am 3., 5. und 7. März je 1 ccm. der Phosphorlösung subcutan. Schwerer Allgemeinzustand ab 9. März. Wird moribund geschlachtet. Blut schwer gerinnbar, Leberbefund typisch.

Der Harn beider Thiere wurde in dem sorgfältig gereinigten Käfig quantitativ gesammelt und noch warm zur Verarbeitung gebracht. Die Zahlenangaben in der Tabelle II beziehen sich auf die vereinigten, am letzten Lebenstag entleerten Harnportionen.

Das Ergebniss der Verarbeitung der von den vergifteten Hunden stammenden Harnproben ist auf folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle II.

Gesamtstickstoff	Direkte Bestimmungen				Indirekte und Kontrollbestimmungen			NH <sub>3</sub> nach Schließung
	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	f <sub>1</sub>	f <sub>2</sub>	n <sub>1</sub> + n <sub>2</sub>	f <sub>1</sub> + f <sub>2</sub>	n <sub>1</sub> + f <sub>1</sub>	
in 20 ccm. Harn								
Milligramme Stickstoff bzw. Procente vom Gesamtstickstoff								
1. Harn des mit Phosphor vergifteten Hundes I.								
5 ccm. Harn								
86,578					43,876	294,154	300,678	
Mittel:					Mittel:	Mittel:	Mittel:	
86,268					44,856	298,074	301,098	
20 ccm. Harn								
86,408	26,432	17,930	280,140	17,556	44,366	256,114	300,888	29,936
Mittel:	26,432	17,930	280,140	17,556	44,366	256,114	300,888	29,936
345,632	7,65°	5,19°	81,06%	5,08°	12,84%	85,68%	87,05°	5,77°
2. Harn des mit Phosphor vergifteten Hundes II.								
10 ccm. Harn								
127,498	18,284	indirekt bestimmt	216,748	indirekt bestimmt	23,562	235,200		
Mittel:	18,592		217,924		24,150	235,760		
128,604								
20 ccm. Harn								
128,051	18,438	5,418	217,336	18,144	23,856	235,480		14,308
Mittel:	18,438	5,418	217,336	18,144	23,856	235,480		14,308
256,102	7,21°	2,12°	84,86°	7,09°	9,32°	91,95°		5,59°
			250,336	101,28°				

Die auf den Tabellen I und II enthaltenen procentischen Stickstoffwerthe sind — behufs direkter Vergleichbarkeit auf eine Summe der vier Fractionen = 100% corrigirt — in folgender Uebersichtstabelle zusammengestellt.

Generaltabelle.

Stickstoff in Procenten des Gesamtstickstoffs.						
	Fraction n <sub>1</sub>	Fraction n <sub>2</sub>	Fraction f <sub>1</sub> + = U	Fraction f <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	
Normaler menschlicher Harn	8.34	6.65	80.14	4.88		
		14.98		85.02		
Hand I	gesund	7.67	5.10	81.97	2.26	4.33
			12.77		87.23	
Hand I	unter Phosphorwirkung	7.73	5.24	81.89	5.13	5.77
			12.98		87.02	
Hand II	gesund	7.00	2.24	86.43	4.33	4.03
			9.24		90.76	
Hand II	unter Phosphorwirkung	7.13	2.10	83.76	7.01	5.59
			9.23		90.77	

Wie ersichtlich, trat in den beiden Fällen von Phosphorvergiftung eine zwar nicht bedeutende, aber gleichmässige Verschiebung der Stickstoffwerthe in dem Sinne ein, dass die Fraction f<sub>2</sub> — ich möchte sie vorläufig die Fraction der Monamidosauren nennen — auf Kosten des Harnstoffs (f<sub>1</sub>) vermehrt erschien. (Auch die Ammoniakwerthe stiegen gleichzeitig etwas an.)

Die absolute Vermehrung des Stickstoffs in der Fraction (f<sub>2</sub>) betrug im 24stündigen Harn in den zwei Fällen bei einer

Gesamtstickstoffausscheidung von 6,57 g (Hund I) bzw. 7,76 g (Hund II) 0,19 g bzw. 0,21 g oder — beispielsweise auf Leucin berechnet — 1,76 g bzw. 1,93 g Leucin.

Bei der theilweise<sup>1)</sup> noch mangelnden Kenntniss über das Verhalten des der Fraction  $f_2$  im normalen Harn angehörnden Stickstoffs bei Aenderung der Ernährung, im Hunger etc., kann dieser Befund, streng genommen, nicht ohne Weiteres auf abnorme Ausscheidung von Amidosäuren bezogen werden, so sehr ein solcher Schluss auch nahe liegt.

Der qualitative Nachweis von Leucin und Tyrosin mittelst der üblichen Darstellungsmethoden wurde in beiden Phosphorharnen versucht und ergab ein negatives Resultat, was allerdings bei der geringen Empfindlichkeit dieser Methoden ihre Anwesenheit durchaus nicht ausschliesst.

Die bei der direkten Bestimmung der Fraction  $f_2$  gemachten Fehler betragen bei einiger Uebung höchstens etwa + 2 ccm. n/10-Säure, entsprechend 2,8 mg Stickstoff in 20 ccm. Harn. Vermehrt sich daher in einem Harn der Stickstoffgehalt pro 20 ccm. um etwa 3 mg Amidosäurenstickstoff, so wird dies nach dem angegebenen Fractionirungsverfahren eben sicher nachweisbar sein. In diesem Sinne kann die Methode mit den Methoden des qualitativen Nachweises durch Darstellung von Amidosäuren aus dem Harn in Concurrenz treten.

Für die weitere, namentlich die klinische Verwendung des Verfahrens, ist dasselbe einer Vereinfachung zugänglich. Wurde das präformirte Ammoniak bereits nach Schlösing bestimmt, so kann der Phosphorwolframsäureniederschlag in toto ohne vorgängige Säurezerkochung auf seinen Stickstoffgehalt verarbeitet werden. Die Untersuchung ist dann auf folgende Analysen zurückgeführt:

1. Bestimmung des Gesamtstickstoffs;
2. Bestimmung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs;

---

<sup>1)</sup> Nach Bondzynski und Gottlieb findet sich bei Phosphorvergiftung im Hundeharn eine vermehrte Menge von Oxyproteinsäure.

3. Bestimmung des leicht abspaltbaren Stickstoffs aus dem Phosphorwolframsäurefiltrate;

4. Bestimmung des schwer abspaltbaren Stickstoffs aus dem Phosphorwolframsäurefiltrate.

Handelt es sich um rasche Orientirung, so wird 1 und 4 genügen. Es dürfte sich empfehlen, auf diesem Wege zunächst durch längere Versuchsreihen unter wechselnden Bedingungen über die Grenzen, innerhalb deren sich die Werthe für den Stickstoff der « Monamidosäurenfraction » bewegen, einen Ueberblick zu gewinnen.

---