

Untersuchungen über die physikalischen Eigenschaften und die chemische Zusammensetzung des Froschharns.

I. Mitteilung.

Von

Shozo Toda und Katsuta Taguchi.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität in Kyoto.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. August 1913.)

In dem Maße, als der anatomische Körperbau einer Tierart aufgeklärt ist, wächst auch das Interesse, die Fragestellung in Angriff zu nehmen, aus welchen Bausteinen die einzelnen Organe der betreffenden Tierart zusammengesetzt sind und welche chemischen Vorgänge sich darin abspielen. Hierbei ist es von besonderem Interesse, die Zusammensetzung des Harns zu ermitteln, denn die wichtigen stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte sowie die gelösten Mineralstoffe treten bei allen Tieren meist im Harn auf.

Trotz der Fülle der Beobachtungen über den anatomischen Bau des Frosches und trotzdem der Frosch zur Entscheidung mancher wichtiger physiologischer Fragen Anwendung fand, liegen merkwürdigerweise bis jetzt nur äußerst spärliche Mitteilungen über den Froschharn vor.

Eberhard Nebeltau¹⁾ nahm die Fragestellung nach dem Auftreten von Fleischmilchsäure im Harn nach der Ausschaltung der Leber bei Fröschen in Angriff und untersuchte gleichzeitig zum Vergleich den Harn von normalen mit Mehl- und Regenwürmern gefütterten Eskulenten. Es seien die wichtigen Angaben, welche er über den normalen Froschharn gemacht hat, in aller Kürze in folgendem angeführt: Der Harn reagiert sehr schwach sauer; das spezifische Gewicht beträgt höchstens 1,0015. Die Menge der festen Stoffe beträgt 0,1062%. Harnstoff, Ammoniak, Schwefelsäure, Salzsäure und Phosphorsäure ließen sich nachweisen, Harnsäure dagegen nicht.

¹⁾ Eberhard Nebeltau, Zeitschr. f. Biol., Bd. 25, S. 123.

E. Poulsson¹⁾ konnte in einer Arbeit über Harnstoffbildung bei Fröschen zeigen, daß der Froschharn arm an Harnstoff ist, und daß der Gehalt des Harns an Harnstoff eine erhebliche Zunahme nach der Einspritzung von Ammoniaksalzen erfährt, die größer ist, als sich aus der einverleibten Ammoniakmenge berechnet. Aus diesen Ergebnissen zog er den Schluß, daß in diesen Versuchen die Frösche nicht nur alles einverleibte Ammoniak mit Leichtigkeit in Harnstoff umgewandelt haben, sondern daß noch mehr Harnstoff gebildet wird, was offenbar darauf zurückzuführen ist, daß die Ammoniaksalze den Stoffwechsel der Frösche bedeutend angeregt und einen Eiweißzerfall herbeigeführt haben.

Bei dieser Sachlage hielten wir es für angezeigt, die physikalischen Eigenschaften und die Zusammensetzung des Froschharns einer systematischen Untersuchung zu unterwerfen.

Als Versuchsmaterial bedienten wir uns der Sommerfrösche (*Rana esculenta*). Die Tiere befanden sich in einem geräumigen mit wenig Wasser gefüllten Froschkasten. Um den Harn ohne Verlust zu gewinnen, haben wir meist nach dem Vorschlag von G. Aldehoff²⁾ den Tieren die Haut um den Anus mit einem dicken weichen Faden abgebunden und die Ligatur 24 Stunden liegen lassen. In einigen Fällen gelang es uns, den Harn in genügender Menge nur durch die Katheterisation, wie Kurata Morishima³⁾ seinerzeit getan hat, zu sammeln.

I. Die physikalischen Eigenschaften des Froschharns.

Der Froschharn ist dünnflüssig, wasserklar und fast farblos; bei einer dickeren Schicht färbt er sich blaßgelb.

1. Reaktion.

Wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist, reagiert der direkt aus der Blase entnommene Froschharn meist

¹⁾ E. Poulsson, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 29, S. 244.

²⁾ G. Aldehoff, Zeitschr. f. Biolog., Bd. 28, S. 303.

³⁾ Kurata Morishima, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 42, S. 34.

schwach sauer gegen Lackmuspapier; zuweilen läßt sich jedoch neutrale oder alkalische Reaktion beobachten.

Tabelle 1.

Datum	Gesamtzahl der Harnproben	Zahl der sauer reagierenden Harnproben	Zahl der neutral reagierenden Harnproben	Zahl der alkalisch reagierenden Harnproben
1. VII. 1912	27	17	5	5
2.	34	20	5	9
3.	25	19	1	5
22.	30	28	2	0
24.	30	23	5	2
26.	28	19	2	7
28.	33	26	6	1
Summe . . .	207	152	26	29

2. Das spezifische Gewicht.

Das spezifische Gewicht wurde stets mittels des Pyknometers bestimmt. Es schwankt bei 23—26° zwischen 1,0009—1,0018.

Tabelle 2.

Datum 1912	Temperatur des Harnes bei der Wägung	Spez. Gewicht	Bemerkungen
19. VIII.	25°	1,0012	Der Harn war klar und sauer
19.	25°	1,0012	» » » » » neutral
19.	25°	1,0015	» » » » » alkalisch
19.	23°	1,0014	» » » schwach getrübt und sauer
19.	23°	1,0016	» » » » » neutral
19.	23°	1,0017	» » » » » alkalisch
28.	26°	1,0009	» » » klar und sauer
28.	26°	1,0012	» » » » » neutral
28.	26°	1,0016	» » » » » alkalisch
28.	26°	1,0018	» » » getrübt und alkalisch.

3. Der osmotische Druck.

Daß eine einfache Beziehung zwischen der Gefrierpunkts-erniedrigung und dem osmotischen Druck der Lösung besteht, ist bekanntlich durch die folgende Raoult-van t'Hoffsche Formel festgestellt.

$$P = 0,082 cT$$

Hierin bedeutet P den osmotischen Druck, T die absolute Temperatur, c die molekulare Konzentration der Lösung.

Ist die Differenz zwischen dem Gefrierpunkt einer Lösung und dem des Wassers bekannt, so ergibt sich c der ersteren ohne weiteres aus der folgenden Formel:

$$c = \frac{\Delta}{1,86}$$

wo Δ die beobachtete Gefrierpunktserniedrigung bezeichnet.

Unter Zugrundlegung der oben angeführten Formeln haben wir den osmotischen Druck und die molekulare Konzentration des Froschharnes aus der beobachteten Gefrierpunktserniedrigung berechnet. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 3.

Datum 1912	Gefrier- punkts- erniedri- gung Δ	Osmot. Druck in Atmosph.	$c = \frac{\Delta}{1,86}$	Bemerkungen
17. VIII.	0,10	1,20	0,054	Der Harn war klar und sauer
20.	0,11	1,32	0,059	» » » » » neutral
21.	0,11	1,32	0,059	» » » » » alkalisch
22.	0,12	1,44	0,065	Der Harn war schwach getrübt und alkalisch
23.	0,13	1,56	0,070	Der Harn war ziemlich getrübt und alkalisch
26.	0,09	1,08	0,048	Der Harn war klar und sauer
26.	0,105	1,25	0,056	» » » » » neutral
27.	0,103	1,23	0,055	» » » » » sauer
27.	0,085	1,03	0,046	» » » » » neutral
Mittel- werte	0,106	1,27	0,057	

4. Die elektrische Leitfähigkeit.

Die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit erfolgte nach der Kohlrauschschen Methode mit Induktor und Telephon.

In der folgenden Tabelle ist die spezifische elektrische Leitfähigkeit des Froschharnes bei 20° in reziproken Ohm angegeben.

Tabelle 4.

Datum	Spez. elektr. Leitfähigkeit in reziproken Ohm	Bemerkungen
15. VIII. 1912	$0,67 \cdot 10^{-3}$	Der Harn war klar und neutral
15.	$0,75 \cdot 10^{-3}$	» » » » » schwach alkalisch
15.	$0,61 \cdot 10^{-3}$	» » » » » sauer
17.	$0,76 \cdot 10^{-3}$	» » » » » neutral
17.	$0,93 \cdot 10^{-3}$	» » » » » sauer
17.	$0,64 \cdot 10^{-3}$	» » » » » neutral
17.	$0,65 \cdot 10^{-3}$	» » » » » schwach alkalisch
19.	$0,77 \cdot 10^{-3}$	» » » schwach getrübt und alkalisch
19.	$0,60 \cdot 10^{-3}$	» » » » » sauer
19.	$1,01 \cdot 10^{-3}$	» » » » » neutral
19.	$1,21 \cdot 10^{-3}$	» » » » » alkalisch
Mittelwert..	$0,78 \cdot 10^{-3}$	

II. Die chemische Zusammensetzung.

Zur Bestimmung der festen Stoffe verdunstete man 50 ccm Harn in einem nach der Vorschrift von Neubauer¹⁾ konstruierten Apparate bei Wasserbadtemperatur zur völligen Trockne. Das Ammoniak, welches beim Verdunsten des Harns aus dem Harnstoff entstanden war, wurde in Normalschwefelsäure aufgefangen, durch Titration bestimmt und auf Harnstoff umgerechnet den gewogenen festen Stoffen zuaddiert.

Die gewogenen festen Stoffe wurden in Wasser gelöst, in eine Platinschale gebracht, auf dem Wasserbade zur Trockne

¹⁾ Neubauer-Hupperts Lehrbuch der Analyse des Harns. Elfte Auflage, Wiesbaden 1910, S. 65—66.

abgedampft und auf trockenem Wege verascht. Durch Subtraktion des Gewichtes der Asche von demjenigen der sämtlichen festen Stoffe wurde die Menge der organischen Stoffe gefunden.

Tabelle 5.

Datum	Harnmenge in ccm	Feste Stoffe		Organ. Stoffe		Anorgan. Stoffe	
		in g	in %	in g	in %	in g	in %
20. VI. 1912	50	0,1182	0,2364	0,0912	0,1824	0,0270	0,0540
22.	50	0,1192	0,2384	0,0930	0,1860	0,0262	0,0524
24.	50	0,1175	0,2350	0,0915	0,1830	0,0260	0,0520
26.	50	0,1192	0,2384	0,0931	0,1862	0,0261	0,0522
28.	50	0,1419	0,2838	0,1154	0,2308	0,0265	0,0530
29.	50	0,1279	0,2558	0,0957	0,1914	0,0322	0,0644
3. VII.	50	0,1311	0,2622	0,1048	0,2096	0,0263	0,0526
5.	50	0,1214	0,2428	0,0995	0,1990	0,0219	0,0438
7.	50	0,1104	0,2208	0,0892	0,1784	0,0212	0,0424
10.	50	0,1090	0,2180	0,0861	0,1722	0,0229	0,0458
11.	50	0,1505	0,3010	0,1116	0,2232	0,0389	0,0778
12.	50	0,1175	0,2350	0,0920	0,1840	0,0255	0,0510
13.	50	0,1147	0,2294	0,0913	0,1826	0,0234	0,0468
Mittelwerte			0,246	—	0,193	—	0,053

Der Harn von Sommerfröschen enthielt also als Mittel 0,193% organischer Stoffe und 0,053% Asche.

Die anorganischen Bestandteile.

Bevor die quantitative Analyse der einzelnen Aschenbestandteile ausgeführt wurde, haben wir versucht, die gegenseitigen Mengenverhältnisse der wasserlöslichen und wasserunlöslichen Bestandteile festzustellen. Die Trennung dieser beiden Aschenbestandteile geschah genau nach dem in Hoppe-Seylerschem Handbuch angegebenen Verfahren.¹⁾ Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

¹⁾ Hoppe-Seylers Handbuch der physiol.- u. pathol.-chemischen Analyse, Achte Auflage, 1909, S. 537.

Tabelle 6.

Datum 1912	Harn- menge in ccm	Gesamtasche		Wasserlös. Best.		Wasserunlös. Best.	
		in g	in %	in g	in %	in g	in %
5.—25. VI.	2000	1,0813	0,0541	0,9652	0,0483	0,1161	0,0058
25. VI.—4. VII.	2000	1,0463	0,0523	0,9398	0,0470	0,1065	0,0058
4.—29. VII.	4000	1,8562	0,0464	1,6682	0,0417	0,1880	0,0047
Mittelwerte	—	—	0,0509	—	0,0467	—	0,0053

In 100 ccm Harn von Sommerfröschen waren als Mittel 0,0467 g wasserlöslicher Salze und 0,0053 g wasserunlöslicher Salze enthalten.

Zur quantitativen Analyse der einzelnen Aschenbestandteile wurden 2 l Froschharn in einer Platinschale auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und auf trockenem Wege verascht.

Der Wasserauszug, worin die in Wasser löslichen Aschenbestandteile enthalten waren, wurde auf dem Wasserbade eingengt, sein Volumen durch Auffüllen in einem genau geeichten Meßgefäß bestimmt, ein aliquoter Teil davon mit einer genau kalibrierten Pipette für die Bestimmungen der einzelnen Stoffe entnommen und die dabei gefundenen Werte der Stoffe auf das Gesamtvolumen des Wasserauszuges umgerechnet.

Die in Wasser nicht löslichen Aschenbestandteile löste man in verdünnter Salzsäure, verdünnte mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen und verwendete einen aliquoten Teil zu Bestimmungen der alkalischen Erden, der Schwefelsäure und der Phosphorsäure. Die Mengen der in Rede stehenden Stoffe sind zu denjenigen der in Wasserauszügen vorhandenen gleichnamigen Stoffe addiert und der Einfachheit halber nur ihre Summe in folgende Tabelle eingetragen.

Zur Bestimmung des Chlors bedienten wir uns der Methode von Volhard. Die Schwefelsäure wurde durch Salzsäure und Baryumchlorid gefällt und als Baryumsulfat abgewogen. Die Phosphorsäure wurde zuerst durch Zusatz von Salpetersäure und Ammoniummolybdat als phosphormolybdänsaures Ammonium abgeschieden und dann nach der Vorschrift von Neumann titrimetrisch bestimmt. Der Kalk wurde aus einer

mit essigsauerm Natron versetzten Lösung durch oxalsaures Ammon als oxalsaurer Kalk gefällt, durch starkes Glühen in Ätzkalk übergeführt und dann gewogen. Aus der vom Calciumoxalat abfiltrierten Lösung fällt man das Magnesium durch Übersättigung mit Ätzammoniak als phosphorsaure Ammonmagnesia aus, verwandelte die letztere auf die übliche Weise durch Glühen in pyrophosphorsaure Magnesia und berechnete aus der gewogenen pyrophosphorsauren Magnesia die Magnesia. Zur Bestimmung des Kaliums und des Natriums wurden die beiden Alkalien nach möglichster Entfernung der anderen Aschenbestandteile in Chloride übergeführt, als solche gewogen und dann das Kalium als Kaliumplatinchlorid bestimmt. Durch Subtraktion des Chlorkaliums von dem vorher gefundenen Gewichte der Summe der beiden Chloralkalien wurde die Menge des Chlornatriums gefunden.

Tabelle 7.

Verwendete Harnmenge	I. Analyse		II. Analyse	
	2000 ccm		2000 ccm	
Aschenmenge	in g	in %	in g	in %
Gesamtasche	1,0813	0,0541	1,0463	0,0523
H ₂ O	0,1562	0,0078	0,1529	0,0077
Na ₂ O	0,3055	0,0153	0,2974	0,0149
CaO	0,0473	0,0024	0,0389	0,0020
MgO	0,0164	0,0008	0,0159	0,0008
P ₂ O ₅	0,3338	0,0167	0,3274	0,0164
H ₂ SO ₄	0,1682	0,0084	0,1777	0,0089
Cl	0,1368	0,0068	0,1346	0,0067

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, kommen unter den Mineralstoffen in größerer Menge Phosphorsäure und Natrium vor. Das Verhältnis des Natriums zum Kalium ist gleich 1,7 : 1. Die Werte der übrigen Aschenbestandteile sind viel niedriger.

Die Untersuchungen in betreff der einzelnen organischen Bestandteile sind bereits von dem einen von uns begonnen, aber noch nicht zu Ende geführt. Ausführliche Mitteilung über dieselben bleibt vorbehalten.