

Über die Ameisensäure als Zwischenprodukt der tierischen Zuckerspaltung.

Von

Dr. O. Steppuhn, ehemal. Assistent des Instituts, und **Dr. H. Schellbach**.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Juli 1912.)

Für die hauptsächlich von Schade¹⁾ vertretene Ansicht, daß die Ameisensäure ein Zwischenprodukt der alkoholischen Hefegärung sei, haben nächst den Untersuchungen dieses Autors auch Versuche von Franzen und Steppuhn²⁾ neue Beweise erbracht. Die Befunde von Stoklasa³⁾ und seinen Schülern sprechen für die Annahme, daß der Zuckerabbau im tierischen Organismus auf dieselbe Weise erfolgt. Ohne auf die Einwände einzugehen, die diesen Arbeiten gemacht wurden, sei hier referiert, daß aus Preßsäften verschiedener tierischer Organe durch Ather-Alkoholfällung Fermente isoliert werden konnten, welche den Zucker abzubauen imstande sind, und zwar erfolgt der Abbau nach verschiedener Richtung, je nach dem ob bei Sauerstoffzutritt oder bei Sauerstoffabschluß gearbeitet wird. Im ersteren Falle wurden hauptsächlich Essigsäure und Ameisensäure gefunden, in geringerer Menge Wasserstoff, im zweiten Falle, und das scheint besonders wichtig zu sein, Alkohol und Kohlensäure. Vergleichen wir das Schema der Zuckergärung mit dem Schema dieser Stoklasaschen Ergebnisse, wie sie Schade⁴⁾ in seinem zitierten Buche aufstellt, so finden wir weitgehende Übereinstimmung.

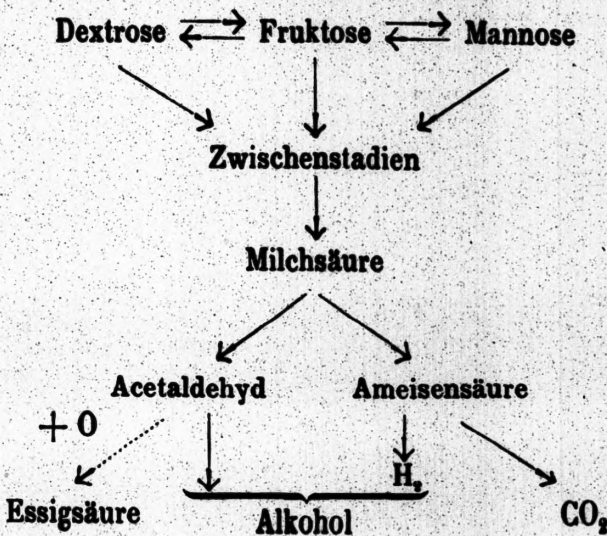
¹⁾ Schade, Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 57, S. 1, u. Bd. 60, S. 510.

²⁾ Franzen u. Steppuhn, Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 129.

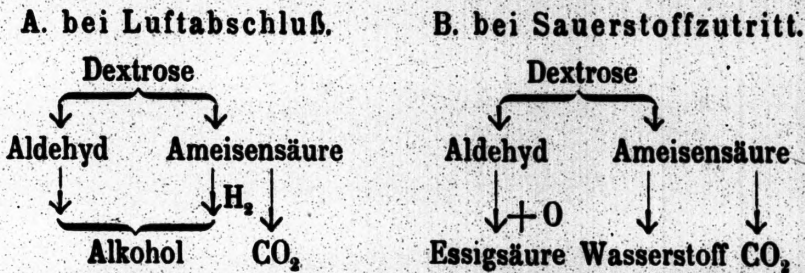
³⁾ Stoklasa, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 36, S. 4058.
Pflügers Archiv, Bd. 101, S. 311.

⁴⁾ Schade, Bedeutung der Katalyse für die Medizin, Leipzig 1908.

I. Schema der Gärungen nach Schade.



II. Schema der Gärungen nach Stoklasas Befunden.



Weiterhin haben die Untersuchungen von Wohl wie auch Buchner und Meisenheimer und Schade¹⁾ gezeigt, daß auch die Milchsäure ein Zwischenprodukt der Zuckergärung ist, und Schade nimmt an, daß sie weiter durch hydrolytische Spaltung in Acetaldehyd und Ameisensäure zerfällt. Nun ist aber die Milchsäure auch im tierischen Organismus gefunden worden und zwar hauptsächlich im ermüdeten Muskel; die Ameisensäure könnte also auch im letzteren Falle aus Glykogen als Bruchstück der hydrolytischen Spaltung der Milchsäure entstanden sein.

In der folgenden Untersuchung teilen wir Beobachtungen mit, welche die Annahme zu stützen geeignet sind, daß die Ameisensäure als Zwischenprodukt des tierischen Zuckerstoffwechsels anzusehen ist. Es war zu untersuchen,

¹⁾ Genaueres hierüber s. H. Schade, Bedeutung der Katalyse usw.

wie die Zuckerzufuhr auf die Ameisensäureausscheidung wirkt. Da aber die entstandene Ameisensäure selbst im Organismus noch weiterer Verbrennung unterliegt, so war, um die Größe der Ameisensäurebildung richtig einschätzen zu können, weiterhin auch der Grad ihrer Verbrennlichkeit festzustellen. Von diesen Gesichtspunkten aus wurden sowohl Autolyseversuche als auch Versuche am lebenden Tier ausgeführt.

Methodik.

Zur Bestimmung der Ameisensäure wurde die von H. Franzen und G. Greve¹⁾ ausgearbeitete Methode, eine Verbesserung der Methode Scalas in Kombination mit dem von F. Egger²⁾ angewandten Verfahren benutzt. Die freigemachte Ameisensäure wird mit Wasserdampf überdestilliert, das Destillat nach Zusatz von Phenolphthalein mit Natronlauge neutralisiert und je nach der Menge der zu vermutenden Ameisensäure mit 50 bis 100 ccm einer Lösung, die 200 g Sublimat, 300 g Natriumacetat und 80 g Kochsalz im Liter enthält, versetzt; darauf wird 4—5 Stunden im lebhaft siedenden Wasserbade erhitzt. Es tritt alsbald Reduktion des Sublimats zu Kalomel ein nach der Gleichung



Das Kalomel wird auf Gooch-Tiegeln abfiltriert, zuerst bei 100° und dann im Vakuumexsikkator getrocknet, gewogen und auf Ameisensäure umgerechnet.

Um die Ameisensäure aus den zu untersuchenden Organen oder im Harn aus ihren Salzen freizumachen, wird vor dem Destillieren ca. 10 ccm 50%iger Phosphorsäure und zum Verhindern des Schäumens bei eiweißreichen Flüssigkeiten ein wenig Tannin hinzugeben. Bei Destillation von Harn gehen öfters Substanzen über, die mit Sublimat eine flockig-weiße Fällung geben, welche nicht durch Ameisensäure bedingt ist. In solchen Fällen ist es gut, vor dem Filtrieren 20 ccm Salz-

¹⁾ H. Franzen und G. Greve, Diese Zeitschrift, Bd. 64.

²⁾ F. Egger, Inaug.-Dissert., Heidelberg 1911. Über die Vergärung der Ameisensäure in künstlichen Nährböden in Gegenwart von verschiedenen Zuckerarten und Aminosäuren.

säure hinzuzugeben, wodurch solche Niederschläge gelöst werden, Kalomel aber nicht. Methodische Versuche ergaben, daß sich das ganze Verfahren für die Bestimmung der Ameisensäure im Harn wie auch in Geweben vollkommen bewährt.

Zunächst mußte der Ameisensäuregehalt des Harnes der Versuchstiere (Hund, Kaninchen) und der Gesamtgehalt in ihren Geweben (Ratte) festgestellt werden, um die Veränderungen nach Ameisensäure- und Zuckerezufuhr studieren zu können. Die Tiere wurden immer katheterisiert, um Fäulnis des Harns auszuschließen und jeweils die genau 24stündige Menge zur Bestimmung zu verwenden. Die Nahrung der Kaninchen bestand aus Rüben, die Hunde bekamen täglich zur bestimmten Stunde 300 g Abfallfleisch. Im folgenden seien die Versuchsergebnisse mitgeteilt.

Tabelle I.

Hund. Gewicht: 6900 g.

I. Tag	200 ccm Harn	—	enthielt.	2,5 mg	Ameisensäure
II. »	108 »	»	»	1,4 »	»
III. »	310 »	»	»	4,0 »	»
IV. »	220 »	»	»	2,9 »	»

im Durchschnitt: 2,7 mg Ameisensäure.

Kaninchen. Gewicht: 2190 g.

	I. Tag	150 ccm Harn	—	enthielt.	3,8 mg	Ameisens.
	II. »	104 »	»	»	6,8 »	»
Durch- fall!	III. »	40 »	»	»	4,7 »	»
	IV. »	43 »	»	»	2,1 »	»
	V. »	64 »	»	»	6,2 »	»
	VI. »	110 »	»	»	7,5 »	»
	VII. »	175 »	»	»	4,5 »	»
	VIII. »	168 »	»	»	4,7 »	»

im Durchschnitt 5,0 mg Ameisens.

Die für das Kaninchen erhaltenen Werte stimmen mit den von Attilio Bonnani¹⁾ angegebenen überein. Beim

¹⁾ zit. nach Maly, Jahresberichte. 1908, Bd. 38, S. 1268.

Hunde fanden Pohl¹⁾ und Bonnani etwas größere Zahlen und zwar bis zu 9,9 mg.

Um die Menge der in den Geweben enthaltenen Ameisensäure zu bestimmen, wurden 2 Ratten 14 Stunden lang hungern gelassen, nachdem sie reichlich Kohlenhydrate (Brot) aufgenommen hatten; nach Verlauf dieser Zeit wurde der gesammelte Harn und der Körper nach Zerkleinerung in einer Wurstmaschine auf Ameisensäure untersucht.

Ratte I. Gewicht 135 g.	Harn	enthält	0,2 mg	Ameisensäure
	Körper	>	3,5 >	>
Ratte II. Gewicht 140 g.	Harn	>	0,3 >	>
	Körper	>	2,9 >	>

Das Verhältnis der Ameisensäuremenge in Harn und Geweben entspricht der Vorstellung, daß die Ameisensäure ein Zwischenprodukt des Stoffwechsels ist: im ganzen Körper ist die 10fache Menge Ameisensäure enthalten wie im Harn; ein Endprodukt hat man in den Ausscheidungen, ein Zwischenprodukt in den Geweben in größerer Menge zu erwarten.

Nach diesen notwendigen Voruntersuchungen sollte nun zunächst entschieden werden, ob bei erhöhtem Zuckerstoffwechsel die Menge der Ameisensäure im Harn steigt. Zu diesem Zwecke wurden Hunden und Kaninchen Glukoselösungen per os eingegeben und der 24stündige Harn auf Ameisensäure untersucht.

Tabelle II.

A. Hund, derselbe wie in Tab. I, S. 4 (er hatte in der Normalperiode bei Fleischkost ohne Glukose durchschnittlich 2,7 mg Ameisensäure ausgeschieden, vgl. Tab. I), bekommt pro Tag 150 g Abfallfleisch und 30 g Glukose.

I. Tag	145 ccm	Harn	enthalten	11,8 mg	Ameisensäure
II. >	110 >	>	>	12,6 >	>
III. >	175 >	>	>	13,2 >	>
IV. >	180 >	>	>	17,7 >	>

B. Kaninchen (schied in der Normalperiode bei gleichem Futter durchschnittlich 5,0 mg Ameisensäure aus, vgl. Tab. I) bekommt pro Tag 10 g Glukose zu dem üblichen Futter.

¹⁾ Pohl, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 1893, Bd. 31, S. 281.

I. Tag	105 ccm Harn	enthalten	5,0 mg	Ameisensäure
II. „	100 „	„	6,1 „	„
III. „	95 „	„	4,3 „	„

Vergleichen wir diese Zahlen mit den Normalzahlen, so sehen wir, daß die Ameisensäuremenge im Harn des Hundes nach Glukosezufuhr beträchtlich gestiegen ist; beim Kaninchen bleiben aber die Zahlen auf derselben Höhe wie in der Norm. Durch den Hunderversuch ist also ein Zusammenhang zwischen Glukosezufuhr und Ameisensäureausscheidung wahrscheinlich gemacht. Immerhin bleibt der Einwand noch offen, daß die Ameisensäure nicht durch den Abbau der Glukose in den Geweben, sondern durch bakteriellen Abbau im Darm entstanden ist.

Zur Ergänzung dieser Versuche über die Bildung von Ameisensäure aus Glukose wurde der Prozeß auch *in vitro* studiert. Die anfänglichen Vorversuche mit Katzenleber, Muskel und Blut à 20 g ergaben nach 4—5tägiger Autolyse bei 37° mit Zusatz von $\frac{1}{100}$ g Molekül Glukose die geringen Werte von 1—6 mg Ameisensäure im Autolysat; die Kontrolle mit reiner Glukoselösung ergab eine unwägbare Menge Kalomel, diejenige ohne Glykosezusatz ca. 0,3 mg. Da so kleine Werte für einen Vergleich ungeeignet erschienen, so machten wir die Versuche in etwas größerem Maßstabe. Es wurden entweder 1250 g frischer Rindsleber mit 250—500 g Quarzsand fein verrieben und von diesem Gemisch so viel für jede Autolyseprobe genommen, als 100 g Leber entsprach, dazu wurden je 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt und unter Toluol-schutz der Autolyse überlassen; oder es wurde aus demselben Leber-Quarzsandgemisch durch mehrmaliges Aufschwemmen mit physiologischer NaCl-Lösung ein Saft ausgedrückt, bis 2 l einer stark trüben Flüssigkeit, und davon zu jeder Autolyse 100 ccm verwandt. In der nächsten Tabelle sind auch 2 Versuche mit Katzenleber und Katzenmuskel angeführt; in diesem Falle wurden die Organgehäcksels aufs Doppelte mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Die erhaltenen Resultate seien in der folgenden Tabelle mitgeteilt.

Tabelle III.

Autolyse mit Glukosezusatz unter Toluolschutz bei 37°.

Organmaterial	Menge der zuge- setzten Glukose	Dauer der Autolyse	Menge der gebildeten HCOOH in mg
Preßsaft	$\frac{1}{100}$ g Mol.	10 Tage	12,1
„	do.	10 „	15,2
Leberbrei	„	10 „	28,0
„	„	10 „	33,0
„	„	10 „	25,0
„	„	10 „	27,0
51 g Katzenleber	$\frac{1}{50}$ g Mol.	5 „	21,0
70 „ Katzenmuskel	do.	5 „	10,3

Kontrollen:

$\frac{1}{100}$ g Molekül Glukose in 200 ccm 0,9%iger ClNa-Lösung unter Toluolschutz bei 37° nach 10 Tagen: keine HCOOH.

100 ccm Preßsaft allein unter Toluolschutz bei 37° nach 10 Tagen: 0,1 mg HCOOH.

100 g Leberbrei in 200 ccm 0,9%iger ClNa-Lösung unter Toluolschutz bei 37° nach 10 Tagen: 0,9 mg HCOOH.

Durch diese Versuche wird die bereits von anderen Autoren (s. o.) beobachtete Tatsache bestätigt, daß bei autolytischen Vorgängen unter Glukosezusatz sich Ameisensäure bildet. Die quantitative Bestimmung ergibt ziemlich große Werte, wenn man bedenkt, daß wir auch in diesem Falle nur diejenige Ameisensäure fixieren, welche gebildet und noch nicht weiter verbrannt ist. Weitere Versuche sollen diese Verbrennung im tierischen Körper behandeln.

Es haben bereits viele Autoren zeigen können, daß die subcutan oder per os eingegebene Ameisensäure nicht quantitativ im Harn wieder erscheint, sondern teilweise im Körper verbrannt wird.¹⁾ So weist C. Feig²⁾ darauf hin, daß durch Eingabe von Natriumformiat der Harn alkalisch und reich an Carbonaten wird, man findet 56—60% der zugeführten

¹⁾ Vgl. Schotten, Diese Zeitschrift, 1883, Bd. 7, S. 375.

²⁾ C. Feig, Compt. rend., Bd. 144, S. 386—88.

Ameisensäure im Harn als Carbonat wieder. Pohl¹⁾ erhielt von verfüttertem Formiat nur bis 18% im Harn von Hunden, Pellacani²⁾ etwa 12%. Bonnani, Huchard³⁾ und andere konnten die Verbrennbarkeit der Ameisensäure im Tierkörper ebenfalls konstatieren.

Um über die Menge und den Verlauf der Ausscheidung von sicher im Blut zirkulierender Ameisensäure quantitative Aufschlüsse zu erhalten, haben wir folgende Versuche mit intravenöser Zufuhr angestellt.

Versuch I. Kaninchen. Gewicht 2000 g intravenöse Injektion von 0,6761 g Ameisensäure als Natriumformiat in 25 ccm H₂O. Der Harn wird gesammelt und auf HCOOH untersucht.

6 Std. nach Injektion	—	38 ccm Harn enthält	0,1285 g HCOOH.
15 » » »	—	75 » » »	0,0147 » »
24 » » »	—	108 » » »	0,0061 » »

2. Injektion von 0,4774 HCOOH als Natriumformiat in 19 ccm H₂O, Injektionsdauer 25 Minuten.

4 Std. nach Injektion	—	75 ccm Harn enthält	0,1058 g HCOOH,
20 » » »	—	110 » » »	0,0114 » »
24 » » »	—	125 » » »	0,0047 » »

Wie wir sehen, ist also die Ausscheidung der Ameisensäure im Harn nach ca. 24 Stunden beendet, und zwar ist in dieser Zeit nur ein geringer Teil der intravenös injizierten Menge im Harn wiederzufinden; das Übrige müßte entweder noch im Körper enthalten oder, was wahrscheinlicher ist, bereits umgewandelt sein.

Weitere Versuche gingen darauf hinaus, zu zeigen, wieviel Ameisensäure nach intravenöser Injektion in den Organen zu finden ist.

Versuch II. Kaninchen. Gewicht 2300 g. Harn durch Dauerkatheter gewonnen; in die präparierte Halsvene 2,0284 g Ameisensäure als Natriumformiat (3,0 g Natriumformiat) injiziert. Dauer

¹⁾ Pohl, Archiv f. exp. Pathol. und Pharmakol. 1893, Bd. 31, S. 281, vgl. auch Spiegelberg, ebenda 1898, Bd. 41, S. 428.

²⁾ Pellacani, zit. nach Pohl a. a. O.

³⁾ A. Bonnani, zit. nach Maly, 1905, Bd. 35, S. 120.

H. Huchard, zit. nach Maly, 1906, Bd. 36, S. 303.

der Injektion 60 Minuten. 30 Minuten nach Ende der Injektion Verblutung.

68 g Leber	enthielten	0,0176 g HCOOH
65 » Blut	»	0,0551 » »
210 » Harn	»	0,6299 » »

Auf die ganzen Organe berechnet Prozentuale Verteilung

Leber	— 0,0177 g HCOOH	0,87%
Blut	— 0,1378 » »	6,79%
Harn	— 0,6299 » »	31,05%

Resultat: Schnelle Ausscheidung im Urin; das Blut enthält weit mehr als die Leber.

Versuch III. Kaninchen. Gewicht 1800 g, dieselbe Versuchsanordnung wie in Versuch II. Injektionsdauer 30 Minuten; Verblutung 30 Minuten nach Ende der Injektion.

40 g Blut	enthielten	0,0535 g HCOOH
25 » Leber	»	0,0132 » »
16 » Niere	»	0,0222 » »
47 » Muskel	»	0,0230 » »
105 ccm Harn	»	0,4919 » »

Auf die ganzen Organe berechnet Prozentuale Verteilung

Blut	— 0,1506 g HCOOH	7,42%
Leber	— 0,0264 » »	1,30%
Nieren	— 0,0222 » »	1,09%
Muskel	— 0,4919 » »	18,84%
Harn	— 0,3822 g »	24,25%

Resultat: Auch hier schnelle Ausscheidung im Urin; am meisten enthalten Blut und Muskulatur.

Versuch IV. Kaninchen. Gewicht 1950 g. Injektionsdauer 30 Minuten. Verblutung 60 Minuten nach Ende der Injektion; sonst wie im vorigen Versuch.

28,5 g Blut	enthielten	0,0311 g HCOOH
26,0 » Leber	»	0,0135 » »
9,5 » Niere	»	0,0079 » »
24 » Muskel	»	0,0142 » »
79,5 » Dünndarm	»	0,1390 » »
205 ccm Harn	»	0,6916 g »

Auf die ganzen Organe berechnet		Prozentuale Verteilung
Blut	— 0,1495 > HCOOH	7,37 %
Leber	— 0,0271 > >	1,34 %
Nieren	— 0,0079 > >	0,39 %
Muskel	— 0,5023 > >	24,76 %
Dünndarm	— 0,1390 > >	6,85 %
Harn	— 0,6916 > >	34,10 %

Resultat: Schnelle Ausscheidung also im Urin; beträchtliche Mengen in der Muskulatur, Blut und Darm.

Versuch V. Hund. Gewicht 11 kg. Zur Harnaufsammlung Einführung von Ureterenkanülen. Injektion in die präparierte Halsvene 3,0430 g HCOOH als Natriumformiat (4,5 g Natriumformiat).

Dauer der Injektion 30 Minuten. Verblutung 40 Minuten nach Ende der Injektion.

120 ccm Harn	enthielten	0,4570 g HCOOH
200 g Blut	>	0,0927 >
56 > Muskel	>	0,0093 >

Auf die ganzen Organe berechnet		Prozentuale Verteilung
Harn	— 0,4570 g HCOOH	15,37 %
Blut	— 0,3577 > >	11,76 %
Muskel	— 0,8124 > >	26,70 %

Resultat: Relativ geringe Ausscheidung im Urin; beträchtliche Mengen in Blut und Muskulatur.

Aus diesen Verteilungsversuchen geht zur Genüge hervor, daß die Ameisensäure nach intravenöser Injektion vom tierischen Körper reichlich verbrannt wird. Der Verlust an nicht wiedergefundener Ameisensäure beträgt für 1- bis 1½ stündige Versuchsdauer bei Kaninchen (Vers. III und IV) etwa ein Drittel, beim Hund für 1¼ Stunden (Vers. V) etwa die Hälfte der injizierten Menge. Um aber einen letzten Einwand aus dem Wege zu räumen, daß nämlich der Verlust an Ameisensäure in obigen Versuchen daher stammen könnte, daß nicht alle Organe und Organflüssigkeiten untersucht worden sind, unternahmen wir eine Reihe von Versuchen an Ratten, welche wir

in toto verarbeitet haben. Es wurde Ratten Ameisensäure als Natriumformiat subcutan injiziert und zwar 0,1 g Ameisensäure pro 100 g Körpergewicht. Nach Verlauf von ca. 14 Stunden, während welcher die Ratten hungerten, wurden die Tiere getötet und in einer Wurstmaschine zerkleinert und die Maschine mit heißem Wasser sorgfältig ausgespült; dazu wurde der im Verlaufe der 14 Stunden gelassene Harn zugegeben und das Ganze auf Ameisensäure untersucht.

Tabelle IV.

Nach 14 Stunden verschwundene Ameisensäuremenge bei subcutaner Injektion an Ratten.

Rattengewicht	Injizierte Menge Ameisensäure	Wiedergef. Menge Ameisensäure	Ver- schwun- den in %	
g	g	g		
132	0,1400	0,05369	62,19	Im Mittel ver- schwunden = 46,62%
64	0,0600	0,02762	54,31	
63	0,0600	0,04572	24,87	
65	0,0650	0,03173	51,87	
62	0,0600	0,03659	39,87	

Aus diesen Vorversuchen in Tab. IV geht hervor, daß mindestens etwa 50% der subcutan injizierten Ameisensäure nach 14 Stunden verbrannt ist. Da aber auch die im Harn und Darm wiedergefundene und die geringe im Rattenkörper normal befindliche Menge Ameisensäure hier als wiedergefunden in Rechnung gestellt ist, so lassen diese Versuche noch keinen ganz genauen Einblick zu; der tatsächliche Wert der Verbrennung ist sicher größer.

Es wurde deshalb in weiteren Rattenversuchen nicht bloß die Gesamtmenge der Ameisensäure in Geweben + Ausscheidungen bestimmt, sondern es wurden die verschiedenen Anteile dieser Größe, d. h. die Ameisensäure in den Geweben und die Ameisensäure in den Ausscheidungen (Darm und Harn) gesondert ermittelt. Wenn man die Gesamtmenge der so im Harn und Darm gefundenen Ameisensäure abzieht von der injizierten Menge, so bleibt als Rest die Ameisensäure, die den Geweben

tatsächlich zur Verbrennung zur Verfügung gestanden hat; berechnet man dann, wieviel Prozent der nicht ausgeschiedenen Ameisensäuremenge zerstört sind, so erhält man eine Vorstellung von der tatsächlichen Größe der Verbrennung. Die Resultate solcher Versuche sind in Tabelle V wiedergegeben; wie man sieht, erhöht sich bei diesen Versuchen der Mittelwert der Ameisensäureverbrennung bei 14stündigen Versuchen von 45,57% auf 79,8% und bei 4stündigen Versuchen von 33,78% auf 75,2%. Diese Werte würden noch etwas größer ausfallen, wenn man die allerdings geringen Mengen der normalerweise im Körper vorhandenen Ameisensäure (vgl. S. 278) in Rechnung zöge. Sie zeigen aber deutlich, daß schon nach wenigen Stunden der größere Teil (ca. 75%) der zugefügten Ameisensäure als solche nicht mehr nachweisbar, somit also wahrscheinlich verbrannt worden ist.

Tabelle V.

Verteilung subcutan injizierter Ameisensäuremengen im Körper, Darm und Harn von Ratten nach 14 und 4 Stunden.

Versuch-Nr.	Körpergewicht g	Injizierte Menge Ameisensäure g	Wiedergefunden im			Im ganzen verschwunden %	Von dem nicht ausgeschiedenen Anteil verschwunden in %	
			Darm g	Harn g	Körper g			
I	130	0,1014	0,0044	0,0347	0,0198	41,91	68,0	} Nach 14 Std. getötet
II	200	0,1521	0,0026	0,0763	0,0167	37,23	77,2	
III	167	0,1268	0,0031	0,0544	0,0061	49,88	91,0	
IV	130	0,1014	0,0016	0,0427	0,0096	46,74	83,0	
Im Durchschnitt						45,57	79,8	
V	155	0,1268	0,0037	0,0768	0,0111	27,81	76,0	} Nach 4 Std. getötet
VI	225	0,1775	0,0048	0,0780	0,0242	39,75	74,4	
Im Durchschnitt						33,78	75,2	

Als Ergänzung seien einige in vitro-Versuche mitgeteilt, die die fermentative Verbrennbarkeit der Ameisensäure beweisen sollen. Nach dem oben (S. 279) dargelegten Verfahren wurde ein Leberpreßsaft hergestellt und 200 ccm davon unter Toluolschutz und Zusatz von je $\frac{1}{100}$ g Mol. Natriumformiat für 10 Tage bei 37° der Autolyse überlassen.

Kolben	I	wiedergefunden:	97,7%	der	zugesetzten	Menge	HCOOH
›	II	›	91,8%	›	›	›	›
›	III	›	93,5%	›	›	›	›
›	IV	›	92,0%	›	›	›	›
		im Mittel =	93,8%	›	›	›	›

Die Versuche sprechen also für eine, allerdings nur sehr geringe fermentative Einwirkung des Preßsaftes.

Somit haben unsere Versuche in Ergänzung der bisherigen Befunde das normale Vorkommen der Ameisensäure in den Geweben und das Verhältnis zu der in den Harn ausgeschiedenen Ameisensäure festgestellt; sie konnten für den Hund die Zunahme der Ameisensäureausscheidung nach Glukosezufuhr beweisen und durch den Nachweis der hohen Verbrennlichkeit der Ameisensäure erklären, warum trotz der Größe des Kohlenhydratstoffwechsels die Ameisensäureausscheidung doch gering ist. Vielleicht erklärt die rasche Verbrennung der Ameisensäure auch, warum am Kaninchen nach Glukosezufuhr keine Steigerung der Ameisensäureausscheidung eintritt. Die Autolyseversuche mit Leberbrei ergaben, daß aus Glukose geringe Mengen Ameisensäure gebildet werden, daß aber anderseits auch Ameisensäure bei der Autolyse zerstört wird.

Die Resultate sprechen für die Annahme, daß der Zucker im tierischen Organismus über Ameisensäure abgebaut wird.

