

# Über Stickstoffretentionen und Stickstoffgleichgewicht bei Fütterung von Ammoniaksalzen.

Von

Dr. E. Grafe, Privatdozent, und Dr. V. Schlüpfer, Zürich.

(Aus der medizinischen Klinik zu Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 31. Dezember 1911.)

Je mehr es gelingt, in die Vorgänge des intermediären Stoffwechsels Einblick zu bekommen, desto erstaunter ist man über die außerordentlich weitgehende synthetische Leistungsfähigkeit des tierischen Organismus. Es gilt dies vor allem für den intermediären Eiweißstoffwechsel, über den gerade die Arbeiten der letzten Jahre manchen wichtigen Aufschluß gegeben haben.

Daß alles Organeiweiß aus den einfachsten Bausteinen (Aminosäuren) synthetisch im Organismus aufgebaut wird, wissen wir durch die wichtigen Arbeiten von O. Loewi, Abderhalden u. a.

Die interessanten Untersuchungen von Knoop und Embden haben gezeigt, daß das synthetische Vermögen des Körpers noch tiefgreifender sich erweist, indem er in der Lage ist, sich sogar die Aminosäuren selbst aufzubauen. Knoop<sup>1)</sup> fand nämlich, daß nach Verfütterung von  $\gamma$ -Phenyl- $\alpha$ -Keto-buttersäure beim Hunde die entsprechende Aminosäure in Form des Acetylderivates im Harne wiedererscheint. Die Versuche von Embden<sup>2)</sup> und seinen Mitarbeitern beziehen sich auf die Durchblutung von überlebenden Lebern. Es gelang auf diese Weise, Brenztraubensäure sowie Milchsäure in Alanin überzuführen; und die alte, schwierige Frage, warum gerade die Kohlenhydrate so außerordentlich stark den Eiweißansatz begünstigen, wird durch die nahen Beziehungen, welche zwischen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 67, S. 489, 1910.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 29, S. 423, 1910.

kohlenhydratähnlichen Stoffen und synthetischer Aminosäurebildung bestehen, einer Lösung näher gebracht.

Durch diese wichtigen Untersuchungen von Knoop und Embden ist die Entstehung von Eiweißbausteinen aus Kohlenhydrat bewiesen, und es erhebt sich die neue Frage: Ist der Organismus imstande, alle integrierenden Bausteine seines Protoplasmas bei Gegenwart von Ammoniak und Kohlenhydratgruppen sich herzustellen, d. h. also wie die Pflanze aus  $\text{NH}_3$  und Kohlenhydratgruppen Eiweiß aufzubauen.

Die erste Aufgabe zur Lösung dieser Frage ist die, zu untersuchen, ob verfütterte Ammoniaksalze, die für gewöhnlich sofort in Form von Harnstoff ausgeschieden werden, unter bestimmten Bedingungen zum Teil oder ganz im Körper zurückbleiben und ob es gelingt, auf irgend eine Weise mit Ammoniak Stickstoffgleichgewicht zu erzielen.

Vom praktischen Standpunkt aus haben sich landwirtschaftliche Laboratorien schon seit einer Reihe von Jahren mit der Frage befaßt, ob bei den Zuchttieren (sämtlich Pflanzenfressern) Zugaben von Asparagin und Ammoniaksalzen einen günstigen Einfluß auf den Eiweißstoffwechsel ausüben. Die Ergebnisse dieser zahlreichen Untersuchungen,<sup>1)</sup> von denen nur diejenigen von Völtz<sup>2)</sup> und O. Kellner<sup>3)</sup> hervorgehoben seien, waren sehr widersprechend.

Die günstigsten Resultate wurden in einigen Fällen mit Asparagin und Ammoniumacetat erzielt. Als Ursache des in solchen Fällen retinierten Stickstoffs wird die Tätigkeit der Darmbakterien angesehen, die ja bei den Pflanzenfressern, speziell den Wiederkäuern, eine sehr große Rolle spielen soll. Die Frage, ob nicht bei dieser Auffassung die Wichtigkeit der Darmflora zu hoch bewertet ist und ob die Versuche nicht auch eine andere Deutung zulassen, mag dabei offen bleiben.

Als wir unsere Versuche, deren Beginn fast  $\frac{3}{4}$  Jahre zurückliegt, bereits in Angriff genommen hatten, erschien eine

<sup>1)</sup> Literatur bei Peschek, Pflügers Archiv, Bd. 142, S. 143. 1911.

<sup>2)</sup> Ebenda, Bd. 112, S. 425, 1906, und Bd. 121, S. 126. 1908.

<sup>3)</sup> Landwirtsch. Versuchsstation, Bd. 72, S. 437. 1900.

Arbeit von Peschek,<sup>1)</sup> der beim Fleischfresser (Hund) die Frage der Beeinflussung des Stickstoff-Stoffwechsels durch Ammonacetat studierte. Er gab das Salz als Zukost zu einer überreichlichen Nahrung mit verhältnismäßig hohem Stickstoffgehalt. Die Resultate waren einander außerordentlich widersprechend, in einigen Fällen kleine Retentionen, in anderen große Stickstoffverluste. Die Ursache für den wechselnden Ausfall der Beobachtungen war wohl, daß die Hunde sich meist nicht genau im Stickstoffgleichgewicht befanden, viele zeigten eine deutliche Tendenz zum Ansatz. Unter diesen Umständen ist, zumal bei sehr kurzen Versuchsperioden eine exakte Deutung der Resultate unmöglich. Die geringfügigen Stickstoffretentionen, die in dem einen oder anderen Falle beobachtet wurden, führt Peschek, ähnlich wie die früheren Autoren, auf Bakterienwirkung zurück.

Nach zahlreichen, oft variierten Vorversuchen, deren Mitteilung kein Interesse hat, erwies sich uns folgende Versuchsanordnung zur Entscheidung der vorliegenden, wichtigen Frage am zweckmäßigsten: Gewählt wurden solche Hunde, bei denen ein besonders großes Eiweißansatzbedürfnis vorhanden war; wir nahmen deshalb junge wachsende Hunde, die wir 8—12 Tage hungern ließen. Die Nahrung mußte das Nahrungsbedürfnis weit übersteigen und vorwiegend aus Kohlenhydraten bestehen, der Eiweißgehalt durfte nur sehr geringfügig sein und mußte weit unter der Menge der Abnutzungsquote (Eiweißminimum bei der gewählten Nahrung) liegen.

Jeder Versuch zerfiel in mindestens 4, drei- und mehrtägige Perioden:

1. Vorperiode I (Hunger: Dauer meist 8 Tage).
2. Vorperiode II: Darreichung der oben skizzierten kohlenhydratreichen und eiweißarmen Nahrung mit einem Bruttokaloriengehalt von 100—150 Kal. pro 1 kg = 150—200% des Bedarfs, sie bestand im wesentlichen aus Stärke, Zucker, etwas Butter und wenig Bouillon. (Näheres in den Tabellen.) In dieser Periode stellte das Tier sich auf das relative Stickstoffminimum ein.

<sup>1)</sup> Pflügers Archiv. Bd. 142, S. 143, Sept. 1911.

3. Hauptperiode: Der Hund bekam zu dem Futter der 2. Vorperiode eine N-Zulage in Form von Ammoniumchlorid oder Ammoniumcitrat. Die Periode wurde so lange ausgedehnt, als den Tieren die Nahrung beizubringen war.

4. Nachperiode: Die Nahrung war die gleiche wie in der Vorperiode II. Der Zweck der Nachperiode war, zu untersuchen: einmal, ob ein Teil des in der Hauptperiode retinierten Stickstoffs nach Fortlassen der Stickstoffzulagen wieder ausgeschwemmt wurde, und zweitens, ob und inwiefern sich das Stickstoffminimum gegenüber der Vorperiode II geändert hat. Bekanntlich stellt dies ja keine unveränderliche Größe dar, sondern pflegt während der Fortdauer der gleichen Ernährung weiter herabzugehen. Die Methodik gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

Gewählt wurden junge, wachsende, kräftige Hunde von 6—8½ kg Gewicht. Sie kamen in neue H. Meyersche Stoffwechsellkäfige. Zu Beginn jeder Periode wurden sie nüchtern gewogen, gemessen und katheterisiert bzw. die Blase gespült. Vom täglichen Katheterisieren wurde abgesehen, da selbst, wenn die hintere Scheidenwand nicht gespalten wird, die Gefahr einer Cystitis, die unter allen Umständen vermieden werden mußte, bei den jungen Tieren zu groß ist. Da Periode nur mit Periode, nicht Tag mit Tag verglichen wurde, konnte ohne Beeinträchtigung der Genauigkeit der Versuche der tägliche Katheterismus unterlassen werden.

Um jede Möglichkeit der Zersetzung des Urins im Uringlase zu vermeiden, enthielt dies stets konzentrierte Schwefelsäure. Der Käfig wurde täglich morgens mit angesäuertem Wasser gründlich ausgespült und ausgespritzt. Der Stuhl wurde getrennt aufgefangen und gesammelt. Da die Tiere besonders bei den Versuchen mit Chlorammonium hin und wieder Durchfall bekamen, war eine Trennung natürlich nicht immer möglich. Es wurde dann der Stuhl durch Filtration des Urins und des Spülwassers gewonnen. Bei diesem wohl nicht zu umgehenden Verfahren konnte natürlich nicht verhindert werden, daß ein Teil des Kotstickstoffs als Urinstickstoff gerechnet wird. Die Mengen, um die es sich dabei handeln kann, sind allerdings sehr klein. Hin und wieder besonders gegen Ende der Hauptperiode erbrachen die Tiere etwas. Auch hier ist natürlich eine Trennung des Erbrochenen von Stuhl und Urin oft nicht möglich. Die festeren Bestandteile der Nahrung blieben natürlich mit dem Kot, wenn solcher nicht getrennt gesammelt werden konnte, auf dem Filter zurück, während das Ammoniumsalz mit ins Filtrat ging. Wie die außerordentlich geringe Menge des Trockenkots (Filtrerrückstand) beweist, handelte es sich, wenn überhaupt, stets um sehr kleine Mengen erbrochener

Nahrung. An den Tagen, an welchen Durchfall und Erbrechen vorhanden war (vgl. die Tabellen), umschließt die N-Bestimmung im Harn also auch einen großen Teil des nicht resorbierten Stickstoffs; die N-Werte im Urin stellen dann also Maximalzahlen dar.

Die Nahrung bestand aus nahezu N-freier Weizenstärke, Rohrzucker, etwas Butter, einigen Tropfen eines verhältnismäßig eiweißarmen Fleisch-extraktes (Cibil), etwas Bouillon, der noch 1—3 g Kochsalz zugesetzt wurde. In späteren Versuchen setzten wir um für die Knochenbildung genügend Salze dem Körper einzuverleiben, der Nahrung täglich noch ca. 5 g Knochen- asche hinzu. Die Gesamtflüssigkeitsmenge wurde, um möglichst jede Schwankungen im Wasserhaushalt zu vermeiden, stets konstant mit 500 ccm gehalten (50 ccm Bouillon + 450 ccm Wasser). Wurden in der Haupt- periode die Ammoniaksalze in Lösung zugesetzt, so wurde entsprechend der Menge Lösung Wasser fortgelassen. Bei den Chlorammoniumversuchen wurden gewöhnlich die täglichen Dosen vom gleichen chemisch reinen Vor- rat trocken abgewogen und der Nahrung zugesetzt, die durch Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure stets schwach sauer gehalten wurde, um Entweichen von  $\text{NH}_3$  zu verhindern. Bei den Versuchen mit Ammonium- citrat wurde das Salz in gelöster Form (schwach salzsauer gemachte Lösung chemisch reinen Ammoniumcitrats [Merck]) zugesetzt.

Da eine stärkere Konzentration des Ammoniaks im Körper die Ausscheidung des Salzes als Harnstoff befördern mußte, wurde die Nahrung (gewärmt und fein emulgiert) über 15—16 Stunden verteilt in kleinen 2 stündlichen Perioden gegeben. Die Nahrung wurde von fast allen Hunden gern genommen, nur wenn sie wochenlang hintereinander gegeben wurde, machte die Darreichung Schwierigkeiten. Meist gelang es aber auch dann, durch Fütterung mit dem Löffel die Nahrung den Tieren beizubringen. Auffallenderweise ließ trotz der Eintönigkeit der Nahrung und ihrem sehr großen Calorienghalt der Appetit nur selten nach.

In einzelnen Versuchen wurde den Hunden 3 g Natrium bicar- bonicum täglich gegeben, um das Neutralisationsammoniak auf ein Minimum herabzudrücken. Es wurde entweder in kleinen Mengen unmittelbar vor der Darreichung der Nahrung dieser zugesetzt oder aber zwischen die einzelnen Nahrungsportionen in Oblatenform verabfolgt. Die letztere Form ist wohl zweckmäßiger, da, wenn der Hund die Nahrung nicht sofort frisst, die Möglichkeit des Entweichens kleiner Mengen von Ammoniak nicht auszuschließen ist. Die Urinstickstoffwerte, die wir an solchen Tagen, an denen die Nahrungszufuhr Schwierigkeiten machte, bekamen, haben wir im Hinblick auf diese mögliche Fehlerquelle mit einem Fragezeichen ver- sehen. Leider ließ sich die Darreichung von Natrium bicarbonicum meist nicht lange fortsetzen, weil die Tiere, deren Darm ja so wie so durch die Ammoniaksalze etwas gereizt ist, zu leicht Durchfall bekamen.

Für die Stickstoffbestimmungen im Urin (stets Doppelbestimmungen nach Kjeldahl) wurden Urin und Spülwasser gemischt und stets 25 bis

50 ccm der Gesamtmenge verascht, so daß die Titrationsausschläge immer sehr große waren. Am Ende jeder Periode wurde nüchtern katheterisiert und die Blase gespült.

Die Stuhlentleerung war meist außerordentlich unregelmäßig; manchmal fehlte tagelang der Stuhl, dann kamen Perioden mit täglichen Durchfällen, letztere besonders bei den Chlorammoniumversuchen.

Unter diesen Umständen waren natürlich tägliche Kotbestimmungen in exakter Weise nicht durchführbar. Wir grenzten daher nur den Kot der einzelnen Perioden durch Karmin ab und verarbeiteten die einzelnen Stuhlportionen, die gleich nach Entleerung schwach angesäuert wurden, gemeinsam. Der Kot wurde auf dem Wasserbad bei gelinder Erhitzung getrocknet, gut pulverisiert und in dem Pulver Stickstoff und Wassergehalt bestimmt. Da wo in den Nachperioden Reis und kondensierte Milch gegeben wurde, war der chemische und kalorische Gehalt der Nahrung genau bekannt.<sup>1)</sup> Dieselbe Fleischportion gleicher Zusammensetzung wurde mehrere Tage hindurch gereicht, der Stickstoffgehalt jeder Fleischsorte (es handelte sich stets um gebratenes Rindfleisch) wurde nach Kjeldahl bestimmt, als Kaloriengehalt wurde der Durchschnittswert für den Kaloriengehalt von 14 früheren eigenen Verbrennungen<sup>1)</sup> von Rindfleisch genommen.

In der geschilderten Art haben wir im ganzen an 6 Hunden sechs 3—7 Wochen dauernde Versuche angestellt. Viermal wurden in der Hauptperiode täglich 0,5 g N in Form von  $\text{NH}_4\text{Cl}$  gegeben, 1 mal 1,0 N in der gleichen Weise und 1 mal 1,7 bis 3,5 g N als Ammoniumcitrat; wegen der Durchfälle konnten von dem anorganischen Ammoniumsalz keine größeren Mengen gegeben werden, auch bei dem organischen Präparat konnten wir über 3,53 g N täglich (entsprechend ca. 20 g Ammoniumcitrat) aus dem gleichen Grunde nicht hinausgehen.

Die Protokolle von 3 derartigen Versuchen haben wir in Tabellenform am Schlusse unserer Arbeit mitgeteilt. Im Versuch I wurden 0,5 g N, bei II 1,0, bei III 1,7—3,53 g N täglich als Ammoniumsalz gegeben; da vier andere Versuche mit 0,5 g N in ganz gleicher Weise verliefen wie der Versuch I, haben wir auf deren Wiedergabe verzichtet. Die Gliederung der Tabellen bedarf keiner besonderen Erläuterung.

Die wichtigsten Ergebnisse bezüglich der N-Bilanz bringen die Stäbe 14 und 15 der Tabellen. Die Menge des retinierten Stickstoffs während der Hauptperiode ist hier in Tab. I und II in

<sup>1)</sup> Grafe und Graham. Diese Zeitschrift, Bd. 73, S. 33, 1911.

folgender Weise berechnet: das arithmetische Mittel der Durchschnittswerte der täglichen N-Ausscheidung an den an die Hauptperiode angrenzenden 3—4 Tagen der 2. Vorperiode und der 1. Nachperiode stellt den N-Verlust des Körpers bei der gleichen Nahrung während der Hauptperiode ohne N-Zugaben dar. Würde keinerlei Retention des in der Hauptperiode verfütterten Ammoniakstickstoffs vorhanden sein, so würde in dieser Periode die Gesamtstickstoffabgabe des Körpers die oben bestimmte Größe um die Höhe der N-Zufuhr vermehrt haben.

Die Betrachtung der in dieser Weise berechneten N-Bilanz zeigt, daß in allen Versuchen erhebliche N-Retentionen stattfanden: mit zunehmender Größe der N-Einfuhr nahm die Höhe der absoluten Zahlen zu, die der relativen Werte (Prozente des eingeführten Ammoniaksalzes) ab.

Von 0,5 g N bleiben 50% im Körper, von 1.0 g N 23%, und mit den größeren Mengen von N in Form von Ammoniumcitrat wurde sogar Stickstoffgleichgewicht erreicht.<sup>1)</sup> Die Frage, ob der retinierte Stickstoff nur vorübergehend vom Körper zurückbehalten wird und nach Fortlassen der N-Zulagen wieder ausgeschwemmt wird, läßt sich durch den Vergleich der N-Ausscheidung in der Vorperiode II und der Nachperiode I entscheiden. Übereinstimmend in allen Versuchen sind nun diese Werte nahezu gleich oder in der Nachperiode niedriger (in Versuch I und III wird in der Nachperiode weniger, in Versuch II etwas mehr ausgeschieden als in der Vorperiode): eine irgendwie nennenswerte Ausschwemmung des retinierten Stickstoffs liegt also jedenfalls nicht vor.

Sehr eigentümlich und bemerkenswert ist das Verhalten des Körpergewichts während der Versuche (Stab 3 der Tabellen). Die Gewichtsabnahme während der Hungerperiode schwankte zwischen 1,2 und 2,8 kg.

Obwohl nun in der 2. Vorperiode die Überernährung mit der nahezu stickstofffreien Kost eine recht erhebliche war (150—200% des Bedarfs), blieb das Körpergewicht entweder

<sup>1)</sup> Der tägliche N-Ansatz von 0,053 g in Hauptperiode I des Versuchs III ist wohl zu geringfügig, um von entscheidender Bedeutung zu sein.

wie in Versuch II gleich oder es nahm (Versuch II u. III) um 300 g ab. Es ist dies um so auffallender, als die Tiere während des Hungerns meist nur sehr wenig Flüssigkeit aufnahmen und man daher Gewichtszunahmen lediglich schon durch Wasserretention erwarten sollte. Außerdem ist nach längerem Hunger das Ansatzbedürfnis der jungen Tiere ein besonders großes. Wir finden also die merkwürdige Erscheinung, daß selbst bei starker Überernährung ohne Eiweiß ein Ansatz offenbar nicht zustande kommt. Es scheint demnach für die Bildung von Reservestoffen ein Gleichbleiben, bezw. eine Mehrung des Eiweißbestandes des Organismus von großer Bedeutung zu sein. Näher soll heute auf diese wichtige Frage, die mit Respirationsversuchen weiter verfolgt wird, nicht eingegangen werden.

Während der Fütterung mit Ammoniaksalzen kommt nun die Abnahme des Körpergewichts zum Stehen, bezw. wenn 1,0 g N und mehr gegeben wird, kommt es meist zu einer Gewichtszunahme von 2—300 g,<sup>1)</sup> die in der Nachperiode nach Aussetzen der Ammoniakzulagen sofort wieder eingebüßt wird. Im Versuch I, in dem das Tier in der 2. Vorperiode ausnahmsweise nicht abnahm, betrug der Gewichtsverlust in der Nachperiode sogar in 3 Tagen 480 g. Die Betrachtung der Flüssigkeitsbilanz, die man zur Erklärung heranziehen könnte, gibt keinen genügenden Aufschluß.

Es liegt daher nahe, diese typischen Veränderungen des Gewichts nicht mit Schwankungen im Wasserhaushalt, sondern vielleicht mit Gewebsansatz bezw. Speicherung von Reservestoffen in Beziehung zu bringen. Man könnte zu der Vorstellung gelangen, daß in der Hauptperiode Eiweiß gespart wird, und daß darum die Speicherung von Reservestoffen eher möglich ist.

Die entscheidende Bedeutung des Eiweißbestandes der Zelle für den Gewichtsansatz geht wohl am klarsten hervor aus dem Verhalten des Gewichts in der Hauptperiode IV in Versuch II (Hund Ami).

<sup>1)</sup> In der Hauptperiode II des Versuchs III findet wohl wegen Durchfalls und oft nicht genügender Nahrungsaufnahme eine Gewichtsabnahme statt.

Obwohl in diesem Zeitraum der Kaloriengehalt der Nahrung nur 90 Kalorien pro 1 kg betrug bei einer Eiweißzufuhr von täglich ca. 3 g N, stieg das Gewicht in 9 Tagen um 1,4 kg, während es bei demselben Tiere bei einer Zufuhr von 150 Kalorien pro Kilogramm bei minimalem Eiweißgehalt der Nahrung in 4 Tagen um 300 g abnahm (Vorperiode II).

Mit Sicherheit können wir heute nur folgendes behaupten: Die Fütterung von Ammoniaksalzen führt zu einer z. T. recht erheblichen Retention von Stickstoff (ca. 16,4 g N im Versuch III). Mit größeren Mengen Ammoniumcitrat gelingt es sogar, für längere Zeit ein Stickstoffgleichgewicht zu erzielen. Gleichzeitig steigt meist das Körpergewicht, während bei der gleich starken Überernährung ohne Zusatz von Ammoniaksalzen sehr erhebliche Gewichtsabnahmen die Regel sind. Eine nachträgliche Ausschwemmung des retinierten Stickstoffs in irgendwie nennenswertem Maße findet nicht statt. Soweit die Tatsachen.

Es entsteht nun die Frage, wie diese Stickstoffretentionen zu deuten sind.

Uns scheinen im wesentlichen drei Auffassungsmöglichkeiten zur Diskussion zu stehen.

1. Es handelt sich lediglich um eine Retention, entweder in Form von Harnstoff oder in Form der einen oder anderen Aminosäure.

2. Der Stickstoff ist in Form von Eiweiß in den Organismus übergegangen, die Eiweißsynthese ist aber nicht von den Körperzellen, sondern von den Darmbakterien ausgeführt worden.

3. Der Organismus selbst hat aus dem Ammoniak und den im Überschuß vorhandenen kohlenhydratartigen Gruppen synthetisch Eiweiß aufgebaut.

Gegen die erstskizzierte Auffassung scheint uns zu sprechen, daß der retinierte Stickstoff in den Nachperioden nicht wieder erscheint und daß das merkwürdige Verhalten des Gewichts durch diese Annahme unerklärt bleibt, denn obwohl der Stickstoff weiter retiniert wird, fällt in der Nachperiode das Gewicht wieder stark ab.

Die zweite Deutung stößt darum auf große Schwierigkeiten, weil im Darms des Fleischfressers die Bakterien keine so große Rolle spielen. Vor allem kennen wir dort keine Bakterien, die etwa analog den von M. Müller untersuchten Pansebakterien<sup>1)</sup> als Stoffwechselprodukt Eiweiß ausscheiden, das aus Amidien aufgebaut wurde.

Man müßte sich also vorstellen, daß das retinierte Ammoniak von Darmbakterien aufgenommen, in ihnen zu Eiweiß synthetisiert wird, und daß dann dies Eiweiß nach dem Absterben der Bakterien vom Darm aus resorbiert wird. Sehr geringfügige Stickstoffretentionen könnten auf diese Weise vielleicht erklärt werden, aber ob diese Hypothese ausreicht, z. B. eine Retention von ca. 16,4 g N (entsprechend etwa 400 g Körper-eiweiß) (wie in Versuch III) begreiflich zu machen, scheint doch recht fraglich zu sein.<sup>2)</sup>

Für die dritte Erklärung, daß aus dem Ammoniak und den Kohlenhydratkomplexen Eiweiß vom Körper synthetisch hergestellt worden ist, lassen sich folgende Gründe anführen:

Erstens ist eine dauernde Retention größerer Stickstoffmengen bei verhältnismäßig sehr kleiner N-Einfuhr ohne biologische Verwertung bei Tieren mit gesundem Gefäßsystem und Nierenapparat etwas auffallend. Zweitens ist durch die wichtigen Arbeiten von Knoop und Embden usw. die theoretische Möglichkeit für derartige Synthesen zweifellos gegeben. Schließlich würde auf diese Weise das merkwürdige Verhalten des Gewichts befriedigend erklärt werden, denn Versuch III zeigt, daß eine das Nahrungsbedürfnis überschreitende Nahrung nur dann zum Gewichtsansatz führt, wenn sie eine die Abnutzungsquote des Körpers (Rubner) übersteigende Menge Eiweiß enthält.

Nach der bisherigen Lage der Dinge halten wir die zuletzt skizzierte Deutung für die richtige.

Bei der großen Schwierigkeit und Wichtigkeit der vor-

<sup>1)</sup> Pflügers Archiv, Bd. 112, S. 112, 1906.

<sup>2)</sup> Anmerkung bei der Korrektur 28. I. 12. Hund III hat seit 27. XI. abgesehen von den kleinen täglichen Mengen von 0,1 g noch keinen Eiweißstickstoff erhalten und macht einen durchaus gesunden Eindruck.

liegenden Frage scheinen jedoch zur Erbringung eines sicheren zwingenden Beweises weitere Untersuchungen noch notwendig. Wir sind damit noch gegenwärtig beschäftigt und möchten daher heute auf die Deutung der Stickstoffretention und die Besprechung der wichtigen Arbeiten von Abderhalden, Cole, Hopkins, Osborne usw., insbesondere über die Bedeutung des Tryptophans für den Eiweißaufbau noch nicht weiter eingehen.

(Die Versuche siehe Seite 12 u. f.)

Versuch I. Fox, männlich (Lage von 0,5 g N als NH<sub>4</sub>Cl).

1 Ver- suchs- tag Nr.	2 Datum 1911	3 Ge- wicht in g	4 Tem- pera- tur ° C.	5 Zusammen- setzung der Nahrung	6 Flüssig- keits- zufuhr ccm	7 N-Ge- halt der Nah- rung g	8 Kalo- rien pro 1 kg	9 Zulagen zur Stand- kost	10 Urinmenge ccm	11 Reaktion des Urins vor Ver- aschung	12 N-Ge- halt des Urins g	13 N-Ge- halt des Kotes g	14 N-Bilanz pro die	15 N-Retention verglichen mit dem Mittelwert von Vor- und Nachperiode	16 Bemerkungen
1.—3.	2.—5. X.	10000	38,5	Hunger	nur wenig Wasser getrunken	0	—	—	—	—	—	—	—	—	Vorperiode I.
4.	5.—6.	9500	38,4	„	„	0	—	—	400 incl. Spül- wasser	sauer	1,76	—	—	—	
5.	6.—7.	9300	—	„	„	0	—	—	250	„	2,18	—	—	—	
6.	7.—8.	—	—	„	„	0	—	—	200	„	1,805	—	—	—	
7.	8.—9.	—	—	„	„	0	—	—	200	„	2,34	—	—	—	
8.	9.—10.	—	—	„	„	0	—	—	200	„	2,26	—	—	—	
9.	10.—11.	7200	38,6	125 g Weizenstärke + 30 g Rohrzucker + 10 g Butter + 5 Tr. Cibils Fleischextrakt + 3 g Kochsalz. Kaloriengehalt = 710 Kal.	350	0,0725	ca. 100 Kal.	0	200	„	1,86	—	—	—	Vorperiode II.
10.	11.—12.	—	—	do.	350	0,0725	„	0	225	„	0,971	0,048	— 0,946	Bei einer	
11.	12.—13.	—	—	„	350	0,0725	„	0	125	„	0,838	0,048	— 0,813	N-Einfuhr von	
12.	13.—14.	—	—	„	500	0,0725	„	0	210	„	0,802	0,048	— 0,777	0,0725 g N	
13.	14.—15.	—	—	„	500	0,0725	„	0	225	„	0,980	0,048	— 0,954	pro die	
14.	15.—16.	—	—	„	500	0,0725	„	0	?	„	?	0,048	?	wurden in den	
15.	16.—17.	7200	—	„	500	0,0725	„	0	?	„	?	0,048	?	letzten	An beiden Tagen
16.	17.—18.	—	—	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,741	0,048	— 0,716	3 Tagen im	etwas Urin verloren
17.	18.—19.	—	—	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,811	0,048	— 0,786	Durchschnitt	gegangen.
18.	19.—20.	—	—	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,85	0,048	— 0,825	0,849 g N	
19.	20.—21.	7200	38,9	„	500	0,0725	„	0,5 g N in Form von (NH <sub>4</sub> )Cl	200	„	1,23	0,096	— 0,753	Bei einer täg- lichen Zer- setzung von	Hauptperiode.
20.	21.—22.	—	—	„	500	0,0725	„	„	200	„	1,119	0,096	— 0,7319	0,8627 g N und	
21.	22.—23.	—	—	„	500	0,0725	„	„	200	„	0,752	0,096	— 0,275	einer Einfuhr	
22.	23.—24.	—	—	„	500	0,0725	„	„	250	„	1,001	0,096	— 0,524	von 0,5 g täglich	
23.	24.—25.	7200	38,7	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,851	0,050	— 0,828	werden pro die	
24.	25.—26.	—	—	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,84	0,050	— 0,817	1,121 g N aus- geschieden,	
25.	26.—27.	—	—	„	500	0,0725	„	0	200	„	0,821	0,050	— 0,898	d. h. 0,242 g N	
26.	27.	6720	38,8	—	—	—	—	—	—	„	—	—	—	retiniert = 50% der Einfuhr	Nachperiode.
														0,8763 g N	

## Versuch II. Hund, Ami,

Lage von 1,0 g N als  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Ver- suchs- tag Nr.	Datum 1911	Kör- per- ge- wicht in g	Tem- pera- tur °C	Zusammensetzung der Nahrung	Flüssig- keits- zufuhr	N- Gehalt der Nah- rung g	Ka- lorien pro 1 kg	Zulagen zur Standardkos.	Urin- menge ccm	Re- aktion des Urins vor Ver- aschung	N- Gehalt des Urins g	N- Gehalt des Kotes g	N- Bilanz pro die	N-Retention verglichen mit dem Mittelwert von Vor- und Nachperiode	Bemerkungen
1. -7.	8.—15. XI.	Anfangs- gewicht 7400	38,3°	Hunger	trank sehr wenig Wasser	0	0	0	—	—	—	—	—	—	Vorperiode I.
8.	15.—16.	—	—	letzter Hungertag	do.	0	0	0	60	sauer	3,546	—	—	—	
9.	16.—17.	5400	38,6°	150 g Stärke + 40 g Zucker + 3 g doppel- kohlensaures Natron + 5 g Butter + 50 ccm Bouillon + 10 Tr. Cibils Fleischextrakt 820 Kal.	500 ccm incl. Bouillon	0,1016	c. 150	0	104	„	2,735	0,041	—	In den letzten Tagen N-Ver- lust des Kör- pers pro die = 0,796 bei	Vorperiode II.
10.	17.—18.	—	—	do.	do.	0,1016	„ 150	0	150	„	1,268	0,041	— 1,207	= 0,796 bei	Etwas Durchfall.
11.	18.—19.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	550	„	0,963	0,041	— 0,902	Aufnahme von 0,1016 g pro die	„ (20 Tr. Tinct. opii)
12.	19.—20.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	200	„	0,546	0,041	— 0,485	pro die	„
13.	20.—21.	5100	—	„	„	0,1016	„ 150	1 g N in Form von $\text{NH}_4\text{Cl}$	535	„	1,128	0,106	— 0,132	Bei durch- schnittlicher Zersetzung	Hauptperiode I. Etwas Durchfall.
14.	21.—22.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	do.	375	„	1,101	0,106	— 0,105	von 0,758 g	1/3 Ampulle Pantopon subcutan.
15.	22.—23.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	305	„	1,575	0,106	— 0,439	und N-Einfuhr	Stuhl noch immer sehr dünn.
16.	23.—24.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	500	„	1,475	0,106	— 0,339	von 1,1016 g	„ „ „ „ „
17.	24.—25.	5070	—	„	„	0,1016	„ 150	„	560	„	1,891	0,106	— 0,895	werden täg- lich 1,528 g N	„ „ „ „ „ (1/3 Ampulle Pantopon)
18.	25.—26.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	Teil ver- gegangen	„	?	0,106	?	aus- geschieden	„ „ „ „ „
19.	26.—27.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	500	„	1,243	0,106	— 0,247	= + 0,23 g	Stuhl noch immer breiig, 2 × 10 Tropfen Opium.
20.	27.—28.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	380	„	1,670	0,106	— 0,674	retiniert, d. h.	Durchfall.
21.	28.—29.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	„	400	„	1,293	0,106	— 0,297	23% der Einfuhr	Breiiger Stuhl.
22.	29.—30.	5240	38,6°	„	„	0,1016	„ 150	0	350	„	0,843	0,0444	— 0,785	Im Durch- schnitt N-Ver-	Nachperiode I. Stuhl noch weiter durchfällig.
23.	30.—1. XII.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	270	„	0,294	0,0444	— 0,236	lust pro die	„ „ „ „ „ (10 Tropfen Opium).
24.	1.—2.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	500	„	0,777	0,0444	— 0,719	= 0,720 g	„ „ „ „ „
25.	2.—3.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	470	„	0,664	0,0444	— 0,606	bei 0,1016 g N	Stuhl noch etwas weich.
26.	3.—4.	—	—	„	„	0,1016	„ 150	0	510	„	0,801	0,0444	— 0,743	täglicher Auf- nahme	„ „ „ „ „

Versuch I									Versuch II						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Ver- suchs- tag Nr.	Datum 1911	Kör- per- ge- wicht in g	Tem- pera- tur °C	Zusammensetzung der Nahrung	Flüssig- keits- zufuhr	N- Gehalt der Nah- rung g	Ka- lorien pro 1 kg	Zulagen zur Standardkost	Urin- menge ccm	Re- aktion des Urins vor Ver- aschung	N- Gehalt des Urins g	N- Gehalt des Kotes g	N- Bilanz pro die	N-Retention verglichen mit dem Mittelwert von Vor- und Nachperiode	Bemerkungen
27.	4.—5. XII.	5000	38,4°	150 g Stärke + 40 g Zucker + 3 g doppelkohlensaures Natron + 5 g Butter + 50 ccm Bouillon + 10 Tr. Cibils Fleischextrakt = 820 Kal.	500 ccm incl. Bouillon	0,1016	c. 150	+ 5 g Fleisch (= 0,2383 g)	360	sauer	0,957	—	— 0,618	Von 0,3399 g täglicher N-Zufuhr werden täglich ca. 0,196 g ausgeschieden, d. h. ca. 40% retiniert	Hauptperiode II.  In dieser und den folgenden Perioden ist bei der N-Bilanz der N-Gehalt des Kotes nicht mit berücksichtigt.
28.	5.—6.	—	—	do.	do.	0,1016	> 150	do.	400	>	0,786	—	— 0,447		
29.	6.—7.	—	—	>	>	0,1016	> 150	>	290	>	0,821	—	— 0,482		
30.	7.—8.	—	—	>	>	0,1016	> 150	>	510	>	0,899	—	— 0,560		
31.	8.—9.	5000	37,9°	50 g Fleisch + 30 g Reis + 30 g kondensierte Milch = 336 Kal.	>	3,0714	67	—	75	>	0,921	—	+ 2,150		Hauptperiode III.
32.	9.—10.	—	—	do.	>	3,0714	67	—	200	>	2,0713	—	+ 1,001		
33.	10.—11.	—	—	>	>	3,0714	67	—	175	>	1,617	—	+ 1,454		
34.	11.—12.	—	—	>	>	2,9514	67	—	250	>	2,091	—	+ 0,860		
35.	12.—13.	—	—	>	>	2,9514	67	—	200	>	1,762	—	+ 1,189		
36.	13.—14.	—	—	>	>	2,9514	67	—	190	>	1,694	—	+ 1,257		
37.	14.—15.	5100	38,3°	50 g Fleisch + 30 g Reis + 30 g kondensierte Milch + 30 g Stärke = 459 Kal.	>	2,9676	92	—	260	>	1,892	—	+ 1,076		Hauptperiode IV.
38.	15.—16.	—	—	do.	>	2,9676	92	—	410	>	1,531	—	+ 1,437		
39.	16.—17.	—	—	>	>	3,1775	92	—	390	>	1,844	—	+ 1,740		
40.	17.—18.	—	—	>	>	3,1775	92	—	440	>	2,135	—	+ 1,044		
41.	18.—19.	—	—	>	>	3,1775	92	—	210	>	1,100	—	+ 2,477		
42.	19.—20.	—	—	>	>	3,1775	92	—	460	>	1,874	—	+ 1,303		
43.	20.—21.	—	—	>	>	3,374	92	—	350	>	1,608	—	+ 1,566		
44.	21.—22.	—	—	>	>	3,374	92	—	425	>	2,579	—	+ 0,795		
45.	22.—23.	—	—	>	>	3,374	92	—	320	>	1,026	—	+ 2,348		
46.	23.—24.	—	—	>	>	3,374	92	—	330	>	3,049	—	+ 0,325		
47.	24.	6500	38,6°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Der Hund kommt wieder in den Stall.

## Versuch III. Daisy, männlich (Fütterung mit Ammoniumcitrat).

1 Ver- suchs- tag	2 Datum 1911	3 Ge- wicht in g	4 Tem- pera- tur °C	5 Zusammensetzung der Nahrung	6 Kalo- rien pro kg Ge- wicht	7 N-Gehalt der Nahrung g	8 Zulagen zur Stand- nahrung	9 in- ge- m	10 Reaktion des Urins vor Ver- aschung	11 N-Ge- halt des Urins g	12 N-Ge- halt des Kotes g	13 N-Bilanz pro die	14 N-Bilanz in den einzelnen Versuchs- perioden	15 Bemerkungen
1.—6.	27. XI.—2. XII.	8200	38°	Hungerperiode, nur wenig Wasser getrunken	—	0	0	—	—	—	—	—	—	1. Vorperiode.
7.	3.—4. XII.	7000	38,6°	letzter Hungertag	—	0	0	44	sauer	5,100	—	—	—	Am 3. morgens katheteri- siert.
8.	4.—5.	—	—	160 g Weizenstärke + 40 g Rohrzucker + 5 g Butter + 15 Tr. Cibils Fleischextrakt + 2 g Kochsalz + 10 g Knochenmehl + 50 ccm Bouillon = ca. 860 Kal. Flüssigkeitsmenge = 500 ccm	ca. 120 Kal.	0,1156	0	66	—	0,953	0,0154	— 0,853	—	2. Vorperiode.
9.	5.—6.	—	—	do.	»	0,1156	0	100	»	0,891	0,0154	— 0,791	Tägliches N-Defizit des Körpers 0,8525 g.	
10.	6.—7.	—	—	»	»	0,1156	0	110	»	0,850	0,0154	— 0,750		
11.	7.—8.	—	—	»	»	0,1156	0	110	»	1,116	0,0154	— 1,016		
12.	8.—9.	6700	37,6°	» + 3 g Natrium bicar- bonicum statt 2 g NaCl	»	0,1156	1,936 g in Form citronen- saurer Ammonium-	100	»	2,224	0,020	— 0,192	—	Hauptperiode I (Fütterung mit großen Mengen Ammoniumcitrat.) Trockengewicht von Kot und Erbrochenem während Hauptperiode I und II 66 g.
13.	9.—10.	—	—	do.	»	0,1156	do.	70	»	2,646	0,020	— 0,614	Während	
14.	10.—11.	—	—	»	»	0,1156	»	50	»	2,268	0,020	— 0,236	der ganzen	
15.	11.—12.	—	—	»	»	0,1156	1,717 g in gleich- Form	110	»	2,130	0,020	— 0,317	Periode von 15 <sup>1)</sup> Tagen	
16.	12.—13.	—	—	»	»	0,1156	2,134 g in gleich- Form	110	»	1,673?	0,020	+ 0,557?	wurden von	Nahrung nicht gleich ge- fressen; N-Verlust möglich.
17.	13.—14.	—	—	»	»	0,1156	do.	80	»	1,544?	0,020	+ 0,686?	N-Einfuhr von 33,203 g	Nahrung nicht gleich ge- fressen; N-Verlust in der Nahrung möglich.
18.	14.—15.	—	—	»	»	0,1156	»	80	»	1,907	0,020	+ 0,323	0,790 g	—
19.	15.—16.	—	—	»	»	0,1156	1,716 g in gl. Form	50	»	1,517?	0,020	+ 0,295?	retiniert.	Wie am 17. XII.
20.	16.—17.	—	—	»	»	0,1156	do.	80	»	1,624	0,020	+ 0,188	—	—
21.	17.—18.	—	—	»	»	0,1156	»	80	»	1,795	0,020	+ 0,017	—	—

<sup>1)</sup> Die Tage, an welchen der Urinstickstoff mit einem Fragezeichen versehen sind nicht mitberücksichtigt.

## Versuch III

Fortsetzung.

1 Ver- suchs- tag	2 Datum 1911—1912	3 Ge- wicht in g	4 Tem- pera- tur	5 Zusammensetzung der Nahrung	6 Kalo- rien pro kg Ge- wicht	7 N-Gehalt der Nahrung g	Zu- satz zur Stan- dard- kost	10 Reaktion des Urins vor Ver- aschung	11 N-Ge- halt des Urins g	12 N-Ge- halt des Kotes g	13 N-Bilanz pro die	14 N-Bilanz in den einzelnen Versuchs- perioden	15 Bemerkungen.
22.	18.—19. XII.	7000	—	160 g Weizenstärke + 40 g Rohrzucker + 5 g Butter + 15 Tr. Cibils Fleisch- extrakt + 2 g Natr. bicar- bon. + 10 g Knochenmehl + 50 ccm Bouillon = 860 Kal. Flüssigkeitsmenge = 500 ccm	ca. 120 Kal.	0,1156	2,574 g in For- citron- saur- Ammon-	10 sauer	2,584	0,020	+ 0,086		Hauptperiode.
23.	19.—20.	—	—	do.	»	0,1156	do.	10	2,148	0,020	+ 0,522	d. h. pro die + 0,053 g	
24.	20.—21.	—	—	»	»	0,1156	2,585 g in gl. L.	10	2,774	0,020	— 0,093		Ziemlich viel erbrochen. etwas Durchfall.
25.	21.—22.	—	—	» Natr. bicar- bonic. fort- gelassen	»	0,1156	3,537 g	10	2,504	0,020	+ 1,129		Ein Teil der Nahrung erst am folgenden Tag gefressen.
26.	22.—23.	—	—	»	»	0,1156	1,768 g	14	1,545	0,020	+ 0,319		Stuhl noch breiig.
27.	23.—24.	—	—	»	»	0,1156	1,768 g	41	2,673	0,020	— 0,809		Kein Durchfall mehr, frist schlecht.
28.	24.—25.	—	—	»	»	0,1156	1,768 g	24	1,807	0,020	+ 0,057		Ein großer Teil der Nahrung am anderen Tag erst gefressen.
29.	25.—26.	—	—	»	»	0,1156	1,768 g	22	1,674	0,020	+ 0,210		II. Hauptperiode (wenig Ammoniumcitrat gefressen.)
30.	26.—27.	—	—	An diesen beiden Tagen wurde nur	ca. 80 Kal.	ca. $\frac{2}{3}$ der	1,655 g	10	1,531	0,020	— 1,191	Bei einer Ge- samteinfuhr von 5,804 g N werden	Der Hund frist an beiden Tagen im ganzen nur ca. $\frac{2}{3}$ der Nahrung. Durchfälle.
31.	27.—28.	—	—	ca. $\frac{2}{3}$ der Nahrung gefressen		bisherigen Menge täglich		10	1,287	0,020			
32.	28.—29.	6800	—	Wie vor dem 26. XII.	ca. 120 Kal.	wie vorher	0,884 g	16	0,681	0,020	+ 0,299		Stuhl noch durchfällig. wenig erbrochen.
33.	29.—30.	—	—	nur $\frac{419}{723}$ der Nahrung gefressen	ca. 70 Kal.	0,0670	0,5126 g	70	0,8392	0,020	— 0,279		8,044 g N aus- geschieden.
34.	30.—31.	—	—	Nahrung ganz gefressen	ca. 120 Kal.	0,1156	0,884 g	70	1,042	0,020	— 0,062		Verlust an N
35.	31.—1. I.	—	—	nur $\frac{525}{723}$ der Nahrung gefressen	ca. 90 Kal.	0,0836	0,639 g	20	1,159	0,020	— 0,456		täglich
36.	1.—2.	—	—	$\frac{405}{723}$ der Nahrung gefressen	ca. 90 Kal.	0,0792	0,6112 g	35	1,221	0,020	— 0,551		— 0,320 g.
37.	2.—3.	6700	—	Ganze Nahrung gefressen	ca. 120 Kal.	0,1156	—	20	0,7791	0,015 <sup>1)</sup>	— 0,678		Täglicher
38.	3.—4.	—	—	$\frac{423}{723}$ der Nahrung gefressen	ca. 70 Kal.	0,0670	—	50	0,3823	0,015	— 0,336		N-Verlust des
39.	4.—5.	—	—	Ganze Nahrung gefressen	ca. 120 Kal.	0,1156	—	0	0,4920	0,015	— 0,391		Körpers
40.	5.—6.	—	—	$\frac{608}{723}$ der Nahrung gefressen	ca. 100 Kal.	0,0969	—	20	0,4627	0,015	— 0,381		— 0,445 g
41.	6.—7.	6500	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Der Versuch wird weiter fort- gesetzt mit Ammoniumcitrat- fütterung.

<sup>1)</sup> Kot nach Vorperiode II berechnet.