

Richtigstellung der von E. Grafe der Arbeit von E. Grafe und K. Turban «Über Stickstoffretention bei Fütterung von Harnstoff» angefügten Anmerkung.¹⁾

Von

Emil Abderhalden und Arno Ed. Lampé.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Januar 1913.)

Wer die Antwort E. Grafes auf unsere Kritik seiner Untersuchung am Hunde Daisy ohne Kenntnis der tatsächlichen Grundlagen liest, muß auf die Vermutung kommen, daß Lust an Polemik diese veranlaßt hat. Aus diesem Grunde sei kurz hervorgehoben, daß wir zu einer Stellungnahme zu den Versuchsergebnissen Grafes gezwungen waren, weil er seine Ergebnisse im Sinne einer Eiweißsynthese aus Ammoniak und Kohlenhydraten deutete. Diesen Schluß konnte Grafe selbstverständlich nur aus seinen sehr günstigen bis positiven Stickstoffbilanzen ableiten. Da wir selbst in unseren umfangreichen und zahlreichen Versuchen keine so günstigen täglichen Stickstoffbilanzen erhielten und der Ansicht sind, daß die verabreichten Kohlenhydratmengen jedenfalls in mehreren dieser Versuche bei weitem ausreichen, so mußten wir, nachdem uns Bedenken über die Art der von Grafe gewählten Versuchsanordnung und der von ihm durchgeführten Bestimmung der Stickstoffbilanz gekommen waren, diese notwendigerweise auch öffentlich darlegen. Leider hat Grafe in seiner Erwiderung sich nicht an die Tatsachen gehalten, sondern ohne jede Grundlage Vorwürfe konstruiert, die wir im folgenden an Hand der vorliegenden Arbeiten²⁾ zurückweisen.

¹⁾ E. Grafe und K. Turban, Diese Zeitschrift, Bd. 83, S. 32, 1913.

²⁾ E. Grafe und V. Schläpfer, Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 1—21 (1912). — Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 1—27 (1912). — E. Grafe, Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 485—510 (1912). — Emil Abderhalden und Paul Hirsch, Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 136—159 (1912). — Emil Abderhalden und Arno Ed. Lampé, Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 160—174 (1912). — Emil Abderhalden und Paul Hirsch, Diese Zeitschrift Bd. 81, S. 323—328 (1912); Bd. 82, S. 1—20 (1912). — Emil Abderhalden und Arno Ed. Lampé, Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 21—95 (1912). — E. Grafe, Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 347 bis 376 (1912).

Grafe und Schläpfer¹⁾ schrieben Seite 9 ihrer ersten Arbeit auf diesem Gebiete: «Uns scheinen im wesentlichen drei Auffassungsmöglichkeiten zur Diskussion zu stehen.» «3. Der Organismus selbst hat aus dem Ammoniak und den im Überschuß vorhandenen kohlenhydratartigen Gruppen synthetisch Eiweiß aufgebaut.» Seite 10 dieser Arbeit wird diese Ansicht als die plausibelste hingestellt. «Nach der bisherigen Lage der Dinge halten wir die zuletzt skizzierte Deutung für die richtige».

Im Sinne einer Eiweißsynthese aus Kohlenhydraten und Ammoniak, ja selbst unter Verwendung von Harnstoff und Salpeter hat Grafe seine Versuchsergebnisse in einem auf dem Kongreß für innere Medizin gehaltenen Vortrage²⁾ gedeutet, wenigstens sagt Grafe S. 513, nachdem er die Schwierigkeiten besprochen hat, die der Annahme einer Eiweißsynthese aus den genannten Stoffen noch entgegenstehen: «Aber trotzdem ist es nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse meines Erachtens schwer, den Ihnen geschilderten Versuch anders zu deuten, falls man nicht die ganze synthetische Arbeit den Darmbakterien zuschreiben will» usw.

E. Grafe erklärt nun Seite 348 einer neueren Arbeit³⁾ folgendes: «Es ist daher nicht ganz zutreffend, wenn Abderhalden in seiner Arbeit mit A. Lampé schreibt, ich sei geneigt, die von mir beobachtete Stickstoffretention im Sinne einer Verwertung des zugeführten Ammoniaks zur Bildung sämtlicher dazu nötigen Aminosäuren zu deuten.»

In der erwähnten Anmerkung behauptet Grafe, daß wir seine Versuche mit Argumenten kritisieren, die sich in ganz ähnlicher Weise gegen einen Teil der im hiesigen Institut ausgeführten Versuchsreihen erheben lassen. Wir müssen diese Behauptung auf das entschiedenste zurückweisen. Am übersichtlichsten läßt sich die Art und Weise, wie Grafe vorgeht, durch Gegenüberstellung der einzelnen Stellen dartun.

S. 487⁴⁾ schreibt Grafe: «Der Hund bekam stets die Gesamtmenge vorgesetzt, der nicht immer gefressene Rest wurde, wenn er klein war, zum Futter des folgenden Tages hinzugenommen, wenn er größer war, zurückgewogen und aus der Differenz zwischen Anfang- und Endgewicht der stets gleichmäßig durchgemischten Nahrung die Menge der aufgenommenen Kalorien und des aufgenommenen Stickstoffs bestimmt». Allerdings steht in dem gleichen Abschnitt weiter oben: «Das Ganze wurde in 450 ccm Wasser zu einer feinen etwas nach Fleischbrühe riechenden und schmeckenden Emulsion verrührt und in 4–6 Portionen dem Hunde dargereicht» usw.

¹⁾ l. c.

²⁾ E. Grafe, Zur Frage der Eiweißsynthese bei Fütterung von Ammoniaksalzen. Verhandl. des deutschen Kongresses für innere Medizin, S. 507, 1912.

³⁾ l. c., Bd. 82.

⁴⁾ l. c., Bd. 78.

In seiner Anmerkung schreibt Grafe S. 33, wir hätten angenommen, er habe dem Hunde die Nahrung auf einmal vorgesetzt. «Das war selbstverständlich nicht der Fall und damit fällt der Einwand, daß durch Verdunstung ein erheblicher Fehler für die N-Bestimmung im Rest entstehen konnte, fort.»

Unser Einwand besteht auch dann zu Recht, wie wir experimentell bewiesen haben, wenn, wie Grafe ausdrücklich angibt, das Futter auf einmal bereitet und dann dem Hunde portionsweise vorgesetzt wurde. Ob das Futter dauernd in seiner Gesamtheit im Käfig stand oder nicht, ist ganz gleichgültig. Niemand außer Grafe wird uns einen Vorwurf daraus machen können, wenn wir uns an die von ihm angegebenen Daten halten. Wenn er nun schreibt, daß das auf S. 487¹⁾ Mitgeteilte den Tatsachen nicht entspricht, dann ist es Sache Grafes, seine irrtümlichen Angaben richtig zu stellen.

Seite 33 seiner Anmerkung schreibt Grafe: «Analog wie Abderhalden selbst in den zuerst mitgeteilten Versuchen habe ich an den Tagen, an welchen die Nahrung nicht quantitativ gefressen wurde, aus dem Gewicht der Gesamtnahrung und des Restes sowie dem Gehalt der Gesamtnahrung an Stickstoff die Menge des gefressenen Stickstoffs berechnet. Gegen diese von ihm selbst geübte Methode der indirekten N-Bestimmung bringt Abderhalden eine Reihe von Bedenken vor, die sich zum Teil auf theoretische Erwägungen, teils auf die Ergebnisse ad hoc angestellter Versuche beziehen. . . »

Es ist uns ganz unerklärlich, wie Grafe zu einer derartigen ungeheuerlichen Behauptung kommt. In keinem einzigen Falle ist eine Stickstoffbestimmung der zugeführten Nahrung auf Grund des Gewichtes der Gesamtnahrung und desjenigen des Restes ausgeführt worden. In einem einzigen Falle,²⁾ den aber Grafe sicher nicht meint, wurde an 13 Tagen der Versuch gemacht, neben der stickstoffhaltigen festen Nahrung durch Vorsetzung von ammonacetathaltigem Wasser die Aufnahme von Stickstoff in Form von Ammonacetat zu steigern. Diese Lösung von Ammonacetat war exakt abgemessen und der Stickstoffgehalt genau bestimmt. Sie stand nur wenige Stunden im Käfig. Durch Abmessen wurde die verbliebene Menge Flüssigkeit festgestellt. Es ist klar, daß der vereinzelte Fall, bei dem es sich um eine Flüssigkeit von bestimmtem Stickstoffgehalt handelt, nicht der von uns als unzulänglich angesehenen Art der Bestimmung der Stickstoffbilanz von seiten Grafes an die Seite gestellt werden darf. — **Grafes Angabe, daß im hiesigen Institut der «gefressene» Stickstoff in manchen Fällen auch indirekt durch Zurückwiegen**

¹⁾ l. c., Bd. 78.

²⁾ l. c., Bd. 78, S. 25.

nicht gefressener stickstoffhaltiger Nahrung bestimmt worden sei, entbehrt somit jeder tatsächlichen Grundlage.

Seite 34 und 35 seiner Anmerkung bemerkt Grafe in einer Fußnote, daß auch wir ähnlich günstige Resultate bei der Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Flüssigkeit in dem oben erwähnten Falle erhalten hätten. Damit will Grafe offenbar zum Ausdruck bringen, daß auch seine Bestimmungen exakt waren. Es ist jedoch klar, daß die Verhältnisse bei einer Flüssigkeit ganz anders liegen, als bei einem heterogenen Futtergemisch. Übrigens ist die Annahme, daß wir bei der Abmessung von Teilen des nach Grafe hergestellten Futtergemisches uns eines Meßzylinders bedient hätten, selbstredend unrichtig. Wir haben das fein emulgierte Nahrungsgemisch mit einer genauen Pipette aufgenommen.

Seite 35 schreibt Grafe: «Der beste Beweis dafür, wie unberechtigt alle diese Einwände von Abderhalden sind, ist die Tatsache, daß er unabhängig von mir in einer langen Versuchsreihe, die er bisher nicht als fehlerhaft zurückgenommen hat, genau das gleiche Resultat bekommen hat, wie ich in dem von ihm angegriffenen Versuche.»

Die Bemerkung, daß wir von uns mitgeteilte Versuche noch nicht als fehlerhaft zurückgenommen haben, könnte leicht den Anschein erwecken, als wären Fehler wirklich vorhanden. Wir wollen annehmen, daß Grafe diesen leicht mißzuverstehenden Satz selbst klarstellt.

Würde man die im oben zitierten Satze ausgesprochene Logik Grafes auf die Spitze treiben, dann käme man zu dem Schlusse, daß es weniger darauf ankommt, irgend ein Problem durch peinlich exakt durchgeführte Versuche zu erforschen, sondern vielmehr auf die Aufstellung von Behauptungen, die sich schließlich als richtig erweisen. Tatsächlich ist eine solche Art der Bewertung von Arbeiten auf dem Gebiete der Medizin sehr verbreitet. Analoge Fälle sind auf dem Gebiete der exakten Naturwissenschaften ganz unmöglich. Es ist zu hoffen, daß in Zukunft die Art und Weise, wie ein bestimmtes Problem wirklich gelöst wird, mehr berücksichtigt werden wird, als die gezogenen Schlußfolgerungen oder gar einmal ohne jede experimentelle Grundlage geäußerte Ideen. Will man den sog. geistreichen Ideen eine so große Bedeutung beimessen, dann hätte jeder Forscher nichts Eiligeres zu tun, als möglichst rasch alle seine Gedanken zu veröffentlichen. Diejenigen Ideen, die sich später als Niete erweisen, versinken in aller Stille, ist aber dann ein solcher Gedankengang von anderer Seite auf Grund jahrelanger exakter, oft sehr mühseliger Experimente als richtig bewiesen, dann ist es an der Zeit, die Priorität anzusprechen! Es wäre ein großes Glück für die ganze Entwicklung unserer Wissenschaft, wenn ausschließlich experimentell begründete und einwandfrei bewiesene Ideen als feststehende Grundlagen angesehen würden und die Bedeutung des exakt durchgeführten Versuches volle Anerkennung finden würde. Von diesen Gesichts-

punkten aus wird man auch dann Versuchsanordnungen kritisieren dürfen und müssen, wenn sie zu den gleichen Resultaten führen, wie ein exakt durchgeführter Versuch. Nach unseren Erfahrungen ist es ganz unstatthaft, Stoffwechselversuche unter die Kontrolle von Laien zu stellen. Solche Versuche brauchen die volle Arbeitskraft eines Forschers, soll er selbst auf seine Resultate schwören können.

Weiterhin schreibt Grafe: «Auch Abderhalden gibt zu, daß diese Periode allen Anforderungen an Exaktheit genügt.» Dieser Passus bezieht sich auf eine Periode von 15 Tagen in Grafes Versuch am Hunde Daisy,¹⁾ die in Wirklichkeit sich nicht direkt folgen. Es ist wohl allgemeiner Usus, daß man nur dann Perioden mit einer bestimmten Anzahl von Tagen angibt, wenn sich diese ohne Unterbrechung aneinanderreihen. Wir sagen von dieser Periode S. 35²⁾ folgendes: «Wir haben bei der Nachrechnung dieser wichtigen, weil einzigen einigermaßen einwandfreien Periode das folgende Resultat erhalten.» Daraus leitet Grafe ab, daß wir diese Periode als allen Anforderungen an Exaktheit genügend betrachten!

Grafe ist nicht damit einverstanden, daß wir von seiner «15-tägigen» Periode die letzten sechs Tage streichen. Diese Tage tragen folgende Vermerke: 24. Tag: Ziemlich viel erbrochen (Grafe schreibt allerdings in seiner Anmerkung, Seite 35, in der Fußnote 3: «Die Mengen des Erbrochenen waren stets sehr geringfügig»), etwas Durchfall. 25. Tag: Ein Teil der Nahrung erst am folgenden Tage gefressen. 26. Tag: Stuhl noch breiig. 27. Tag: Kein Durchfall mehr, frist schlecht. 28. Tag: Ein großer Teil der Nahrung am anderen Tage erst gefressen. 29. Tag: Etwas Erbrechen und Durchfall. Gerade in dieser gewiß nicht einwandfreien Periode findet sich nun neben positiven Bilanzen geringfügigerer Art eine ganz beträchtliche von + 1,129 g N und zwar findet sich diese an dem Versuchstage, an dem das Tier die Nahrung nur zum Teil aufgenommen hat. Am Tage vorher hatte es ziemlich viel oder nach der neuen Angabe «sehr geringfügig» gebrochen.

Nun gibt Grafe neuerdings an, daß das Erbrochene mit dem Kot verarbeitet wurde, und zwar wurde der Kot dieser ganzen Periode von 18 Tagen zusammen mit einer dieser folgenden Periode von zusammen 7 Tagen analysiert. Die ersten zwei Tage dieser 7-tägigen Periode sind, wie folgt, charakterisiert: «Der Hund frist an beiden Tagen nur ca. $\frac{2}{3}$ der Nahrung, Durchfälle». Am dritten Tage heißt es: «Stuhl noch durchfällig, wenig erbrochen». Der Kot und das Erbrochene dieser ganzen Periode von 25 Tagen ergaben ein Gewicht von 137 g feucht = 75 g trocken. Der Gesamtstickstoff betrug 0,50 g, das ergibt auf die ganze Periode verteilt 0,02 g Kotstickstoff pro Tag. Diese Art der Stickstoff-

¹⁾ l. c., Bd. 78, S. 503—505.

²⁾ l. c., Bd. 82.

bilanzberechnung sollten wir nun als allen Anforderungen an Exaktheit entsprechend bezeichnet haben! Macht sich die Unexaktheit, die doch fast jeder Durchfall — es sei denn, daß man sofort den Kot quantitativ aus dem Käfig herausspüle und den Stickstoff des Spühlwassers und des Kotes feststelle — und das Erbrochene bedingen, über die ganze große Periode geltend!

Wir sind der Ansicht, daß E. Grafe unter diesen Umständen tägliche Stickstoffbilanzen gar nicht aufstellen durfte. Ebenso summarisch, wie er den Kot behandelte, hätte Grafe die Stickstoffbilanzen periodenweise mitteilen müssen, besonders auch deshalb, weil er wiederholt die an einem Tage gegebene Nahrung entweder infolge unvollständiger Aufnahme oder infolge Zugabe eines verbliebenen Restes nicht genau kannte. Besonders befremdend wirkt die Tatsache, daß Grafe Perioden abgrenzt, bei denen der Stickstoffgehalt von Kot und Erbrochenem aus anderen Perioden in Anrechnung kommt. Bemerkt sei noch, daß der oben erwähnten 7 tägigen Periode eine solche von 5 Tagen folgt, bei der der Kot überhaupt nicht analysiert, sondern dessen Stickstoffgehalt berechnet wurde. Es heißt Seite 507 «der Kot ist nicht analysiert, sondern auf Grund der gleich angelegten Vorperiode II berechnet». Würde Grafe versuchen, seinen Stoffwechselfersuch am Hunde Daisy entsprechend den üblichen Anforderungen, die man an jeden Stoffwechselfersuch stellen muß, in Perioden abzugrenzen, so würde er, wie wir, bald finden, daß exakte Bilanzen unmöglich sind. Nur durch die in vielen Fällen recht unsicheren täglichen Stickstoffbilanzen erhält die Arbeit Grafes ein scheinbar exaktes Gepräge.

Wie aus dem Mitgeteilten hervorgeht, hat Grafe unsere rein sachlichen Einwände gegen die Art und Weise, wie er seine Stoffwechselfersuche durchgeführt hat, in keiner Weise entkräftigt. Wir können Grafe nicht folgen, wenn er glaubt, daß nunmehr, nachdem er seine Resultate in gleicher Art, wie auch wir, deutet, kein Grund mehr zur Kritik an seiner Methodik vorhanden sei. Wir betrachten es als den einzigen Gewinn der gemeinsamen Bearbeitung der gleichen Fragestellung, daß zurzeit von einer direkten Eiweißsynthese aus Ammoniak und Zucker nicht mehr die Rede ist und den experimentellen Daten entsprechend nur die sicher festgestellte Stickstoffretention nach Zufuhr von Ammonsalzen in ihrer Bedeutung für den Eiweißstoffwechsel zur Diskussion steht. Auf dieser Basis, die auch sonst mit allen bisherigen übrigen Befunden auf dem Gebiete des Eiweiß- und Stickstoffstoffwechsels im Einklang steht, wird man sicher bald in den Mechanismus der ganzen Stickstoffretention einen Einblick erhalten.

Anmerkung bei der Korrektur: Auf eine briefliche Anfrage teilt E. Grafe mit, daß er mit der Seite 33 der oben erwähnten Anmerkung aufgestellten Behauptung, der eine von uns habe aus dem Gewicht der Gesamtnahrung und des verbliebenen Restes, sowie dem Gehalt der Gesamtnahrung an Stickstoff die Menge des gefressenen Stickstoffs

berechnet, jene Periode meine, in der, wie schon oben angegeben wurde, Ammonacetat in Lösung gegeben wurde.

Gegen Grafes Darstellung müssen wir scharfen Protest erheben. Sie entspricht nicht den Tatsachen. **Es handelt sich erstens um eine einzige Periode in einem einzigen Versuche.** Grafe schreibt dagegen: «Analog wie Abderhalden selbst in den zuerst mitgeteilten Versuchen.¹⁾ Es wird der Anschein erweckt, als handle es sich um mehrere Versuche. **Bei der erwähnten Periode ist niemals das Gewicht der Gesamtnahrung und des Restes bestimmt worden.** Es findet sich in der Tabelle, die den betreffenden Versuch wiedergibt, folgende Anmerkung:²⁾ «Vom Ammonacetat wurden 5—10 g³⁾ in fester Substanz in Fett eingehüllt eingegeben. Der Rest wurde in sehr verdünnter Lösung als Trinkwasser verabreicht. Die nicht aufgenommene Flüssigkeitsmenge wurde zurückgemessen und so das aufgenommene Ammonacetat bestimmt. Von Zeit zu Zeit wurden Stichproben ausgeführt, um festzustellen, ob die berechnete Menge Stickstoff mit der wirklich vorhandenen übereinstimmte. Die Ammonacetatlösung wurde stets abends gegen eine abgemessene Menge gewöhnlichen Wassers vertauscht.»

Diese Angaben lassen doch klar und deutlich erkennen, daß das Versuchstier eine bestimmte Menge Nahrung und eine ganz genau bestimmte Menge Ammonacetat in fester Form erhalten hat. Ein Zurückwiegen ist nie notwendig gewesen. Grafe hat somit etwas durchaus Unrichtiges und durch keinerlei Unterlagen Gestütztes behauptet. Um die Zufuhr von Stickstoff in Form von Ammonacetat zu steigern, wurde versucht, dem Tier mit dem Trinkwasser noch etwas Ammonacetat beizubringen. Wir kamen auf diesen Versuch, weil es gelungen war, bei anderen Versuchen mit Rohrzuckerlösung zusammen eine bestimmte Menge von Ammonacetat zu verfüttern. Hier war der Napf immer vollständig leer getrunken worden, und es konnte dann noch durch Nachfüllen von wenig Wasser bewirkt werden, daß das Versuchstier etwa noch vorhandene Spuren von Ammonacetat, die an den Wänden des Gefäßes haften geblieben sein konnten, aufnahm. Bei dem erwähnten Versuchshunde stieß die Verabreichung einer Rohrzuckerlösung auf Schwierigkeiten. Aus diesem Grunde gaben wir das Ammonacetat in reinem Wasser gelöst. Die Lösung wurde selbstverständlich erst dann in den Käfig gestellt, nachdem dem Versuchstier die gesamte feste Stickstoffnahrung beigebracht war. Sie verblieb im Maximum 6 Stunden im Käfig. Diese einheitliche Lösung wurde zurückgemessen und wiederholt festgestellt, ob der berechnete Stickstoffwert mit dem direkt bestimmten gut übereinstimmte.

¹⁾ Von uns fett gedruckt.

²⁾ l. c., Bd. 78, S. 25.

³⁾ Muß heißen 5—15 g.

Man kann ohne Kenntnis der weiter unten mitgeteilten Daten die Feststellung der verabreichten Stickstoffmenge an den Tagen, an denen der Stickstoffgehalt der verbliebenen wässerigen Ammonacetatlösung berechnet wurde, als eine indirekte bezeichnen. Es wird jedoch jedermann zugeben müssen, daß die Abmessung einer einheitlichen Lösung nicht mit der Wägung eines heterogenen Gemisches zu vergleichen ist. Außerdem handelt es sich nur um eine einzige Periode in einem einzigen Versuche. In keinem einzigen der übrigen zahlreichen Versuche ist jemals eine indirekte Bestimmung vorgenommen worden. Grafe kann das von seinen Versuchen nicht behaupten! Es ist gewiß ein sehr starkes Stück, wenn Grafe auf Grund der angeführten Periode behaupten will, daß unsere Versuche gewissermaßen auf der gleichen Stufe technischer Unvollkommenheit wie seine Versuche stehen!

Leider war übersehen worden, bei der Mitteilung des hier besprochenen Versuches im Texte Einzelheiten anzugeben, deshalb konnte dann in der Tabelle selbst nur das Allernotwendigste eingefügt werden.

Es sei deshalb noch folgendes hier ergänzt.

Das Versuchstier hat am 9., 10., 11., 13., 14., 15., 16., 18., 19. 20. und 21. Versuchstage die vorgesezte Ammonacetatlösung nicht berührt. Nur am 12. und 17. Versuchstage fand Aufnahme der ammonacetathaltigen Flüssigkeit statt. An diesen beiden Tagen war der Stickstoffgehalt des Restes direkt bestimmt worden. Aber auch an den Tagen, an denen die Flüssigkeitsmenge bis auf wenige Kubikzentimeter sich gleich geblieben war, wurde in der Hälfte der Fälle der Stickstoffgehalt direkt bestimmt. Die Bestimmung ist dann unterblieben, wenn das Versuchstier unter Beobachtung gestanden hatte und festgestellt war, daß keine Flüssigkeitsaufnahme stattgefunden hatte. In diesen Fällen wurde beim Verlassen des Stoffwechselzimmers der Futternapf aus dem Käfig herausgenommen. Die Angabe, daß Stichproben gemacht worden seien, bezieht sich nicht, wie man nach der Darstellung leicht vermuten kann, auf die Stickstoffbestimmung des verbliebenen Flüssigkeitsrestes, sondern auf die hergestellte Lösung von Ammonacetat. Sie wurde in einem 1000 ccm-Meßkolben bereitet. Es wurde dann mittels einer Pipette ein bestimmtes Quantum dem Versuchstiere vorgesezt. Die Lösung selbst wurde sorgfältig verschlossen gehalten. Sie reichte für mehrere Tage, je nach der Menge Lösung, die dem Versuchstiere zur Verfügung gestellt wurde. Es zeigte sich bald, daß statt 500 ccm weniger reichten. Schließlich gaben wir nur noch 100 ccm der Lösung.

Von dieser Stammlösung wurden im ganzen 10 Analysen durchgeführt, d. h. es wurde festgestellt, ob die Lösung nach den Entnahmen noch die gleiche Zusammensetzung hatte. Wir geben gerne zu, daß man im betreffenden Passus die Stichproben auch auf den verbliebenen Flüssigkeitsrest beziehen kann. Es tut dies selbstverständlich nichts zur

Sache. Es wird wohl niemand etwas dagegen einwenden können, wenn wir die erwähnte Periode in dem einzelnen Versuche als eine solche auffassen, in der der verabreichte Stickstoff direkt bestimmt worden ist, denn wir stellten entweder durch die direkte Beobachtung fest, ob das Versuchstier von der Lösung etwas aufnahm, und bestimmten sogar in diesen streng beobachteten Fällen noch zur Sicherheit in einem Teil der Fälle den Stickstoffgehalt direkt. Ferner ist an den zwei Tagen, an denen Flüssigkeitsaufnahme erfolgt war, der Stickstoff direkt bestimmt worden.



