



## Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

## Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

## Über Google Buchsuche

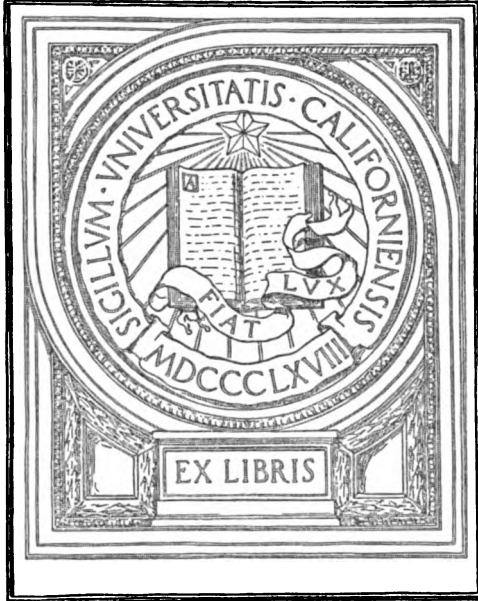
Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

UC-NRLF



B 3 778 040

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
MEDICAL CENTER LIBRARY  
SAN FRANCISCO



EX LIBRIS









# Biochemische Zeitschrift.

Beiträge  
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

U.C. MEDICAL CENTER LIBRARY

F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt a. M.,  
E. Salkowski - Berlin, A. von Wassermann - Berlin, N. Zuntz - ~~Bonn~~ <sup>Bonn</sup> 2 1962

unter Mitwirkung von

M. Ascoli - Catania, L. Asker - Bern, G. Bertrand - Paris, A. Bleeker - Berlin, F. ~~Stamm~~ <sup>Stamm</sup> ~~Berlin~~ <sup>Berlin</sup>, A. Bonanni - Rom, F. Bottazzi - Neapel, G. Bredig - Karlsruhe, L. B. A. Durig - Wien, P. Ehrlich - ~~Berlin~~ <sup>Berlin</sup>, H. v. Euler - Stockholm, J. Feigl - Hamburg, S. Flexner - New York, J. Fersman - Lund, S. Fränkel - Wien, E. Freund - Wien, H. Freundlich - Berlin-Dahlem, E. Friedberger - Greifswald, E. Friedmann - Berlin, O. v. Fürth - Wien, G. Galotti - Neapel, F. Haber - Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger - Groningen, P. Hári - Budapest, A. Heffter - Berlin, V. Henri - Paris, V. Henriques - Kopenhagen, W. Heubner - Göttingen, R. Höber - Kiel, M. Jacoby - Berlin, A. Koch - Göttingen, M. Kumagawa - Tokio, F. Landolt - Buenos Aires, L. Langstein - Berlin, F. A. Levene - New York, L. v. Liebermann - Budapest, J. Loeb - New York, A. Loewy - Berlin, A. Magnus - Levy - Berlin, J. A. Mandel - New York, L. Marchlewski - Krakau, F. Mayer - Karlsbad, J. Meisenheimer - Greifswald, L. Michaelis - Berlin, H. Molesch - Wien, J. Morgenroth - Berlin, E. Münzer - Prag, W. Nernst - Berlin, W. Ostwald - Leipzig, W. Palladin - St. Petersburg, W. Pfaund - Wien, R. Pfeiffer - Breslau, E. P. Pick - Wien, J. Pohl - Breslau, Ch. Porcher - Lyon, P. Rona - Berlin, S. Saarik - St. Petersburg, N. Sibir - St. Petersburg, M. Siegfried - Leipzig, S. P. L. Sörensen - Kopenhagen, K. Spiro - Straßburg, E. H. Starling - London, J. Stoklasa - Prag, W. Straub - Freiburg, B. A. Stutzer - Königsherg i. Pr., H. v. Tappeiner - München, H. Thoms - Berlin, F. Trendelenburg - Rostock, A. J. J. Van der Veldt - Gent, O. Warburg - Berlin, W. Wiechowski - Prag, A. Wohl - Danzig, J. Wohlgemuth - Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin.

Hundertundzweiter Band.

Ausgegeben am 28. Februar 1920.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1920.



# Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9. Linkstraße 23/24.

102. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Seite
<b>v. Gröer, Franz</b> und <b>Adolf F. Hecht.</b>	Zur Kenntnis des Adrenalins.	
	I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten	1
<b>v. Gröer, Franz</b> und <b>Johann Matula.</b>	Zur Kenntnis des Adrenalins.	
	II. Über die Änderung der gefäßverengenden Wirkung des Adrenalins unter dem Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen und nach Behandlung desselben mit verschiedenen bakteriellen Produkten und Eiweißkörpern	13
<b>Abelin, J.</b> und <b>J. Jaffé.</b>	Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. III. Über den Einfluß der proteinogenen Amine, Phenyl- und p Oxyphenyläthylamin auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber	39
<b>Abelin, J.</b>	Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. IV. Einfluß von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven	58
<b>Herafeld, E.</b> und <b>R. Klinger.</b>	Beiträge zur Chemie der Eiweißkörper	89
<b>Aschenheim, Erich</b> und <b>Georg Stern.</b>	Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Gerinnungsvorgänge der Milch	98
<b>v. Euler, H.</b> und <b>E. Borgenstam.</b>	Zur Kenntnis der Katalasewirkung der Erythrocyten	124
<b>Feigl, Joh.</b>	Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blute. X. Die Nephelometrie der Phosphorsäure als Grundlage der P-Verteilung, speziell der Lecithinämie, im Analyseengange von der Größenordnung des Bangschen Systems	131
<b>Windisch, Wilhelm</b> und <b>Walther Dietrich.</b>	Über das Puffersystem primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure an Stelle des Puffersystems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat	141
<b>Völtz, Wilhelm.</b>	Der Ersatz des Nahrungsproteins durch Harnstoff beim wachsenden Wiederkäuer. Der Futterwert des nach dem Beckmannschen Verfahren aufgeschlossenen Strohs und der Spieü	151
<b>Weiß, M.</b>	Die Farbstoffanalyse des Harnes. I. Über die Zerlegung des Harnes in drei Hauptfraktionen als Grundlage der Farbstoffanalyse desselben	228
<b>Fernau, A.</b>	Über Wirkungen der Radiumstrahlung auf Rohrzucker und Agar	246
<b>Denecke, Gerhard.</b>	Ein Beitrag zur Narkosefrage	251
<b>von Euler, Hans</b> und <b>Ingvar Laurin.</b>	Zur Kenntnis der Hefe Saccharomyces Thermantitimum. II.	258
<b>Michaelis, L.</b> und <b>P. Rona.</b>	Die Adsorbierbarkeit der oberflächenaktiven Stoffe durch verschiedene Adsorbentien sowie ein Versuch zur Systematik der Adsorptionserscheinungen	268
<b>Kerner, G.</b> und <b>E. J. Lesser.</b>	Die Änderung der diastatischen Wirksamkeit der Froschleber durch starke Durchspülung mit Ringerlösung	284
<b>Lesser, E. J.</b>	Die Zuckerabgabe der Froschleber bei kontinuierlicher Durchströmung mit Ringerlösung	294
<b>Lesser, E. J.</b>	Der Mechanismus der Zuckermobilisierung durch das Adrenalin	304
	Autorenverzeichnis	320

# Biochemische Zeitschrift.

Beiträge  
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt a. M.,  
E. Salkowski - Berlin, A. von Wassermann - Berlin, N. Zuntz - Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli - Catania, L. Asher - Bern, G. Bertrand - Paris, A. Stekel - Berlin, F. Stenmethal - Berlin, A. Benussi - Rom, F. Bottazzi - Neapel, G. Brodig - Karlsruhe i. B., A. Durig - Wien, F. Ehrlich - Breslau, H. v. Euler - Stockholm, J. Feigl - Hamburg, S. Flexner - New York, J. Fernsman - Lund, S. Fränkel - Wien, E. Freund - Wien, H. Freundlich - Berlin-Dahlem, E. Friedberger - Greifswald, E. Friedmann - Berlin, G. v. Fürth - Wien, G. Galeotti - Neapel, F. Haber - Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger - Groningen, P. Havi - Budapest, A. Heffter - Berlin, V. Henri - Paris, V. Henriques - Kopenhagen, W. Heubner - Göttingen, E. Höber - Kiel, M. Jacoby - Berlin, A. Koch - Göttingen, M. Kumagawa - Tokio, F. Landell - Buenos Aires, L. Langstein - Berlin, P. A. Levene - New York, L. v. Liebermann - Budapest, J. Loeb - New York, A. Loewy - Berlin, A. Magnus - Levy - Berlin, J. A. Mandel - New York, L. Marchlewski - Krakau, P. Mayer - Karlsbad, J. Meisenheimer - Greifswald, L. Michaelis - Berlin, H. Molesch - Wien, J. Morgenroth - Berlin, E. Münster - Prag, W. Nernst - Berlin, W. Ostwald - Leipzig, W. Palladin - St. Petersburg, W. Paull - Wien, R. Pfeiffer - Breslau, E. P. Pick - Wien, J. Pohl - Breslau, Ch. Percher - Lyon, F. Rosa - Berlin, S. Saaskin - St. Petersburg, N. Stehr - St. Petersburg, M. Stieglitz - Leipzig, S. P. L. Sørensen - Kopenhagen, K. Spiro - Straßburg, E. H. Starling - London, J. Stoklasa - Prag, W. Straub - Freiburg i. B., A. Stutzer - Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler - München, H. Thoms - Berlin, P. Trendelenburg - Rostock, A. J. J. Van der Veld - Gent, G. Warburg - Berlin, W. Wiechowski - Prag, A. Wohl - Danzig, J. Wohlgemuth - Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin.

Hundertundzweiter Band.

*Durch die fortgesetzte ausserordentliche  
Steigerung der Herstellungskosten sieht  
sich der Verlag gezwungen, den Preis der  
„Biochemischen Zeitschrift“*

*vom 102. Band ab auf M. 34,— zu erhöhen.*

# Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer  
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

102. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Seite
v. Gröer, Franz und Adolf F. Hecht.	Zur Kenntnis des Adrenalins. I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten	1
v. Gröer, Franz und Johann Matula.	Zur Kenntnis des Adrenalins. II. Über die Änderung der gefäßverengenden Wirkung des Adrenalins unter dem Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen und nach Behandlung desselben mit verschiedenen bakteriellen Produkten und Eiweißkörpern	13
Abelin, J. und J. Jaffé.	Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. III. Über den Einfluß der proteinogenen Amine, Phenyl- und p Oxyphenyläthylamin auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber	39
Abelin, J.	Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. IV. Einfluß von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven	58
Herzfeld, E. und R. Klinger.	Beiträge zur Chemie der Eiweißkörper	89
Aschenheim, Erich und Georg Stern.	Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Gerinnungsvorgänge der Milch	98
v. Euler, H. und E. Borgenstam.	Zur Kenntnis der Katalasewirkung der Erythrocyten	124
Feigl, Joh.	Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blute. X. Die Nephelometrie der Phosphorsäure als Grundlage der P-Verteilung, speziell der Lecithinämie, im Analysengange von der Größenordnung des Bangsehen Systems	131
Windisch, Wilhelm und Walther Dietrich.	Über das Puffersystem primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure an Stelle des Puffersystems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat	141

V

V

F

D

ve

M

K

L

L

A

# Biochemische Zeitschrift.

Beiträge  
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

**F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt a. M.,  
E. Salkowski - Berlin, A. von Wassermann - Berlin, N. Zuntz - Berlin**

unter Mitwirkung von

**M. Accell - Catania, L. Asher - Bern, G. Bertrand - Paris, A. Bickel - Berlin, F. Elementari - Berlin, A. Benassi - Rom, F. Bettand - Neapel, G. Brodie - Karlsruhe i. B., A. Burg - Wien, F. Ehrlich - Breslau, H. v. Euler - Stockholm, J. Feigl - Hamburg, S. Flexner - New York, J. Fuossman - Lund, S. Friebel - Wien, E. Freund - Wien, H. Freundlich - Berlin-Dahlem, H. Friedberger - Greifswald, H. Friedmann - Berlin, G. v. Fürth - Wien, G. Galeotti - Neapel, F. Haber - Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger - Groningen, F. Hári - Budapest, A. Heffter - Berlin, V. Henri - Paris, V. Henriques - Kopenhagen, W. Henneberg - Göttingen, E. Höber - Kiel, H. Jacoby - Berlin, A. Koch - Göttingen, H. Kumagawa - Tokio, F. Landell - Buenos Aires, L. Langstein - Berlin, P. A. Levene - New York, L. v. Liebermann - Budapest, J. Loeb - New York, A. Loewy - Berlin, A. Magnus - Levy - Berlin, J. A. Mandel - New York, L. Marchlewski - Krakau, P. Mayer - Karlsbad, J. Meisenheimer - Greifswald, L. Michaels - Berlin, H. Meisch - Wien, J. Mergemann - Berlin, E. Mitscher - Prag, W. Normant - Berlin, W. Ostwald - Leipzig, W. Palladin - St. Petersburg, W. Pauli - Wien, R. Pfeiffer - Breslau, E. F. Pick - Wien, J. Pohl - Breslau, Ch. Fereber - Lyon, P. Rosen - Berlin, S. Saakian - St. Petersburg, R. Steber - St. Petersburg, M. Stigfried - Leipzig, S. P. L. Sörensen - Kopenhagen, K. Spire - Straßburg, E. H. Starling - London, J. Steklase - Prag, W. Straub - Freiburg i. B., A. Stutzer - Königsberg i. Pr., H. v. Tappiner - München, H. Thoms - Berlin, P. Trendelenburg - Rostock, A. J. J. Vanderdeijdt - Gent, G. Warburg - Berlin, W. Wichevski - Prag, A. Wohl - Danzig, J. Wohlgemuth - Berlin.**

Redigiert von

**C. Neuberg - Berlin.**

Hundertundzweiter Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1920.

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

# Inhaltsverzeichnis.

	Seite
<b>v. Gröer, Franz und Adolf F. Hecht.</b> Zur Kenntnis des Adrenalins. I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten . . . . .	1
<b>v. Gröer, Franz und Johann Matula.</b> Zur Kenntnis des Adrenalins. II. Über die Änderung der gefäßverengenden Wirkung des Adrenalins unter dem Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen und nach Behandlung desselben mit verschiedenen bakteriellen Produkten und Eiweißkörpern . . . . .	13
<b>Abela, J. und J. Jaffé.</b> Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. III. Über den Einfluß der proteinogenen Amine, Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber . . . . .	39
<b>Abela, J.</b> Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. IV. Einfluß von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven . . . . .	58
<b>Berfeld, E. und E. Klinger.</b> Beiträge zur Chemie der Eiweißkörper	89
<b>Aschenheim, Erich und Georg Stern.</b> Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Gerinnungsvorgänge der Milch . . . . .	98
<b>v. Euler, H. und E. Borgenstam.</b> Zur Kenntnis der Katalasewirkung der Erythrocyten . . . . .	124
<b>Feigl, Joh.</b> Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blute. X. Die Nephelometrie der Phosphorsäure als Grundlage der P-Verteilung, speziell der Lecithinämie, im Analysengange von der Größenordnung des Bangschen Systems . . . . .	131
<b>Windisch, Wilhelm und Walther Dietrich.</b> Über das Puffersystem primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure an Stelle des Puffersystems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat . . . . .	141
<b>Witz, Wilhelm.</b> Der Ersatz des Nahrungseiweißes durch Harnstoff beim wachsenden Wiederkäuer. Der Futterwert des nach dem Beckmannschen Verfahren aufgeschlossenen Strohs und der Spreu	151

<b>Weiß, M.</b> Die Farbstoffanalyse des Harnes. I. Über die Zerlegung des Harnes in drei Hauptfraktionen als Grundlage der Farbstoffanalyse desselben . . . . .	228
<b>Fernau, A.</b> Über Wirkungen der Radiumstrahlung auf Rohrzucker und Agar . . . . .	246
<b>Denecke, Gerhard.</b> Ein Beitrag zur Narkosefrage . . . . .	251
<b>von Euler, Hans und Ingvar Laurin.</b> Zur Kenntnis der Hefe <i>Saccharomyces Thermantitonus</i> . II. . . . .	258
<b>Michaelis, L. und P. Rona.</b> Die Adsorbierbarkeit der oberflächenaktiven Stoffe durch verschiedene Adsorbentien sowie ein Versuch zur Systematik der Adsorptionserscheinungen . . . . .	268
<b>Kerner, G. und H. J. Lesser.</b> Die Änderung der diastatischen Wirksamkeit der Froschleber durch starke Durchspülung mit Ringerlösung . . . . .	284
<b>Lesser, H. J.</b> Die Zuckerabgabe der Froschleber bei kontinuierlicher Durchströmung mit Ringerlösung . . . . .	294
<b>Lesser, H. J.</b> Der Mechanismus der Zuckermobilisierung durch das Adrenalin . . . . .	304
<b>Autorenverzeichnis</b> . . . . .	320

## Zur Kenntnis des Adrenalins.

### I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten.

Von

Franz v. Gröer und Adolf F. Hecht.

(Aus der Universitäts-Kinderklinik und dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie in Wien.)

(Ausgeführt mit Unterstützung der Fürst Liechtensteinschen Spende.)

(Eingegangen am 16. September 1919.)

Mit 2 Tafeln.

Bereits vor 6 Jahren hat Marie<sup>1)</sup> die Entdeckung gemacht, daß Adrenalinlösungen mit Diphtherie- oder Tetanustoxin gemischt, dieselben nach längerem Kontakt entgiften. Zur Zeit der Veröffentlichung Maries hat der eine von uns (v. Gröer) zum Teil gemeinsam mit K. Kassowitz anlässlich der Untersuchungen über die normale Diphtherieimmunität des Menschen Ähnliches beobachtet und dabei festgestellt, daß unter dem Einfluß eines längeren Kontaktes mit diphtheriehaltiger Bouillon auch das Adrenalin seine pharmakologischen Wirkungen zum Teil wenigstens verliert.

Während die Entdeckung der antitoxischen Eigenschaften des Adrenalins zu einer Reihe sehr interessanter Untersuchungen geführt hat, die aber infolge der Kriegsverhältnisse noch nicht abgeschlossen sind und erst später durch v. Gröer mitgeteilt werden, sollen im folgenden die Tatsachen besprochen werden, die den destruktiven Einfluß des Diphtherietoxins und — um

---

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. O. 17, 1913.  
Biochemische Zeitschrift Band 102.



Tabelle I.

Versuch vom 12. V. 1914. Diphtherietoxin: America I. D.I.m. = 0,008.  
Adrenalin Parke and Davis.

Meer- schweinchen	Zeit	Intravenöse Injektion	Resultat	Gelebt
Nr. 96. 270 g	4 <sup>10</sup> p. m.	0,01 Diphtherietoxin + 0,05 1 prom. Adrenalin- lösung in 0,5 ccm phys. Kochsalzlösung. Die Mischung ist 22 Stunden bei 37° gestanden	Sofortige Prostration	über 5 Stunden
	4 <sup>15</sup> "		sehr ruhig, richtet sich auf, frequente Atmung und Herzaktion	
	4 <sup>25</sup> "		geht herum	
	5 "		verhält sich wie ein nor- males Tier	
	6 "		sehr ruhig, gestäubte Haare	
	9 <sup>30</sup> "	Nasenbluten, Exitus . .		
Nr. 97. 270 g	4 <sup>30</sup> "	0,05 1 prom. Adrenalin- lösung in 0,5 ccm phys. Kochsalzlösung 22 Stunden bei 37° gestanden	Sofort heftige Krämpfe	über 1 Stunde
	4 <sup>35</sup> "		Krämpfe dauern fort, ge- stäubte Haare, richtet sich nur schwer auf	
	4 <sup>45</sup> "		schwer krank, reagiert nicht	
	4 <sup>50</sup> "		neuerlich Krämpfe	
	5 "		heftige Krämpfe	
	5 <sup>25</sup> "		gelähmt, richtet sich nicht auf	
	5 <sup>50</sup> "		abermals Krämpfe	
	5 <sup>55</sup> "		Nasenbluten, Exitus	
Nr. 13. 260 g	5 <sup>30</sup> "	0,04 Diphtherietoxin + 0,1 1 prom. Adrenalin- lösung in 0,5 ccm phys. Kochsalzlösung. Die Mischung ist 22 Stunden bei 37° gestanden	Prostration	1 Stunde
	5 <sup>32</sup> "		Krämpfe	
	5 <sup>35</sup> "		frequente Atmung, richtet sich auf	
	5 <sup>37</sup> "		schr frequente Atmung	
	5 <sup>45</sup> "		gestäubte Haare, ruhig	
	6 "		ruhig, sitzt	
	6 <sup>20</sup> "		Krämpfe, Blutung aus der Nase, Exitus	
Nr. 14. 280 g	5 <sup>50</sup> "	0,1 1 prom. Adrenalin- lösung in 0,5 phys. Kochsalzlös. 22 Stun- den bei 37° gestanden	Prostration	7 Minuten
	5 <sup>55</sup> "		heftige Krämpfe .	
	5 <sup>57</sup> "		Nasenbluten, Exitus	

es gleich vorwegzunehmen — auch anderer bakterieller Produkte auf die pharmakologische Wirksamkeit des Adrenalins illustrieren<sup>1)</sup>.

Die Tatsache, daß Adrenalinlösungen nach längerem Kontakt mit Diphtherietoxin ihre Wirkung zum Teil einbüßen, ist sowohl Marie, als allen denjenigen Autoren, die seine Befunde nachgeprüft haben, völlig entgangen. Abramow und Mischennikow<sup>2)</sup> haben sogar die pharmakologische Wirksamkeit der Adrenalin-Toxinmischungen an Mäusen geprüft und glauben gefunden zu haben, daß sie durch Toxin nicht beeinflusst wird. Sie heben es ausdrücklich hervor als Gegenbeweis gegen die Anschauung Maries, daß Diphtherietoxin in eine chemische Bindung mit Adrenalin eingehe. Auch Stutzer<sup>3)</sup> der die ganze antitoxische Adrenalinwirkung den H-Ionen der bekanntlich sauer reagierenden Adrenalinlösungen zuschreibt, hat keine Beeinflussung des Adrenalins durch Toxine gesehen.

Indessen schon bei den ersten Versuchen konnte v. Gröer beobachten, daß Meerschweinchen, welchen entsprechende Adrenalin-Diphtherietoxinmischungen injiziert wurden, später der Adrenalinvergiftung erlagen, als solche, welche dieselben Adrenalinmengen mit Kochsalzlösung gemischt erhielten. (Vgl. das folgende Protokoll.)

Es galt nun diese Tatsache zunächst als solche auf eine exaktere Weise festzustellen, um sie später einer Analyse zu unterwerfen.

Zum Nachweise pharmakologischer Adrenalinwirkung schien uns für diese Zwecke die klassische Blutdruckmethode am besten geeignet, da sie eine präzise und anschauliche Registrierung der Resultate erlaubt und da wir nicht an sehr kleine Adrenalinmengen gebunden waren.

Wir arbeiteten an Hunden. Nach einer Morphiuminjektion wurde Äthernarkose und künstliche Atmung eingeleitet. Nach der Thoraxeröffnung wurde der Vagus doppelseitig durchschnitten. Der Blutdruck wurde von der Carotis registriert, die Injektionen erfolgten in die V. jugularis. Zur Injektion gelangten Mischungen von Adrenalin<sup>4)</sup> mit Diphtherietoxin und dann mit anderen Substraten, die 18 Stunden bei + 37° gestanden waren. Als Kontrolllösungen dienten dieselben Adrenalin-

---

<sup>1)</sup> Die hier zur Besprechung gelangenden Versuche waren bereits im Sommer 1914 abgeschlossen. Sie wurden aber bisher nicht veröffentlicht, weil ihre Bedeutung erst durch weitere Untersuchungen klar gestellt werden mußte, was im Kriege nur mühsam erfolgen konnte.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. O 20, 1914.

<sup>3)</sup> Ebenda 22, 1914.

<sup>4)</sup> Wir benutzten das Präparat von Parke and Davis in 1/1000-Lösung (Chlorhydrat).

lösungen nach ebenso langem Stehen und in gleicher Verdünnung, sowie Zusatzlösungen allein. Sämtliche Mischungen wurden in kleinen Reagenzgläsern gleichen Kalibers — aus Jenaglas — mit Wattestöpseln, steril aufbewahrt. Die Volumina der Mischungen waren stets die gleichen (2 ccm).

Die Ergebnisse dieser Versuche sind am Schlusse dieser Mitteilung protokollarisch mitgeteilt. Von der Publikation sämtlicher kymographischer Kurven nehmen wir aus Raumersparnis Abstand und geben hier nur einige typische Kurven beispielsweise wieder. Zur besseren Veranschaulichung gefundener Tatsachen sind die Versuchsergebnisse tabellarisch zusammengestellt worden. (Vgl. Tabellen II u. III.)

Tabelle II.

Erhöhung des Blutdruckes in mm/Hg (höchste Blutdruckerhebung nach — mittlerer Blutdruck vor der Injektion) nach den Injektionen verschiedener Adrenalingemische. (Adrenalinmenge: jedesmal 0,2 ccm 1 prom. Lösung, Parke and Davis.)

Hund	Adrenalin allein	Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin	Adrenalin + 0,1 Diphtherietoxin	Adrenalin + 0,2 Nährbouillon	Adrenalin + 0,1 Nährbouillon	Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin gekocht	Adrenalin + 0,2 Nährbouillon gekocht	Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin angesäuert	Adrenalin + 0,2 Nährbouillon angesäuert	Adrenalin + 0,2 Sodaaflösung	Adrenalin + 0,1 Sodaaflösung
I	137,152	—	45	—	—	—	—	—	—	—	—
II	54	0	—	36	—	—	—	—	—	—	—
III	102	—	—	—	—	114	114	82	100	—	—
IV	86	28	30	88	100	—	—	44	—	30	68
V	112	30	—	100	—	98	—	—	—	—	—

Tabelle III.

Erhöhung des Blutdruckes in mm/Hg (höchste Blutdruckerhebung nach — mittlerer Blutdruck vor der Injektion) nach den Injektionen der Adrenalinmischungen mit Bakteriennucleoproteiden (Adrenalin: jedesmal 0,2 ccm 1 prom. Lösung.)

Hund	Adrenalin allein	Adrenalin + 0,2 Diphtherienucleoproteids	Adrenalin + 0,1 Di-Nucleoproteids	Adrenalin + 0,05 Di-Nucleoproteids	Adrenalin + 0,035 Di-Nucleoproteids	Adrenalin + 0,01 Di-Nucleoproteids	Adrenalin + 0,2 Scharlach-Streptokokken-nucleoproteids	Adrenalin + 0,1 Scharlach-Streptokokken-nucleoproteids	Adrenalin + 0,05 Scharlach-Streptokokken-nucleoproteids
III	102	0	—	—	—	—	—	—	—
IV	86	0	—	10	—	52	—	—	—
V	112	—	—	16	64 bei 0,02 Nucleo- proteid: 84	—	—	22	65

Es zeigte sich nun, daß tatsächlich die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins durch einen längeren Kontakt mit diphtherietoxinhaltiger Bouillon ganz erheblich abgeschwächt wird, ja sogar ganz aufgehoben werden kann (vgl. Tabelle I und Fig. 1).

Diese Tatsache ist keinesfalls eindeutig. Das Adrenalin erleidet unter dem Einfluß des Kontaktes mit Diphtherietoxin weitgehende Veränderungen, die in erster Linie durch gesteigerte Oxydation dieses so leicht oxydablen Körpers bedingt sind. Die Adrenalintoxinmischungen färben sich beim Stehen ziemlich rasch: Sie werden zuerst rosa, dann rötlich und schließlich gelbbraunlich. Diese gesteigerte oxydative Zerstörung des Adrenalins kann zuerst durch die immerhin deutlich alkalische Reaktion der Toxinbouillon bedingt sein. Es war daher wichtig, festzustellen, inwieweit die adrenalinzerstörenden Eigenschaften der Toxinbouillon etwa einen spezifischen Charakter besitzen. Zunächst wurde daher die Wirkung untersucht, die eine sterile, unbewachsene Nährbouillon, wie sie für bakteriologische Zwecke allgemein üblich ist und von annähernd gleicher Reaktion, wie die der Toxinbouillon, auf Adrenalin ausübt. Es zeigte sich, daß unbewachsene Nährbouillon entweder keine oder wesentlich geringere adrenalinzerstörende Wirkung entfaltet, als die Toxinbouillon. Einigemal schienen sogar kleinere Nährbouillonmengen die blutdrucksteigernde Adrenalinwirkung zu verstärken. Dann untersuchten wir das Verhalten der gekochten Toxinbouillon. Fünf Minuten lang gekochtes Toxin beeinflusste kaum die Wirksamkeit des Adrenalins, es verhielt sich, wie die unbewachsene Nährbouillon. Durch Kochen ging also die adrenalinschädigende Noxe in der Toxinbouillon verloren.

Andererseits um die Wirkung des Hydroxylionen auszuschalten, säuerten wir sowohl die Toxinbouillon als die Nährbouillon mit HCl bis zur annähernd neutralen Reaktion (sauer gegen Phenolphthalein) an und untersuchten den Einfluß derartig abgestumpfter Lösungen auf das Adrenalin. Wie aus den Protokollen und der Tabelle II zu entnehmen ist, waren neutralisierte Toxingemische tatsächlich weniger wirksam, ihre adrenalinzerstörende Wirkung war jedoch noch sehr deutlich, na-

mentlich im Vergleich mit der nativen und neutralisierten Nährbouillon.

Sodalösungen von annähernd gleicher Alkaleszenz wie unsere Toxinlösungen wirkten in größeren Mengen ebenso adrenalinzerstörend wie Diphtherietoxin; in kleineren Mengen dagegen deutlich schwächer (vgl. Versuch 4) und dennoch stärker adrenalinzerstörend, als entsprechende Nährbouillon. Es sieht das so aus, als ob die in der Nährbouillon aufgelösten kolloidalen Systeme das Adrenalin vor der deletären Alkaliwirkung schützen würden.

Nach dem Ausfall dieser Versuche konnte angenommen werden, daß die Diphtherietoxinbouillon adrenalinzerstörende Eigenschaften besitzt, die der unbewachsenen Nährbouillon abgehen, sich durch die Alkaleszenz der Toxinlösung nicht hinreichend erklären lassen und durch Kochen ausgeschaltet werden. Es war jedoch a priori unwahrscheinlich, daß das Toxin als solches mit Adrenalin in eine „Bindung“ — wie es etwa Marie behauptet — eingehe und dadurch das letztere unwirksam mache. Das Toxin, zuerst mit Antitoxin gesättigt und dann erst mit Adrenalin gemischt, schien dessen blutdrucksteigernde Wirkung ebenfalls zu zerstören (vgl. Versuch 2, allerdings an einem gegen Adrenalin wenig empfindlichen Tier). Wir suchten daher nach anderen Faktoren, die uns das fragliche Verhalten der Toxinbouillon erklären würden.

Die Toxinbouillon enthält außer dem Toxin, Salzen, OH-Ionen, Bouillonbestandteilen noch bakterielle Eiweißkörper. Diese lassen sich auch biologisch nachweisen<sup>1)</sup>. Es sind das in erster Linie Stoffe vom Charakter der Nucleoproteide, die infolge der alkalischen Reaktion der Bouillon während des Wachstums der Kultur aus den abgestorbenen Bakterienleibern extrahiert und in Lösung gehalten werden. Es lag daher nahe, Nucleoproteide verschiedener Bakterien auf ihre adrenalinzerstörende Wirkung zu untersuchen.

Wir bereiteten uns zunächst das Diphtheriebacillennucleoproteid (nach Lustig). Die Bakterienmasse einer Bouillonkultur wurde abfiltriert, bis zur Toxinfreiheit des Waschwassers gewaschen, dann in 1% Kali-

<sup>1)</sup> Vgl. v. Gröer u. Kassowitz, Über die normale Diphtherieimmunität des Menschen. V. Mitteilung. Z. f. Immunitätsforsch. usw. im Erscheinen.

lauge aufgeschwemmt. Die Lösung wurde nach 2 Stunden klar filtriert, das Filtrat mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag sorgfältig gewaschen, getrocknet und in bestimmtem Gewichtsverhältnis unter Zugabe von gerade ausreichenden Mengen  $\frac{2}{100}$ -NaCl in destilliertem Wasser gelöst. Die so bereiteten Nucleoproteidlösungen reagieren gegen Lackmus neutral. Ganz analog wurde auch ein Nucleoprotein aus Scharlachstreptokokken (Moser) bereitet.

Den Bakteriennucleoproteiden kommt nun eine unvergleichlich intensivere adrenalinzerstörende Wirkung, als dem Diphtherietoxin zu. Schon sehr kleine Mengen unserer Nucleoproteidlösungen hoben die blutdrucksteigernde Adrenalinwirkung entweder ganz oder zum großen Teil auf (vgl. Tabelle III und Fig. 3). Sie taten es auch nach deutlicher Ansäuerung. Hierbei konnte eine Blutdrucksenkung nach Injektion auch größerer Mengen der Nucleoproteide allein nicht festgestellt werden. Die auf Oxydation des Adrenalins zurückzuführende Verfärbung der Adrenalinmischungen war hier viel weniger ausgesprochen.

Somit war sehr wahrscheinlich gemacht, daß gewisse Eiweißkörper die Fähigkeit besitzen, nach längerem Kontakt mit Adrenalin dasselbe auf eine eigenartige Weise unwirksam zu machen, und daß die adrenalinzerstörende Wirkung des Diphtherietoxins auf Anwesenheit derartiger Eiweißstoffe in der Toxinbouillon beruhe.

Nun untersuchten wir noch die Wirkung einiger genuiner Eiweißkörper. Unverdünntes Diphtherieheilserum (Pferdeserum, globulinreich) zu gleichen Teilen mit Adrenalin gemischt, hob dessen blutdrucksteigernde Wirkung auf. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß dieser Effekt der ausgesprochen alkalischen Reaktion des Serums zuzuschreiben ist. Dasselbe Serum in einer Verdünnung, die etwa der Eiweißkonzentration unserer Nucleoproteidlösungen entspricht, hatte dagegen gar keine Wirkung. Desgleichen erwies sich neutralisiertes Eiklar völlig unwirksam.

Der Mechanismus der geschilderten adrenalinzerstörenden Wirkungen ist durch unsere Versuche gar nicht geklärt worden. Wenn sie sicherlich nicht auf Anwesenheit freier OH-Ionen beruhen, so könnten doch durch den Eiweißzusatz H-Ionen Verschiebungen in Adrenalinlösungen eintreten, die evtl. die Oxydation des Adrenalins begünstigen. Es war vor allem die

Frage aufzuwerfen, inwieweit hier überhaupt der Oxydation eine ausschlaggebende Rolle zukommt. Sollte das nicht der Fall sein, so müßte man an chemische oder physikalische Bindungen des Adrenalins mit den wirksamen Eiweißstoffen denken, und diese wären dann gerade dem Adrenalin gegenüber von hohem praktischen und theoretischen Interesse.

Einige Anhaltspunkte dafür, daß diese letztere Annahme die richtige ist, sind in der durch die Kriegsverhältnisse verzögerten II. Mitteilung enthalten.

### Zusammenfassung.

1. Diphtherietoxin, in noch höherem Maße aber Bakteriennucleoproteide, heben nach längerem Kontakt mit Adrenalin dessen blutdrucksteigernde Wirkung auf.

2. Diese adrenalinzerstörende Wirkung kann nicht lediglich auf die Anwesenheit freier Hydroxylionen zurückgeführt werden.

3. Gekochtes Diphtherietoxin, sowie gewöhnliche unbewachsene Nährbouillon sind viel weniger oder gar nicht wirksam.

### Versuch 1. 24. VI. 1914.

Schwarzer Spitz, 9 kg Körpergewicht, 9 cm 3<sup>o</sup>/<sub>10</sub> Morph. hydrochl. subcutan. Athernarkose, künstliche Atmung. Thoraxeröffnung. Bilaterale Vagotomie. Schreibung des Carotisdruckes. Injektionen in die Jugularis.

3<sup>h</sup> 49' p. m. Beginn des Versuches.

3<sup>h</sup> 51' " Druck 95 mm Hg.

A. 3<sup>h</sup> 56' " Injektion von 0,2 1 prom. Adrenalin + 0,8 phys. Kochsalzl. Sofortige, stetige Erhebung der Blutdruckkurve, die nach 10 Sek. ihr Maximum erreicht (232 mm Hg) und etwa 4 Min. andauert.

4<sup>h</sup> 1' " Blutdruck oszilliert um 62 mm Hg.

B. 4<sup>h</sup> 2' " Injektion von 0,2 1 prom. Adrenalin + 0,1 Diphtherietoxin + 0,7 phys. Kochsalzl. Sofortige Erhebung der Blutdruckkurve, die nach nicht ganz 2 Sek. ihr Maximum erreicht (107 mm Hg) und etwa 4 Min. andauert.

4<sup>h</sup> 7' " Blutdruck oszilliert um 78 mm Hg.

C. 4<sup>h</sup> 8' " Injektion von 0,2 1 prom. Adrenalin + 0,05 Diphtherietoxin + 0,75 phys. Kochsalzl. Sofortige Erhebung der Kurve. Maximum nach 8 Sek. 152 mm Hg. Dauer 4 Min.

4<sup>h</sup> 12' " Blutdruck oszilliert um 84 mm.

- D. 4<sup>h</sup> 13' p. m. Injektion von 0,2 1 prom. Adrenalin + 0,8 phys. Kochsalzl. Effekt wie sub A: nach 10 Sek. Maximum von 240 mm Hg. Dauer 4 Min.

### Versuch 2. 1. VII. 1914.

Pudel, 11 kg Körpergewicht. Versuchsbedingungen wie Versuch I.

- 3<sup>h</sup> 30' p. m. Beginn des Versuches.  
 3<sup>h</sup> 34' " Blutdruck oszilliert um 150 mm Hg.  
 A. 3<sup>h</sup> 35' " Injektion von 0,1 1 prom. Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin + 0,7 phys. Kochsalzl. Kein Effekt. Blutdruck oszilliert um 149 bis 148.  
 B. 3<sup>h</sup> 39' " Injektion von 0,1 1 prom. Adrenalin + [0,2 Diphtherietoxin + 0,4 Diphtherieantitoxin (Höchst 500fach, 1:250)]. Kein Effekt. Blutdruck oszilliert um 142.  
 C. 3<sup>h</sup> 40' " Injektion von 0,1 1 prom. Adrenalin + 0,15 Diphtherietoxin + 0,75 phys. Kochsalzl. Kein Effekt. Blutdruck oszilliert um 134.  
 D. 3<sup>h</sup> 42' " Injektion von 0,1 1 prom. Adrenalin + 0,9 phys. Kochsalzl. Nach 2 Sek. langsame, stetige Erhebung der Blutdruckkurve, die nach 8 Sek. ihr Maximum erreicht: 172 mm Hg Dauer etwa 4 Min.  
 E. 3<sup>h</sup> 48' " Blutdruck oszilliert um 132 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,8 phys. Kochsalzl. Sofortige Erhebung der Kurve. Maximum nach etwa 6 Sek. 186 mm Hg. Dauer 4 Min.  
 F. 3<sup>h</sup> 53' " Blutdruck oszilliert um 130 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Nährbouillon + 1,6 phys. Kochsalzl. Sofortige Erhebung der Kurve. Maximum nach etwa 6 Sek. 166 mm Hg. Dauer 4 Min.  
 G. 3<sup>h</sup> 58' " Blutdruck oszilliert um 135 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin + 0,8 phys. Kochsalzl. Kein Effekt. Blutdruck oszilliert um 135 bis 130.  
 usw.

### Versuch 3. 3. VII. 1914.

Rattler, 8 kg schwer. Versuchsbedingungen wie Versuch 1.

- 4<sup>h</sup> 32' p. m. Beginn des Versuches.  
 A. 4<sup>h</sup> 33' " Blutdruck oszilliert um 144 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,8 phys. Kochsalzl. Sofortiger Anstieg, nach 5 Sek. erreichte die Kurve das Maximum: 246 mm Hg. Dauer 4 Min.  
 4<sup>h</sup> 38' " Blutdruck oszilliert um 136 mm Hg.  
 B. 4<sup>h</sup> 39' " Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin + 0,05  $\frac{1}{10}$ -HCl + 0,55 phys. Kochsalzl. (sauer gegen Phenolphthalein). Sofortiger Anstieg, nach 4 Sek. Maximum: 218 mm Hg. Dauer 2 Min.



- 4<sup>h</sup> 42' p. m. Blutdruck oszilliert um 122 mm Hg.
- C. 4<sup>h</sup> 44' " Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Nährbouillon + 0,05  $\frac{a}{10}$  HCl + 0,55 phys. Kochsalzl. (sauer gegen Phenolphthalein). Sofortiger Anstieg, Maximum nach 3 Sek.: 222 mm Hg. Dauer 2 $\frac{1}{4}$  Min.
- 4<sup>h</sup> 47' " Blutdruck oszilliert um 120 mm Hg.
- D. 4<sup>h</sup> 49' " Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,8 500fach. Höchster Antitoxinserum 1:250. Sofortiger Anstieg, nach 4 Sek. Maximum 230 mm Hg. Dauer 4 Min.
- E. 4<sup>h</sup> 54' " Blutdruck schwankt um 126 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 unverdünntes Pferdeserum (Diphtherieantitoxin) + 0,6 phys. Kochsalzl. Kein Effekt. Blutdruck schwankt um 126 mm Hg.
- F. 4<sup>h</sup> 55' " Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin gekocht + 0,6 phys. Kochsalzl. Sofortiger Anstieg nach 4 Sek. Maximum von 240 mm Hg. Dauer 3 Min.
- G. 4<sup>h</sup> 58' " Blutdruck schwankt um 100 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Nährbouillon gekocht + 0,6 phys. Kochsalzl. Reaktion wie vorhin.
- H. 5<sup>h</sup> 3' " Blutdruck schwankt um 60 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtheriebacillennucleoproteid (1:500), angesäuert + 0,6 phys. Kochsalzl. Kein Effekt. Blutdruck unverändert.

#### Versuch 4. 6. VII. 1914.

Junger weißer Hund, 7,5 kg schwer. Versuchsbedingungen wie Versuch 1.

- 3<sup>h</sup> 45' p. m. Beginn des Versuches.
- B. 3<sup>h</sup> 46' 5'' " Blutdruck schwankt um 56 mm Hg. Injektion von 0,2 1 prom. Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin + 0,6 phys. Kochsalzl. Nach etwa 1 Sek. leichte Erhebung der Blutdruckkurve, nach etwa 3 Sek. Maximum: 84 mm Hg, starke Schwankungen. Dauer etwa 7 Sek.
- 3<sup>h</sup> 50' " Blutdruck schwankt um 58 mm Hg.
- D. 3<sup>h</sup> 50' 3'' " Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Nährbouillon + 0,6 Kochsalzl. Sofortiger Anstieg, nach etwa 4 Sek. Maximum: 146 mm Hg. Dauer 3 Minuten.
- F. 3<sup>h</sup> 54' 5'' " Blutdruck schwankt um 64 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 einer Sodalösung, deren Reaktion (colorimetrisch gegen Phenolphthalein) der Reaktion der Toxin- wie der Nährbouillon gleich, + 0,6 phys. Kochsalzl. Langsame Erhebung der Kurve. Nach etwa 2 Sek. Maximum: 94 mm Hg. Kurze Dauer, doch bleibt der Blutdruck längere Zeit um 80 mm Hg schwankend.
- 4<sup>h</sup> " Blutdruck schwankt um 70 mm Hg.

- C. 4<sup>h</sup> 0' 3" p. m. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,1 Diphtherietoxin + 0,7 phys. NaCl. Sofort Erhebung. Maximum von 100 mm Hg nach etwa 2 Sek. Dauer etwa 1 Min.
- E. 4<sup>h</sup> 4' " Blutdruck schwankt um 76 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,1 Nährbouillon + 0,7 phys. NaCl. Sofort steiles Ansteigen der Kurve, Maximum nach etwa 5 Sek.: 176 mm Hg. Dauer der Reaktion über 2 Min.
- G. 4<sup>h</sup> 7' " Blutdruck schwankt um 76 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,1 obiger Sodalösung + 0,7 phys. NaCl. Sofortiger Anstieg, nach etwa 2 Sek.: 144 mm Hg. Dauer des Effektes über 2 Min.
- L. 4<sup>h</sup> 37' " Blutdruck schwankt um 80 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtheriebacillennucleoprotein<sup>1)</sup> + 0,6 NaCl. Kein Effekt.
- M. 4<sup>h</sup> 38' " Blutdruck schwankt um 88 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,1 desselben Nucleoproteids + 0,7 NaCl. Kein Effekt.
- N. 4<sup>h</sup> 40' " Blutdruck schwankt um 92 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,05 desselben Nucleoproteids + 0,75 NaCl. Spur eines Anstieges bis auf 102 mm Hg.
- O. 4<sup>h</sup> 42' " Blutdruck um 100 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,01 derselben Nucleoproteids + 0,79 NaCl. Sofortiger Anstieg, nach etwa 1 Sek. Maximum: 152 mm Hg. Dauer 3 Min.
- P. 4<sup>h</sup> 45' " Blutdruck um 96 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Scharlachstreptokokkennucleoproteids<sup>1)</sup> + 0,6 phys. NaCl. Kein Effekt.
- A. 4<sup>h</sup> 47' " Blutdruck um 96 mm Hg. Kontrollinjektion von 0,2 Adrenalin + 0,8 phys. NaCl. Sofortiger Anstieg. Maximum nach etwa 2 Sek.: 182 mm Hg. Dauer über 3 Min.
- R. 4<sup>h</sup> 51' " Blutdruck um 88 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin angesäuert (bis zur sauren Reaktion gegen Phenolphthalein) + 0,6 phys. NaCl. Fast sofortiger Anstieg, nach etwa 2 Sek. Maximum: 132 mm Hg. Dauer etwa 2 Min.

## Versuch 5. 10. VII. 14.

Junger Rattler, 6 kg schwer. Operation wie bisher.

4<sup>h</sup> 3' p. m. Beginn des Versuches.

- H. 4<sup>h</sup> 3' 50" " Blutdruck schwankt um 68 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Nährbouillon + 0,6 phys. NaCl. Sofort steiler Anstieg. Maximum nach etwa 3 Sek.: 168 mm Hg. Dauer über 2 Min.

<sup>1)</sup> 4 prom. Lösung.

- A. 4<sup>h</sup> 8' p. m. Blutdruck um 68 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,8 phys. NaCl. Sofort steiler Anstieg, Maximum nach einigen 2 Sek.: 180 mm Hg. Dauer der Reaktion etwa 5 Min.
- C. 4<sup>h</sup> 15' " Blutdruck um 72 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 Diphtherietoxin + 0,6 phys. NaCl. Langsamer Anstieg. Maximum nach etwa 4 Sek.: 102 mm Hg. Dauer der Reaktion etwa 3 Min.
- B. 4<sup>h</sup> 20' " Blutdruck um 66 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,2 gekochten Diphtherietoxins + 0,6 phys. NaCl. Sofortiger Anstieg. Maximum nach etwa 5 Sek.: 164 mm Hg. Dauer der Reaktion etwa 5 Min.
- K. 4<sup>h</sup> 26' " Blutdruck um 66 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,05 angesäuerten Diphtheriebacillennucleoproteids + 0,75 phys. NaCl. Langsamer Anstieg, nach etwa 3 Sek. Maximum: 82 mm Hg. Dauer der Reaktion: einige Sekunden.
- L. 4<sup>h</sup> 28' " Blutdruck um 60 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,035 desselben Nucleoproteids + 0,765 phys. NaCl. Rascherer Anstieg nach etwa 3 Sek. Maximum: 124 mm Hg. Dauer der Reaktion über 2 Min.
- M. 4<sup>h</sup> 32' " Blutdruck um 64 mm Hg. Injektion von 0,2 Adrenalin + 0,02 desselben Nucleoproteids + 0,78 phys. NaCl. Sofortiger Anstieg, nach etwa 5 Sek. Maximum: 148 mm Hg. Dauer der Reaktion über 2 Min.

## Zur Kenntnis des Adrenalins.

### II. Über die Änderung der gefäßverengenden Wirkung des Adrenalins unter dem Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen und nach Behandlung desselben mit verschiedenen bakteriellen Produkten und Eiweißkörpern.

Von

Franz von Gröer und Johann Matula.

(Aus der Kinderklinik und dem Laboratorium für physikalisch-chemische Biologie der Universität Wien. Ausgeführt mit Unterstützung der Fürst Liechtensteinschen Spende.)

(Eingegangen am 16. September 1919.)

Mit 8 Figuren im Text.

In der vorhergehenden Mitteilung<sup>1)</sup> ist gezeigt worden, daß nach längerem Kontakt mit verschiedenen bakteriellen Eiweißkörpern das Adrenalin seine blutdrucksteigernde Wirkung zum großen Teil verliert.

Die Deutung dieser Tatsache war keine einfache. Es mußte zuerst genauer festgestellt werden, inwieweit diese Erscheinung vom OH-Gehalt der wirksamen Substrate abhängig ist, inwieweit sie ferner mit der oxydativen Zerstörung des Adrenalins überhaupt zusammenhängt oder ob sie vielmehr als ein chemisches oder physikalisches Bindungsphänomen aufgefaßt werden kann.

Die Fortsetzung diesbezüglicher Untersuchungen mußte von Jahr zu Jahr — infolge des Mangels an Tiermaterial — hinausgeschoben werden. Erst als es dem einen von uns (v. Gröer) gelang, eine einfache Methodik der Adrenalinauswertung auszuarbeiten, die erlaubt, an wenigen Tieren und ohne sie zu töten viele Auswertungen vorzunehmen, konnten unsere Versuche wieder in Angriff genommen werden.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 102, 1, 1920.

Die Methode der biologischen Adrenalinauswertung, um die es sich hierbei handelt und der wir uns zur Auswertung unserer Lösungen in dieser Arbeit ausschließlich bedienen, ist die der intracutanen Adrenalinreaktion<sup>1)</sup> am Meerschweinchen.

In die rasierte, unpigmentierte Bauchhaut eines Meerschweinchens werden verschiedene Verdünnungen der zu prüfenden Adrenalinlösung in Mengen von 0,1 ccm injiziert. Es wird diejenige Verdünnung festgestellt, die eine eben noch deutliche Erblassungsreaktion hervorruft. An demselben Tier wird dann eine Standardlösung des Adrenalins auf die gleiche Weise geprüft, wodurch die in beträchtlicher Breite schwankende Empfindlichkeitsgrenze des Tieres ermittelt wird. Der Vergleich der beiden Verdünnungen (der Wert der Vergleichslösung = 100 gesetzt) ergibt einen ungefähren Wert der geprüften Adrenalinlösung, was ihre gefäßverengende Wirkung anbelangt. Die Reaktionen sind bei Tageslicht am besten sichtbar. Die zur Injektion vorbereiteten Verdünnungen müssen sogleich injiziert werden, denn das längere Stehen hochverdünnter Adrenalinlösungen (von 1:1 Million aufwärts) hat merkliche Abnahme der Wirksamkeit zur Folge. Die Empfindlichkeit der Meerschweinchen ist wie gesagt eine sehr schwankende. Während wir zuerst<sup>2)</sup> mit einem recht unempfindlichen Stamm arbeiteten, der erst zwischen 1:500000 und 1:1 Million des l. Suprarenin. hydrochl. Hoechst deutliche Reaktionen zeigte, haben wir später Tiere bekommen, bei denen noch Verdünnungen 1:2 bis 1:8 Millionen typische Erblassungen hervorriefen. Am empfindlichsten sind nicht immer albinotische Tiere, wohl hängt aber die Empfindlichkeit des Tieres zum Teil von der Dicke seiner Haut ab, indem dünnere Haut sich empfindlicher erweist. Bei wiederholt gespritzten Tieren glauben wir eine Steigerung der Empfindlichkeit beobachtet zu haben, eine Erscheinung, die wohl einiges Interesse beansprucht. Wie zahlreiche Kontrollversuche bewiesen haben, ändert sich jedoch die Empfindlichkeit des Tieres während des Versuches nicht. Die Genauigkeit der Methode ist natürlich keine sehr große, ist aber für Orientierungszwecke ausreichend und nähert sich z. B. der intracutanen Auswertungsmethode des Diphtherietoxins.

Als Adrenalin benützten wir 2 Präparate von l. Supraren. hydrochl. Hoechst (1‰), die uns von den Höchster Farbwerken gütigst überlassen worden waren und ein Präparat von Adrenalinum hydrochl. R. Heister-Chrast (1‰), das viel saurer befunden wurde. Die Mischungen wurden stets in konstanten Volumina von 5 ccm (Adrenalinegehalt 1:10000, entsprechend 0,5 ccm auf je 5 ccm der Mischung) zubereitet. Sie standen, falls nicht anders vermerkt ist, stets 16 Stunden bei 37° in gewöhnlichen sterilen Reagensgläsern aus Jenaglas, mit Watte zuempfpfropft, bzw. in den den Paulischen Gaselektroden nachgebildeten Glasgefäßen (Abb. 1) unter Wasserstoffatmosphäre. Es wurde steril gearbeitet, außerdem

<sup>1)</sup> v. Gröer, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 7, 1919.

<sup>2)</sup> Vgl. v. Gröer, l. c.

waren die Ausgangssubstanzen der Mischung mit Antisepticiis versetzt (Chloreton, Phenol). Die Verdünnungen der Mischungen wurden stets unmittelbar vor der Injektion bereitet. Identische Mischungen wurden gleichzeitig zur Wasserstoffionenmessung auf elektrometrischem Wege (nach dem im Paulischen Laboratorium üblichen Verfahren) benutzt. Auch das Aussehen der Mischungen wurde notiert. Die Versuchsergebnisse wurden in Tabellen zusammengefaßt, zum Teil auch graphisch dargestellt. Von der Wiedergabe genauer Protokolle jeder einzelnen Auswertung sehen wir aus Raumersparnisrücksichten ab.

### 1. Einfluß der alkalischen Reaktion auf die gefäßerregende Adrenalinwirkung.

Die Tatsache der überaus leichten Zersetzlichkeit des Adrenalins bei alkalischer Reaktion ist längst und hinreichend bekannt. Die Prospekte der Adrenalinfabrikanten warnen sogar vor dem alkalisierenden Einfluß der Glaswände der Gefäße, in denen Adrenalinlösungen aufbewahrt werden. Als Zeichen der eintretenden Zersetzung (Oxydation) unter dem Einfluß der  $\text{OH}^-$  tritt in alkalisierten Adrenalinlösungen (unter Luftzutritt) allmähliche Verfärbung auf. Sie werden zuerst schwach rosa, dann rot, schließlich bräunlich. Diese Verfärbung ist nicht bei allen käuflichen Präparaten gleich. Während Adrenalin Takamine (Parke und Davis), sowie Tonogen Richter sehr rasch rötlich violett und braun werden, wird das Suprarenin Hoechst langsamer dunkelrot, dann weniger braun, als gelblich rot. Das Adrenalin R. Heisler-Chrast ist auffallend widerstandsfähig und ändert seine Farbe nur schwer und nach längerem Stehen. Wie es scheint, werden von den Produzenten reduzierende Substanzen (schwefelige Säure?) den käuflichen Adrenalinlösungen zugesetzt, die die oxydative Verfärbung des Adrenalins verdecken sollen. Ein solches Präparat scheint das Adrenalin R. Heisler-Chrast zu sein. Die käuflichen Adrenalinlösungen sind auch durchweg sauer. Die  $\text{C}_H$  schwanken stark zwischen  $10^{-3}$  und  $10^{-5}$ .

Die Änderung der biologischen Wirksamkeit der unter dem Einfluß von  $\text{OH}^-$  zersetzten Adrenalinlösungen ist bisher nur wenig quantitativ untersucht worden. In der neusten Zeit hat O. Loew<sup>1)</sup> die

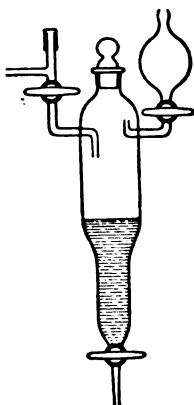


Fig. 1.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 85, 1918.

Frage nach der Änderung der Adrenalingiftigkeit unter Einfluß von Alkali aufgeworfen und hat sie am Zellkern der *Spirogyra majuscula* als biologischem Objekt geprüft. Er fand, daß das Suprarenin in Form eines Salzes nur ein schwaches Gift für niedere pflanzliche und tierische Organismen darstellt, wogegen die freie Base, sowie ihre — unter Alkali-einfluß entstehenden — roten (ersten) Oxydationsprodukte viel stärker giftig wirken. Mit der fortschreitenden Sauerstoffaufnahme der alkalischen Suprareninlösung und Bildung eines braunen Produktes schwinden die giftigen Eigenschaften wieder. Loew nimmt an, daß die Steigerung der Adrenalingiftigkeit durch Alkali auf Labilisierung der Wasserstoffatome im Adrenalinmolekül zurückzuführen sei.

Wir haben nun mit Hilfe unserer Methodik diese Verhältnisse studiert. In der 1. Versuchsreihe prüften wir den Einfluß verschiedener  $C_{OH}$  (Hydroxylionenkonzentration) auf die im Intracutanversuch nachweisbare gefäßverengende Adrenalinwirkung, indem wir stets eine und dieselbe l-Suprareninmenge (Höchst) mit verschiedenen Mengen  $\frac{n}{200}$ -NaOH versetzten und die Proben 16 Stunden bei  $37^{\circ}$  stehen ließen. Die Resultate sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Tabelle I.

Einfluß des  $OH^{-}$  auf l. Suprarenin. hydrochl. Hoechst unter Luftatmosphäre. Volumen der Mischung: 5 ccm. Darin 0,5 ccm 1‰-Suprareninlösung, verschiedene Mengen  $\frac{n}{200}$ -NaOH ergänzt bis auf 5 ccm mit Aq. dest. Die Mischungen stehen 16 Stunden bei  $37^{\circ}$ .

Mischungszusatz zu 0,5 ccm Suprareninlösung (1‰)	$P_H$	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration von	Empfindlichkeitsgrenze d. Tieres für dieselbe, aber unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefährer Wert der Mischung im Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
ccm					
4,5 Aq. dest. . .	4,241	—	—	100,0	—
0,5 $\frac{n}{200}$ -NaOH + 4,0 Aq. dest.	7,716	1 : 1 000 000	1 : 1 500 000	66,6	rot
1,0 $\frac{n}{200}$ -NaOH + 3,5 Aq. dest.	8,623	1 : 200 000	1 : 1 500 000	13,3	rot, Stich ins Gelbliche
2,0 $\frac{n}{200}$ -NaOH + 2,5 Aq. dest.	9,694	1 : 10 000	1 : 1 500 000	0,66	gelbrötlich

Es zeigte sich, daß mit der Steigerung der  $C_{OH}$  das Suprarenin zuerst sehr rasch, dann etwas langsamer zerstört wird, wobei es die bekannten Farbenänderungen zeigt. Eine 2. Versuchsreihe unternahmen wir mit Adrenalin R. Heisler-Chrast, dem wir statt einer Lauge eine Pufferlösung von

$P_H = 8.5428$  (Borat + HCl) in wechselnden Mengen zusetzten (Tabelle Ia). Dieser Zusatz bewirkte seiner Natur entsprechend keine fortschreitende Änderung der H-Ionenkonzentration. Die versetzten Mischungen nahmen annähernd die Reaktion des Puffers an. Infolgedessen war nach dem ersten Sturz auch die Änderung der gefäßverengenden Adrenalinwirkung äußerst minimal, ein Anhaltspunkt dafür, daß zwischen der durch Alkali vermittelten oxydativen Adrenalinzerstörung und der  $C_{OH}$  cet. par. eine weitgehende Proportionalität besteht. Die für Adrenalin erhaltenen Werte, auf Wasserstoffionenkonzentrationen bezogen, stimmen mit den früher bei mit NaOH versetztem Suprarenin erhaltenen sehr gut überein, obgleich das neue Präparat sicherlich irgendwelche störende Zusätze enthält, die bewirken, daß die Farbenänderung eine weniger deutliche ist.

Tabelle Ia.

Einfluß der  $C_{OH}$  auf Adrenalin R. Heisler-Chrast unter Luftatmosphäre. Volumen der Mischung 5 ccm. Darin 0,5 ccm 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>-Adrenalinlösung, verschiedene Mengen der Pufferlösung, ergänzt bis auf 5 ccm mit Aq. dest. Die Mischungen stehen wie immer 16 Stunden bei + 37°.  $P_H$  der Pufferlösung: 8,543.

Mischungszusatz zu 0,5 ccm Adrenalin  ccm	$P_H$	Intracutane Grenz- reaktion bei Adrenalin- konzentration von	Empfindlich- keitsgrenze d. Tieres für die- selbe, aber un- vorbehandel- te Adrenal- inlösung	Ungefäher Wert der Mischung im Vergleich zur unvorbehandel- ten Adrenal- inlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . . .	2,406	—	—	100,0	farblos
0,5 Puffer + 4,0 Aq. dest. . . . .	8,442	1 : 400 000	1 : 2 000 000	20,0	gelblich- rosa
1,0 Puffer + 3,5 Aq. dest. . . . .	8,504	1 : 300 000	1 : 2 000 000	15,0	"
2,0 Puffer + 2,5 Aq. dest. . . . .	3,563	1 : 300 000	1 : 2 000 000	15 0	"
3,0 Puffer + 1,5 Aq. dest. . . . .	8,525	1 : 400 000	1 : 3 000 000	13,3	"

In der Fig. 2 sind die Änderungen der Suprarenin- bzw. Adrenalinwirkung unter dem Einfluß der betreffenden Zusätze graphisch anschaulich gemacht.

Nun untersuchten wir die Veränderungen, die die gefäßverengende Wirkung des Adrenalins unter Alkalieinfluß erleidet in Abhängigkeit von der Dauer der Alkalieinwirkung. Wir benutzten hierzu wiederum das I. Suprarenin Hoechst, das wir



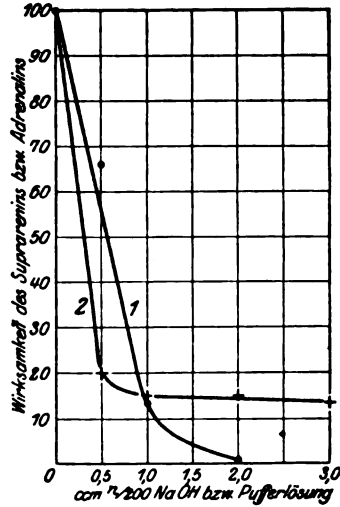


Fig. 2. Änderung der gefäßverengernden Wirkung des Suprarenins (1) bzw. Adrenalins (2) nach 16stünd. Einwirkung verschiedener Mengen  $\frac{n}{200}$ -NaOH bei 37°.

das eine Mal mit 1,0 ccm (Tabelle II), das andere mit 2,0 ccm  $\frac{n}{200}$ -NaOH (Tabelle IIa) versetzten und sofort nach der Mischung in den in den Tabellen angegebenen Zeitintervallen auf die gefäßverengende Wirkung prüften.

Tabelle II.

Einfluß der OH<sup>-</sup> auf I. Suprarenin hydrochl. Hoechst unter Luftatmosphäre während verschiedener Zeiten der Einwirkung. 0,5 Suprarenin  $\frac{1}{100}$  + 1,0  $\frac{n}{200}$ -NaOH + 3,5 Aq. dest. Bei 37° P<sub>H</sub> 8,623.

Zeit der Einwirkung in Stunden	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze des Tieres für unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefäher Wert d. untersuchten Flüssigkeit im Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
0 (Sofort nach der Mischung)	1 : 1500 000	1 : 1500 000	100,0	farblos
2	1 : 2500 000	1 : 1000 000	250,0	rosa
4	1 : 900 000	1 : 1000 000	90,0	rosa
6	1 : 500 000	1 : 1000 000	50,0	rot
9	1 : 80 000	1 : 500 000	16,0	rot, Stich ins Gelbliche
18	1 : 200 000	1 : 1500 000	13,3	rot, Stich ins Gelbliche

Die Resultate sind am deutlichsten aus der graphischen Darstellung zu ersehen (Fig. 3).

Tabelle IIa.

Versuchsordnung wie Tabelle II. 0,5 Suprarenin (1<sup>o</sup>/<sub>100</sub>) + 2,0 <sup>m</sup>/<sub>100</sub>-NaOH + 2,5 Aq. dest. Bei 37° P<sub>H</sub> 9,694.

Zeit der Einwirkung in Stunden	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze des Tieres für unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefährer Wert d. untersuchten Flüssigkeit im Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
0 (Sofort nach der Mischung)	1 : 3000000	1 : 1500000	200,0	farblos
2	1 : 1500000	1 : 1000000	150,0	rosa
4	1 : 1500000	1 : 1500000	100,0	rot
6	1 : 1000000	1 : 1000000	100,0	rot
9	1 : 200000	1 : 1000000	20,0	rotgelb
16	1 : 10000	1 : 1500000	0,66	gelbrötlich

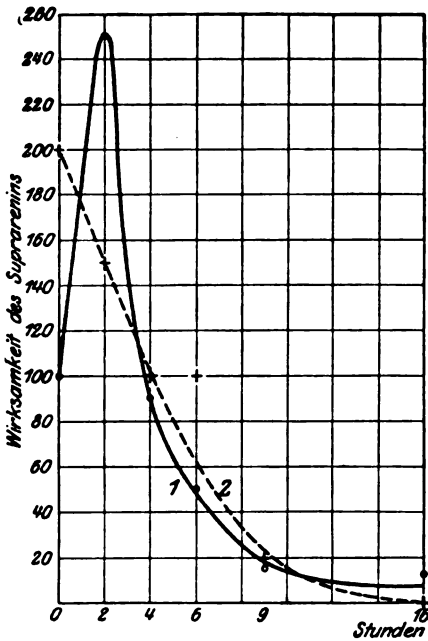


Fig. 3. Änderung der gefäßverengernden Wirkung des Suprarenins unter dem Einfluß verschiedener COH während 16 Stunden bei 37°.

Man sieht, daß der Alkalizusatz die gefäßverengernde Suprareninwirkung zuerst erhöht und erst nach einer gewissen Zeit vermindert. Hierbei ist ein Unterschied im

Verhalten beider Mischungen zu erkennen. Während der Zusatz von 1,0 ccm  $\frac{n}{900}$ -NaOH im Moment der Mischung bei Suprareninwirksamkeit noch nicht verändert und erst nach 2 Stunden der Einwirkung erhöht, ist beim Zusatz von 2 ccm der Lauge bereits sofort nach der Mischung eine Steigerung der Suprareninwirksamkeit auf das Doppelte feststellbar. Wir haben also eine Be-

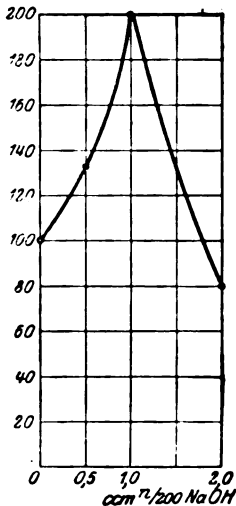


Fig. 4. Änderung der gefäßverengenden Wirkung des Suprarenins nach Einwirkung verschiedener Mengen  $\frac{n}{900}$ -NaOH nach 16 Stunden unter H-Atmosphäre.

stätigung der Befunde O. Loews, wonach die Adrenalinwirksamkeit durch Alkalizusatz gesteigert wird. Man kann sich denken, daß hierbei zunächst die Suprareninbase freigemacht wird, zweitens, daß schon durch alleinige  $\text{OH}^-$ -Wirkung Veränderungen am Suprareninmolekül hervorgerufen werden, die seine Wirksamkeit steigern, die aber noch nicht auf Oxydationsprozesse zurückzuführen sind. Daß dem wirklich so ist, zeigte uns die Wiederholung der Versuchsreihe der Tabelle I unter Wasserstoffatmosphäre. Die Mischungen sind in den elektrodenähnlichen Gefäßen unter Wasserstoff vorgenommen worden und standen auch unter Luftabschluß. Sie blieben auch — zum Zeichen daß keine Oxydation stattgefunden hat — farblos. Die Resultate sind aus der Tabelle III und noch besser aus der Fig. 4 zu ersehen.

Tabelle III.

Versuchsordnung wie Tab. I, nur unter Wasserstoffatmosphäre.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Suprarenin- lösung $\frac{n}{900}$ ccm	pH	Intracutane Grenzreak- tion bei Su- prareninkon- zentration von	Empfindlich- keitsgrenze d. Tieres für die- selbe aber un- vorbehandelte Supra- reninlösung	Ungefährer Wert der Mi- schung i. Ver- gleich zur un- vorbehandel- ten Supra- reninlösung	Aussehen der Mischung
4,5 phys. NaCl	4,241	—	—	100	—
0,5 $\frac{n}{900}$ -NaOH + 4,0 phys. NaCl	7,716	1 : 2 000 000	1 : 1 500 000	133,3	farblos
1,0 $\frac{n}{900}$ -NaOH + 3,5 phys. NaCl	8,623	1 : 3 000 000	1 : 1 500 000	200	farblos
2,6 $\frac{n}{900}$ -NaOH + 2,5 phys. NaCl	9,694	1 : 800 000	1 : 1 000 000	80	farblos

Man sieht, daß der Effekt der Alkaliwirkung unter Luftabschluß ein ganz entgegengesetzter ist:

Die Suprareninwirksamkeit wird durch Alkalizusatz unter Wasserstoff mächtig gesteigert, und zwar in steigendem Maße mit der Steigerung der Alkalität. Erst die extreme Laugmenge ergibt einen Abfall der Suprareninwirksamkeit, der aber im Vergleich zur unvorbehandelten Lösung nur ein ganz geringer ist.

Zusammenfassend läßt sich also über den Alkalieinfluß auf die gefäßverengende Adrenalinwirkung folgendes sagen: Die alkalische Reaktion bewirkt zuerst eine mächtige Steigerung der gefäßverengenden Adrenalinwirksamkeit, die mit der wachsenden  $C_{OH}$  zuerst ebenfalls wächst und auch in sauerstofffreier Atmosphäre ebenso nachweisbar, also nicht auf Vermittlung der Oxydation zurückzuführen ist. Dagegen beruht die nach einer längeren Einwirkungszeit der alkalischen Reaktion mit Verfärbung der Adrenalinlösungen einhergehende Abnahme seiner gefäßverengenden Wirksamkeit offenbar auf einer durch OH-Wirkung eintretenden Oxydation, denn sie erfolgt nur bei Zutritt des Sauerstoffes. Diese abschwächende Alkaliwirkung wächst ebenfalls mit der wachsenden  $C_{OH}$ , zuerst langsam, dann sehr rasch, dann wieder langsamer.

## 2. Einfluß des Diphtherietoxins auf Adrenalin.

Nach diesen Vorversuchen wandten wir uns unserem eigentlichen Thema über die Natur der adrenalinabschwächenden Wirkung verschiedener Eiweißkörper bzw. eiweißartiger Substanzen zu.

Als erstes Untersuchungsobjekt kam wiederum das Diphtherietoxin, von dem ja unsere Untersuchungen ihren Ausgang nahmen, in Betracht.

Die von uns jetzt angewandte diphtherietoxinhaltige Bouillon war viel weniger giftig als die seinerzeit (s. I. Mitteilung) gebrauchte.

Die kleinste letale Dosis des in diesen Versuchen angewandten Toxins „Martha“ (auf Placentabouillon<sup>1)</sup>) war nahe an 0,05 ccm (bei

<sup>1)</sup> Vgl. v. Gröer und Sluka, Centralbl. f. Bakt. O. 82, 1918.

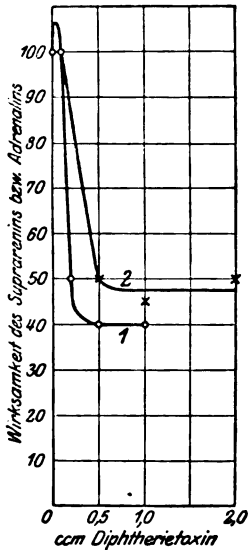


Fig. 5. Einfluß des Diphtherietoxins auf Suprarenin (1) bzw. Adrenalin (2) nach 16 Stunden bei 37° unter Luftatmosphäre.

$P_H = 8,5388$ ), das neue Toxin war also ungefähr 10mal so schwach als das frühere.

Unsere 2 Versuchsreihen — in der ersten wurde Suprarenin Hoechst, in der zweiten Adrenalin Heisler-Chrast mit verschiedenen Mengen nativen und präparierten Toxins gemischt — geben die Tabellen IV und IVa, sowie die graphische Darstellung (Fig. 5) wieder.

Was zuerst die Wirkung der nativen Toxinboullion betrifft, so sehen wir, daß sie in beiden Fällen der Wirkung eines alkalischen Puffers auf Adrenalin ähnlich ist. Auf Zusatz kleiner Mengen des Toxins zum Suprarenin ändert sich zunächst seine gefäßverengende Wirksamkeit nicht (oder wird wahrscheinlich gesteigert), dann erfolgt ein Abfall der Adrenalinwirksamkeit, der durch weitere Toxinzugaben nicht mehr vertieft wird.

Tabelle IV.

Einfluß des Diphtherietoxins auf 1. Supraren. hydr. Hoechst. Volumen der Mischung 5 ccm. Darin 0,5 ccm 1‰ Suprareninlösung, verschiedene Mengen des Diphtherietoxins, bis auf 5 ccm mit Aq. dest. ergänzt. Die Mischungen stehen 16 Stunden bei + 37°.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Suprarenin ccm	$P_H$	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze d. Tieres für die unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefäher Wert der Mischung i. Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . .	4,241	—	—	100	farblos
0,1 D.-Toxin + 4,4 Aq. dest.	6,310	1 : 1 000 000	1 : 1 000 000	100	rosarot
0,2 D.-Toxin + 4,3 Aq. dest.	7,1	1 : 500 000	1 : 1 000 000	50	rosagelb
0,5 D.-Toxin + 4,0 Aq. dest.	7,948	1 : 400 000	1 : 1 000 000	40	gelb
1,0 D.-Toxin + 3,5 Aq. dest.	8,179	1 : 400 000	1 : 1 000 000	40	hellgelb
4,5 Aq. dest. . .	4,697	—	—	100	farblos
1,0 D.-Toxin gekocht + 3,5 Aq. dest. . . . .	7,263	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	dunkelbräunlich
1,0 D.-Toxin nativ + 3,5 Aq. dest.	7,723	1 : 1 500 000	1 : 3 000 000	50	hellbräunlich
1,0 D.-Toxin m. Antitox. + 3,5 Aq. dest. . . . .	—	1 : 3 000 000	1 : 6 000 000	50	hellbräunlich

Tabelle IVa.

Versuchsbedingungen wie Tabelle V. Statt Suprarenin Adrenalin.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Adrenalin  ccm	$P_H$	Intracutane Grenzreak- tion bei Adre- nalinkonzent- ration	Empfindlich- keitsgrenze d. Tieres für die unvorbehand- elte Supra- reninlösung	Ungefährer Wert der Mi- schung i. Ver- gleich zur un- vorbehand- elten Adre- nalinlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . .	2,406	—	—	100	farblos
0,5 D.-Toxin + 4,0 Aq. dest.	7,454	1: 1000 000	1: 2000 000	50	Farbe des Zusatzes
1,0 D.-Toxin + 3,5 Aq. dest.	7,830	1: 900 000	1: 2000 000	45	"
2,0 D.-Toxin + 2,5 Aq. dest.	8,189	1: 1000 000	1: 2000 000	50	"
0,5 D.-Toxin ge- kocht + 4,0 Aq. dest. . . . .	6,432	1: 3000 000	1: 2000 000	150	"
1,0 D.-Toxin ge- kocht + 3,5 Aq. dest. . . . .	6,959	1: 4000 000	1: 2000 000	200	"
2,0 D.-Toxin ge- kocht + 2,5 Aq. dest. . . . .	7,136	1: 4000 000	1: 1500 000	250	"
1,0 D.-Toxin u. An- titoxin + 4,0 Aq. dest. . . . .	—	1: 1500 000	1: 2000 000	75	"

Wenn wir aber die durch den Toxinzusatz herbeigeführte Reaktionsänderung der Adrenalinmischungen betrachten, so sehen wir, daß der Abfall der Adrenalinwirksamkeit bereits bei ganz geringfügiger Reaktionsänderung (in fast neutraler Lösung) ebenso groß ist als bei stark alkalischer Reaktion. Hier also entspricht die Abnahme der Adrenalinwirksamkeit der Änderung der  $C_{OH}$  nicht. Die Lösungen werden immer alkalischer und trotzdem geht die Adrenalinwirksamkeit nicht mehr herunter. Diese Erscheinung ist offenbar komplexer Natur. Das Toxin wirkt zunächst als Lauge — und als solche zuerst steigernd, dann zerstörend auf die Adrenalinwirksamkeit. Ferner aber stellt es eine Mischung nicht näher bekannter Eiweißkörper und deren Derivate dar, die anscheinend eine Schutzwirkung auf Adrenalin ausüben. Denn nur durch diese Annahme kann das oben geschilderte indifferentere Verhalten des Adrenalins gegenüber der steigenden Alkaleszenz erklärt werden. Diesen Eiweißstoffen des Toxins

kommt aber offenbar auch eine andere Wirkung zu. Der erste Abfall der Adrenalinwirksamkeit, der bereits auf Zusatz kleiner Toxinmengen sichtbar wird, kann nicht allein durch OH-Wirkung erklärt werden. Er erfolgt bei nahezu neutraler Reaktion, bei einer Reaktion, die allein nicht ausreicht, um das Adrenalin zu schädigen. Das sehen wir aus den Versuchen, die mit gekochtem Toxin angestellt worden sind. Die frühere Beobachtung, daß das gekochte Toxin keine Adrenalin zerstörende Wirkung mehr besitzt, konnte auch mit der neuen Methodik bestätigt werden. Das Toxin wurde 5 Minuten lang gekocht, die Flüssigkeit wurde bis auf das ursprüngliche Volumen mit Aq. dest. ergänzt. Das Toxin ändert hierbei seine Reaktion, es wird — wie auch manche andere Eiweißkörper — nach dem Kochen saurer. Infolgedessen ist auch die Reaktion der Adrenalinmischungen mit gekochtem Toxin nach der sauren Seite verschoben. Nun sehen wir, daß 0,2 ccm des nativen Toxins zu 0,5 ccm Suprarenin zugesetzt eine alkalische Reaktion der Mischung entsprechend  $P_H = 7,1$  und gleichzeitig einen Abfall der Adrenalinwirksamkeit von etwa 50 % bewirkt, während 1,0 ccm desselben, nur gekochten Toxins zu Suprarenin zugesetzt eine sogar etwas alkalischere Reaktion zur Folge hat ( $P_H = 7,2634$ ) und die Suprareninwirksamkeit ändert sich hierbei nicht! Interessant ist nur, daß die Wirksamkeit des Adrenalins Heisler durch Zusatz gekochten Toxins sogar mächtig gesteigert wurde — und das noch bei einer schwach sauren Reaktion der Mischung. Wir werden noch weiter unten sehen, daß die letztere Wirkung spezifisch vielen Eiweißkörpern eigen ist. Wir haben Grund zur Annahme, daß die schließliche Toxinwirkung auf Adrenalin als die Resultante mindestens dreier konkurrierender Faktoren aufzufassen ist: der  $C_{OH}$ , einer Gruppe spezifisch wirkender, durch Kochen zerstörbarer und einer Gruppe spezifischer, kochbeständiger Eiweißstoffe. Toxin-Antitoxingemische hatten — in Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen — ebenfalls deutliche adrenalinzerstörende Wirkung, dieselbe war jedoch — bei Adrenalin Heisler deutlich schwächer als die des reinen Toxins. Die Lösungen des Adrenalins Heisler änderten nach Toxinzusatz — im Gegensatz zu Suprarenin — ihre Farbe

nicht, trotzdem büßten sie ihre Wirksamkeit zum Teil und in ähnlichem Maße ein.

Diese komplizierten Verhältnisse bei Diphtherietoxin werden uns allmählich klarer, wenn wir uns der Untersuchung mehr einheitlich wirkender, Adrenalin verändernder Körper zuwenden. Als solche kamen — nach den früheren Erfahrungen — zuerst bakterielle Nucleoproteide in Betracht.

### 3. Einfluß des Diphtheriebacillennucleoproteids und des Typhusbacillennucleoproteids auf die gefäßerregende Wirksamkeit des Adrenalins.

In der ersten Mitteilung wurde bereits gezeigt, daß das Diphtheriebacillennucleoprotein nach Lustig und das auf gleiche Weise zubereitete Nucleoprotein aus Scharlachstreptokokken besonders starke adrenalinzerstörende Eigenschaften besitze, und das auch bei saurer Reaktion. In den vorliegenden Versuchen bedienten wir uns einer auf gleiche Weise wie früher bereiteten Diphtheriebacillennucleoproteidlösung (0,386<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, P<sub>H</sub> — 7,422) und der nach den Angaben des einen von uns [v. Gröer<sup>1)</sup>] von den Hoechst Farbwerken hergestellten 2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>igen Lösung

Tabelle V.

Einfluß des Diphtheriebacillennucleids auf I. Suprarenin hydrochl. Hoechst. Volumen der Mischung 5 ccm. 0,5 ccm 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>-Suprareninlösung, verschiedene Mengen des Nucleoproteids (0,386<sup>0</sup>/<sub>0</sub>) bis auf 5 ccm mit Aq. dest. aufgefüllt. Die Mischungen stehen 16 Stunden bei 37<sup>0</sup>.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Suprarenin  ccm	P <sub>H</sub>	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze d. Tieres für dieselbe, aber unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefährer Wert der Mischung i. Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . . .	4,241	—	—	100	farblos
0,1 DNP + 4,4 Aq. dest. . . . .	4,635	1 : 1 000 000	1 : 1 000 000	150	Spur rosa, opalescent
0,2 DNP + 4,3 Aq. dest. . . . .	4,675	1 : 750 000	1 : 1 000 000	75	rosa, trüb. Niederschl.
0,5 DNP + 4,0 Aq. dest. . . . .	4,878	1 : 400 000	1 : 800 000	50	rot, Niederschl. abges.
1,0 DNP + 3,5 Aq. dest. . . . .	5,119	1 : 400 000	1 : 1 000 000	40	rot, Niederschl. abges.

<sup>1)</sup> Therap. Monatshefte, November 1916.



des Typhusbacillennucleoproteids („Typhin“). Das Diphtheriebacillennucleoproteid (im folgenden Dnp. genannt) war unter Toluol aufbewahrt, das Typhin ist bis auf 0,5% mit Phenol versetzt ( $P_H = 6,609$ ).

Über den Einfluß verschiedener Mengen des Dnp. auf Suprarenin Hoechst gibt die Tabelle V Auskunft. Der Zusatz änderte nur wenig die saure Reaktion des Suprarenins, was schon daraus zu sehen war, daß das Nucleoproteid, dessen isoelektrische Zone um  $P_H = 5,0$  gelegen ist, bei der Mischung mit Suprarenin gefällt wurde.

Trotzdem färbten sich die Suprareninlösungen intensiv rot, als ob sie alkalisch gemacht worden wären. Der Zusatz bewirkte also — ähnlich wie die OH-Ionen — eine gesteigerte Oxydation des Suprarenins. Die vasokonstriktorische Wirksamkeit dieses letzteren erfuhr nun auf Zusatz kleinerer Mengen des Dnp. eine deutliche Steigerung, um dann stetig und beträchtlich abzufallen. Alles bei deutlich saurer Reaktion.

Eine noch viel mächtigere Wirkung auf das Suprarenin entwickelte nun das Typhin (vgl. Tabelle VI). Zuerst fiel es auf,

Tabelle VI.

Dieselbe Versuchsanordnung wie Tabelle V, statt Diphtherienucleoproteid — Typhin (nativ und gekocht).

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Suprarenin ccm	$P_H$	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze d. Tieres für die unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefäher Wert der Mischung i. Vergleich zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . .	4,241	—	—	100	farblos
0,1 Typhin + 4,4 Aq. dest.	5,633	1 : 500 000	1 : 2 000 000	25	intensiv rot
0,2 Typhin + 4,3 Aq. dest.	5,800	1 : 400 000	1 : 2 000 000	20	rosarot
0,5 Typhin + 4,0 Aq. dest.	6,005	1 : 20 000	1 : 1 000 000	2	fast farblos
1,0 Typhin + 3,5 Aq. dest.	6,162	1 : 10 000	1 : 1 000 000	1	farblos
4,5 Aq. dest. . .	4,697	—	—	100	farblos
0,5 Typhin + 4,6 Aq. dest.	5,891	1 : 800 000	1 : 6 000 000	13	fast farblos
0,5 Typhin gek. + 4,0 Aq. dest.	5,874	1 : 2 500 000	1 : 6 000 000	41	rot

daß bereits die kleinsten Typhinmengen (0,1 ccm einer 2<sup>o</sup>/<sub>o</sub>igen Lösung) genüigten, um eine intensive rote Färbung des Suprarenins hervorzurufen. Dagegen waren Mischungen mit größeren Mengen Typhin weniger gefärbt und sogar ganz farblos (bei 1,0 ccm Typhin auf 0,5 ccm Suprarenin). Bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration der Typhinmischungen fiel es uns auf, daß die gefärbten Lösungen durch Schütteln mit Wasserstoff entfärbt wurden, was sonst nie der Fall war. Die Reaktion des Suprarenins wurde durch Typhin stärker nach der alkalischen Seite verschoben, als das bei Dnp. der Fall war. Dennoch blieben die Mischungen deutlich sauer. Die Herabsetzung der vasokonstriktorischen Adrenalinwirksamkeit war nun eine ganz enorme. Schon 0,1 ccm Typhin zu 0,5 ccm Suprarenin zugesetzt, setzen dessen Wirksamkeit auf ein Viertel herab. Die bei Dnp. zuerst beobachtete Steigerung der Adrenalinwirksamkeit kam infolgedessen nicht zum Ausdruck. Es ist aber sehr auffallend, daß nicht alle Suprareninpräparate mit gleicher Intensität beeinflußt wurden. Eine andere Suprareninprobe war etwas weniger empfindlich. Immerhin war auch hier die Wirkung eines Kubikzentimeters Typhin — bei saurer Reaktion —

Tabelle VIa.

Dieselbe Versuchsanordnung wie Tabelle VI. Statt Suprarenin — Adrenalin Heisler. Typhin nativ und gekocht.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Adrenalin  ccm	P <sub>H</sub>	Intracutane Grenzreak- tion bei Adre- nalinkonzen- tration	Empfindlich- keitsgrenze d. Tieres für un- vorbehandel- te Adre- nalinlösung	Ungefährer Wert der Mi- schung i. Ver- gleich zur un- vorbehandel- ten Adre- nalinlösung	Aussehen der Mischung
4,5 Aq. dest. . .	2,406	—	—	100	farblos
0,2 Typhin					
+ 4,3 Aq. dest.	5,234	1: 2 000 000	1: 4 000 000	50	"
0,5 Typhin					
+ 4,0 Aq. dest.	5,640	1: 1 000 000	1: 3 000 000	33	"
1,0 Typhin					
+ 3,5 Aq. dest.	5,881	1: 500 000	1: 3 000 000	17	"
0,2 Typhin, gek.					
+ 4,3 Aq. dest.	5,234	1: 2 500 000	1: 4 000 000	62	"
0,5 Typhin, gek.					
+ 4,0 Aq. dest.	5,598	1: 1 500 000	1: 3 000 000	50	"
1,0 Typhin, gek.					
+ 3,5 Aq. dest.	5,801	1: 750 000	1: 2 000 000	37	"

derjenigen eines Kubikzentimeters  $\frac{n}{100}$ -NaOH gleich! Nun wurde auch das auf gleiche Weise (5 Min.) wie das Diphtherietoxin gekochte Typhin untersucht. Es zeigte sich, daß es dadurch in seiner suprareninzerstörenden Wirkung geschwächt wurde. Besonders interessant war, daß gekochtes Typhin eine bleibende Rotfärbung des Suprarenins verursachte, während die gleiche Menge der ungekochten Lösung nach derselben Einwirkungszeit regelmäßig farblos befunden wurde, ein augenfälliges Zeichen der durch Kochen verursachten Typhinveränderung. Die Reaktion der Typhinmischungen wurde durch Kochen fast garnicht beeinflusst. Die gleiche Versuchsanordnung, wurde nun mit

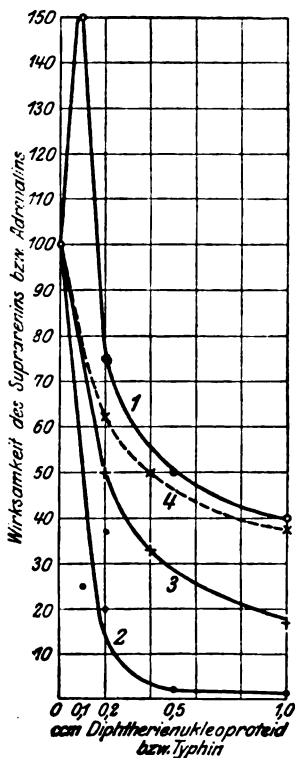


Fig. 6. Einfluß des Diphtherienucleoproteids (1), des Typhins (2), auf Suprarenin bzw. des Typhins nativ (3) und gekocht (4) auf Adrenalin.

Adrenalin Heisler wiederholt (Tabelle VIa). Dieses Präparat erwies sich dem Typhin gegenüber als viel resistenter. Die Mischungen blieben farblos. Die Versuchsreihe mit gekochtem Typhin zeigt uns, daß durch Kochen besonders die Wirkung großer Typhindosen betroffen wurde. Die Kurve der Herabsetzung der Adrenalinwirksamkeit durch gekochtes Typhin verläuft daher so, daß sie sich immer weiter von der durch ein ungekochtes Präparat bedingten entfernt (vgl. Fig. 6).

Die Fig. 6 bringt die graphische Darstellung der mit Dnp.-Typhin und gekochtem Typhin gewonnenen Resultate.

Den Gang der Einwirkung der Nucleoproteide auf das Adrenalin vom Moment der Mischung bis zu 16 Stunden nach derselben zeigen uns die Tabellen VII, VIII und Fig. 7. 0,5 ccm Suprarenin wurden mit 0,5 Dnp. bzw. Typhin gemischt und auf die Adrenalinwirksamkeit

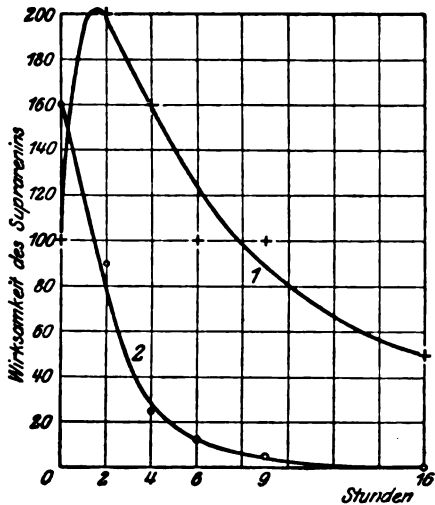


Fig. 7. Änderung der gefäßverengernden Wirkung des Suprarenins nach Mischung mit Diphtherienucleoproteid (1) und Thyphin (2).

in bestimmten Zeitintervallen geprüft. Die Dnp.-Suprareninlösung färbte sich immer intensiver, die Typhinsuprareninmischung färbte sich zwar erst ebenso, begann sich aber schon 6 Stunden nach der Mischung bis zur Farblosigkeit zu entfärben.

Tabelle VII.

Einfluß des Diphtheriebacillennucleoproteids auf 1. Suprarenin. hydrochl. Hoechst unter Luftatmosphäre, während verschiedener Zeiten der Einwirkung.

0,5 ccm Suprarenin 1‰ + 0,5 Dnp. + 4,0 Aq. dest. bei 37°. PH 4,878.

Zeit der Einwirkung in Stunden	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze des Tieres für unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefährer Wert der untersuchten Flüssigkeit, im Vergl. zur unvorbehandelten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
0 (sofort nach der Mischung)	1:1 000 000	1:1 000 000	100	farblos, trüb
2	1:2 000 000	1:1 000 000	200	Spur rosa, trüb
4	1: 800 000	1: 500 000	160	rosa trüb
6	1: 800 000	1: 800 000	100	rosa
9	1:1 000 000	1:1 000 000	100	rosarot
16	1: 400 000	1: 800 000	50	rosarot

Tabelle VIII.

Einfluß des Typhin auf l. Suprarenin. hydrochl. Hoechst, unter Luftatmosphäre während verschiedener Zeiten der Einwirkung.

0,5 Suprarenin 1/100 + 0,5 Typhus + 4,0 Aq. dest. bei 37°. PH 6,005.

Zeit der Einwirkung in Stunden	Intracutane Grenzreaktion bei Suprareninkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze des Tieres für unvorbehandelte Suprareninlösung	Ungefährer Wert der untersuchten Flüssigkeit, im Vergl. zur unvorbereiteten Suprareninlösung	Aussehen der Mischung
Ø (sofort nach der Mischung)	1:1300000	1: 800000	160	farblos
2	1: 750000	1: 800000	90	Spur rosa
4	1: 200000	1: 800000	25	rosa
6	1: 100000	1: 800000	12,5	rosa
9	1: 50000	1:1000000	5	Spur rosa
10	1: 20000	1:1000000	2	farblos

Die Dnp.-Suprareninmischung zeigte sich nach 2 und 4 Stunden nach der Mischung beträchtlich wirksamer als die Kontrolllösung, wogegen im Moment der Mischung keine Änderung der Suprareninwirksamkeit eingetreten war. Nach 6 Stunden war bereits ein Abfall der Adrenalinwirksamkeit feststellbar. Die Typhin-Suprareninlösung war bereits im Moment der Mischung stärker wirksam, als die Kontrolllösung, zeigte aber bereits nach 2 Stunden, also viel rascher, einen beträchtlichen Abfall der Suprareninwirksamkeit. Das Verhalten der beiden Nucleoproteide erinnert also an das Verhalten schwächerer und stärkerer Laugelösungen. Auch hier haben wir zuerst Steigerung, dann Abfall der Adrenalinwirksamkeit.

Zusammenfassend läßt sich also über die adrenalinbeeinflussende Wirkung bakterieller Nucleoproteide sagen, daß sie in deutlich saurer Lösung erstens die Oxydation des Adrenalins an der Luft beschleunigen (Verhalten der Farbenänderung der Suprareninlösungen), zweitens die gefäßerregende Wirksamkeit dieses Stoffes zuerst erhöhen und dann herabsetzen. Das Kochen der Nucleoproteide verändert sowohl ihre oxydationsbefördernde, als die die Adrenalinwirksamkeit beeinflussende Kraft im hemmenden Sinne: eine gekochte Typhinlösung verhält sich etwa so wie eine native, viel schwächer wirksame Dnp.-Lösung. Bemerkenswert ist ferner, daß zwischen den Ver-

treten einer Körperklasse wie dem Dnp. und Typhin so beträchtliche quantitative Differenzen in bezug auf ihre Adrenalinbeeinflussende Wirkung zutage treten.

#### 4. Adrenalinbeeinflussung durch Diphtherietoxin, Dnp. und Typhin unter Wasserstoffatmosphäre.

Von großem Interesse war nun die Frage, ob die oxydationsbefördernde Kraft der bisher untersuchten Substrate allein für die Erklärung der durch sie hervorgerufenen Änderungen der Adrenalinwirksamkeit ausreichend ist. Wir wiederholten nun unsere Versuche unter Wasserstoffatmosphäre (Tabelle IX).

Tabelle IX.

Einfluß des Diphtherietoxins bzw. des Diphtheriebacillennucleoproteids bzw. des Typhins auf Suprarenin bzw. Adrenalin nach 16 Stunden bei 37° unter Wasserstoffatmosphäre.

Mischung: Zusatz zu 0,5 ccm Suprarenin bzw. Adrenalin  ccm	PH	Intracutane Grenzreaktion bei Suprarenin- bzw. Adrenalin- konzentration	Empfindlichkeitsgrenze d. Tieres gegen unvorbeh. Suprarenin- bzw. Adrenalinlösung	Ungefährer Wert der Mischung i. Vgl. zur unvorbeh. Suprarenin- bzw. Adrenalinlösung	Aussehen der Mischung
Suprarenin + 4,5 Aq. dest. . . .	4,241	—	—	100	farblos
0,5 D.-Toxin + 4,0 Aq. dest. . . .	7,948	1:3000000	1:2000000	150	"
0,5 Dnp. + 4,0 Aq. dest. . . . .	4,878	1: 800000	1:2000000	40	"
0,5 Typhin + 4,0 Aq. dest. . . .	6,005	1: 50000	1:2000000	4	"
Adrenalin + 4,5 Aq. dest. . . .	—	—	—	100	"
1,0 Typhin + 3,5 Aq. dest. . . .	5,881	1:1000000	1:5000000	20	"

Es zeigte sich, daß erstens die Suprareninlösungen unter der Wasserstoffatmosphäre auch nach der Mischung mit Diphtherietoxin, Dnp. und Typhin keine Farbenveränderung erleiden, daß zweitens bei Dnp. und Typhin trotzdem eine fast ebenso starke Herabsetzung der Adrenalinwirksamkeit eingetreten war als unter Luftatmosphäre. Die Toxin-Suprareninmischung zeigte dagegen eine erhöhte vasokonstriktorische Wirksamkeit, die offenbar am einfachsten auf

die alkalische Reaktion dieser Lösung zurückzuführen ist. Das Diphtherietoxin wirkt eben zuerst als Lauge, wie wir das schon betont haben — und diese Laugenwirkung verdeckt die anderen Effekte.

### 5. Versuche über die adrenalinbeeinflussende Wirkung des Tuberkulins, verschiedener genuiner Eiweißkörper, der Nucleinsäure und des Goldhydrosols.

In der Frage, ob die geschilderten Wirkungen der Bakteriennucleoproteide etwas Spezifisches darstellen oder allen Eiweißkörpern oder sogar kolloidalen Systemen zukommen, suchten wir eine vorläufige Orientierung dadurch zu erlangen, daß wir in unserer Versuchsanordnung auch eine Reihe anderer Stoffe auf ihre adrenalinbeeinflussende Wirkung untersuchten.

Als ein Produkt bakterieller Provenienz — doch von einem anderen biologischen Typus, kam zuerst das Alttuberkulin Koch in Betracht. Angesichts der hohen Konzentration dieses Präparates untersuchten wir nur die Wirkung einer kleinen Menge desselben auf das Adrenalin R. Heisler-Chrast. Sowohl unter Luft- als unter Wasserstoffatmosphäre trat auf Zugabe von Tuberkulin zu Adrenalin eine geradezu enorme Steigerung der vasokonstriktorischen Wirkung auf (s. Tabelle X).

Tabelle X.

Einfluß des Alttuberkulins Koch auf die gefäßerregende Wirkung des Adrenalins unter Luft- und Wasserstoffatmosphäre. 0,5 Adrenalin (1 %) + 0,3 Tuberkulin + 4,2 Aq. dest. PH 5,726. Die Mischungen haben die Farbe des Zusatzes.

Atmosphäre	Intracutane Grenzreaktion bei Adrenalinkonzentration	Empfindlichkeitsgrenze des Tieres gegen unvorbeh. Adrenalinlösung	Ungefäher Wert der Mischung im Vergl. zur unvorbeh. Adrenalinlösung (= 100)
Luft . . . . .	1:40 000 000	1:5 000 000	800
Wasserstoff . . .	1:40 000 000	1:5 000 000	800

Das gleiche wurde durch dialysiertes Albumin (1,66 %), durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat und mehrwöchentliche Dialyse gewonnen, ferner durch normales und diphtherieantitoxinhaltiges Pferdeserum bewirkt, und zwar sowohl

in kleinen als in großen Mengen — unabhängig von der Reaktion der Lösung (s. Tabelle XI).

Tabelle XI.

Einfluß des dial. Albumins (1,66 ‰), des norm. Pferdeserums und des Diphtherieheilserums auf die gefäßerregende Adrenalinwirkung. 0,5 Adrenalin + Zusatz = 5 ccm. 16 Stunden bei 37°. Luft- bzw. Wasserstoffatmosphäre.

Alle Mischungen haben die Farbe der Zusätze. Albuminmischungen getrübt.

Zusatz zu 0,5 ccm Adrenalin ccm	PH	Atmosphäre	Intracutane Grenz- reaktion bei Adrenalin- konzentration	Empfindlich- keitsgrenze d. Tieres gegen unvorbeh. Adrenalin- lösung	Ungefährer Wert der Mi- schung i. Vgl. zur unvorbeh. Adrenalin- lösung
4,5 Aq. dest . . .	—	—	—	—	100
0,5 Alb. + 4,0 Aq. dest. . . . .	4,422	Luft	1:10000000	1:6000000	166
1,0 Alb. + 3,5 Aq. dest. . . . .	4,570	"	1:15000000	1:6000000	250
2,0 Alb. + 2,5 Aq. dest. . . . .	4,730	"	1:30000000	1:4000000	750
2,0 Alb. + 2,5 Aq. dest. . . . .	—	Wasserstoff	1:30000000	1:4000000	750
0,5 n. Pf.-Ser. + 4,5 Aq. dest. . .	7,744	Luft	1:50000000	1:6000000	800
1,0 n. Pf.-Ser. + 3,5 Aq. dest. . .	8,222	"	1:30000000	1:6000000	500
0,5 Heilser. + 4,5 Aq. dest. . . . .	7,699	"	1: 8000000	1:5000000	160
1,0 Heilser. + 3,5 Aq. dest. . . . .	8,031	"	1:20000000	1:5000000	400

Die Wirkung kleinerer Dosen des Diphtherieheilserums war weniger ausgesprochen als die der großen. Wir haben früher beobachtet, daß unverdünntes Heilserum zu gleichen Teilen mit Adrenalin Parke & Davis gemischt, dessen blutdrucksteigernde Wirkung aufhob. Jetzt sahen wir eine deutliche Steigerung der Adrenalinwirkung bei derselben Dosierung. Hierzu ist in Betracht zu ziehen, daß erstens Diphtherieheilsersa verschiedene Alkaleszenz besitzen, zweitens daß Adrenalin Parke & Davis leichter oxydabel ist als Adrenalin R. Heisler-Chrast. Wir haben auch schon früher gesehen, daß das Adrenalin vor der deletären OH-Wirkung durch Eiweiß geschützt wird. Auch dieses Moment spielt bei der Wirkung alkalischer und zugleich eiweißreicher Substrate mit. Da aber das dialysierte Albumin —



auch bei saurer Reaktion und unter Wasserstoff dieselbe adre-nalinsteigernde Wirkung besaß, die so vielen Eiweißkörpern zuzukommen scheint, so sind wir geneigt, sie als eine un-spezifische, jedoch von der OH-Wirkung und Oxydation unab-hängige Eiweißfunktion anzusehen.

Daß manche niedermolekulare Eiweißderivate, sowie an-organische Kolloide, überhaupt keine Beeinflussung des Adrena-lins herbeiführen, zeigen unsere Versuchsreihen mit Nuclein-säure (aus Hefe, Merck) in 1,5%iger Lösung ( $P_H = 7,606$ ) und mit Goldhydrosol nach Zeigmondy.

Tabelle XII.

Einfluß des Nucleinsäurenatriums (15%,  $P_H$  7,606) sowie des Gold-hydrosols auf die vasokonstriktorische Wirksamkeit des Adrenalins R. Heisler-Chrast. 0,5 Adrenalin + Zusatz = 5 ccm. 16 Stunden bei 37° unter Luft.

Zusatz zu 0,5 ccm Adrenalin  ccm	$P_H$	Intracutane Grenz- reaktion bei Adrenalin- konzent- ration	Empfindlich- keitsgrenze des Tieres gegen unvor- behandelte Adrenalin- lösung	Ungefähr. Wert der Mischung im Ver- gleich zur unvorbe- handelten Adrena- linlösung	Aussehen der Mischung	
+ 4,5 ccm Aq. dest.	—	—	—	100	farblos	
0,2 Nucleinsäurenatrium + 4,3 Aq. dest. . . . .	5,487	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	"	
0,5 Nucleinsäurenatrium + 4,0 Aq. dest. . . . .	5,608	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	"	
1,0 Nucleinsäurenatrium + 3,5 Aq. dest. . . . .	5,850	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	"	
2,0 Nucleinsäurenatrium + 2,5 Aq. dest. . . . .	6,231	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	"	
0,5 Goldhydrosol + 4,0 Aq. dest. . . . .	—	1 : 2 000 000	1 : 2 000 000	100	sofort farblos	nach 16 St. farblos
1,0 Goldhydrosol + 3,5 Aq. dest. . . . .	—	1 : 3 000 000	1 : 3 000 000	100	farblos	farblos
2,0 Goldhydrosol + 2,5 Aq. dest. . . . .	—	1 : 1 800 000	1 : 2 000 000	90	schw. violett	farblos
3,0 Goldhydrosol + 1,5 Aq. dest. . . . .	—	1 : 2 000 000	1 : 2 000 000	100	violett	
4,0 Goldhydrosol + 0,5 Aq. dest. . . . .	—	1 : 2 000 000	1 : 2 000 000	100	"	

## 6. Diskussion der Resultate.

Den interessantesten Teil unserer Ergebnisse bilden die-jenigen, die die Beeinflussung der gefäßverengenden Adrenalin-

wirkung durch bakterielle Nucleoproteide betreffen. Die Fig. 8 bringt in besonders anschaulicher Weise die Unterschiede in der adrenalinbeeinflussenden Wirkung durch Laugenzusatz einerseits und Nucleoproteide andererseits zur Darstellung.

Auf dieser Figur ist die durch verschiedene Zusätze herbeigeführte Änderung der Reaktion der Adrenalinmischungen in Abhängigkeit von der Adrenalinwirksamkeit eingetragen. Man sieht, daß die Kurve der Herabsetzung der Adrenalinwirksamkeit durch reine OH-Wirkung (Kurve 1, Fig. 8) die äußere Ähnlichkeit mit einer Neutralisationskurve erkennen läßt. Zuerst ändert sich die Adrenalinwirksamkeit durch Alkalisierung der Reaktion nur langsam — dann sinkt sie schon bei geringfügiger Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite außerordentlich rasch, um jenseits einer gewissen alkalischen Reaktion der Lösung wieder langsamer abzufallen. Es gibt also ein gewisses Optimum der  $C_{OH}$ , bei dem die oxydative Adrenalinzerstörung am raschesten erfolgt. Dieses Optimum liegt zwischen  $P_H = 7,5$  und  $8,5$ .

Die Kurven, die die Änderung der Adrenalinwirksamkeit durch Nucleoproteide darstellen (Kurven 3 und 4 der Fig. 3) zeigen dagegen, daß hier die H-Ionenverschiebungen so gut wie keine Rolle spielen. Der Abfall erfolgt fast geradlinig bei ausgesprochener saurer Reaktion.

Eine Mittelstellung zwischen den beiden Typen der Adrenalinbeeinflussung zeigt endlich die durch Diphtherietoxinzusatz

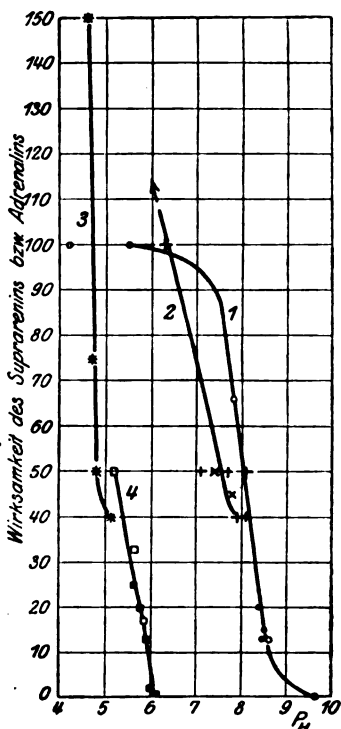


Fig. 8. Änderung der Reaktion und Adrenalinwirksamkeit nach Zusatz von Lauge (1), Diphtherietoxin (2), Dnp. (3), Typhin (4) unter Luftatmosphäre.

erhaltene Kurve 2, Fig. 8. Die Änderung der Reaktion ist hier von Bedeutung, doch der Abfall der Adrenalinwirksamkeit erfolgt hier zuerst rascher als beim reinen Laugenzusatz, dann aber viel langsamer. Zuerst wird die Alkaliwirkung durch einen zweiten Faktor gefördert, dann durch einen dritten gehemmt. Der erste Faktor scheint — in Übereinstimmung mit den früher zum Ausdruck gebrachten Ansichten — mit der Nucleoproteidfunktion identisch zu sein. Der dritte dagegen erinnert an die aspezifische, bei Albumin, Serum, Tuberkulin gefundene schützende und steigernde Eiweißwirkung. Dafür sprechen die Versuche mit gekochtem Toxin und Typhin. Das Kochen zerstört oder vermindert die Nucleoproteinfunktion, läßt aber die aspezifische Eiweißfunktion intakt.

Von größter Bedeutung scheint uns die durch unsere Versuche erhärtete Tatsache zu sein, daß es einen bisher unbekanntem Modus der Beeinflussung — namentlich der Herabsetzung — der Adrenalinwirksamkeit gibt, der vielleicht auch im Organismus eine Rolle spielt. Bisher nahm man an, daß das Adrenalin so gut wie ausschließlich durch Oxydation zerstört und unwirksam gemacht wird. Nun zeigt es sich aber, daß dieser so interessante Körper auch auf andere Art, anaerob, sogar bei saurer Reaktion fast ebenso wirksam physiologisch verdeckt werden kann. Die Fragen, die dieser Feststellung entspringen, drängen auf gründliche Weiterbearbeitung dieses Gebietes von vielen Gesichtspunkten aus.

Abgesehen von der weiteren Erforschung des Mechanismus dieser Wirkungen, wird zuerst festzustellen sein, welchen Körpern — namentlich auch solchen, die im Organismus anzutreffen sind — ähnliche Eigenschaften zukommen. Die zweite Frage ist ferner, ob das der blutdrucksteigernden und gefäßverengenden Wirkung beraubte Adrenalin nicht doch noch andere pharmakologische Funktionen (etwa auf den Darm) beibehält. Daneben wird auch die — auch bei saurer Reaktion deutlich hervortretende — oxydationsbefördernde Kraft mancher Eiweißkörper gegenüber dem Adrenalin zu untersuchen sein. Andererseits scheint uns aber auch die schützende Eiweißfunktion deshalb wichtig zu sein, weil sie eine Stabilisierung des so außerordentlich labilen Adrenalins zur Folge hat, eine

Stabilisierung, die sogar weitgehende Unempfindlichkeit des Adrenalins von der alkalischen Reaktion bewirkt (vgl. besonders die Versuche mit Diphtherietoxin). Durch weitere Erforschung der fraglichen — chemischen oder physikalischen — Bindung des Adrenalins an manche Eiweißkörper und ihre Derivate wird es vielleicht gelingen, zu einem stabilen Adrenalinpräparat zu gelangen.

Wir haben nur einige Probleme aus den sich aus unseren Feststellungen ergebenden Fragen herausgegriffen, deren Weiterbearbeitung, sobald die äußeren Umstände es erlauben, in Angriff genommen werden soll und die wir uns deshalb vorbehalten möchten.

### Schlußsätze.

1. Der adrenalinzerstörenden Alkaliwirkung geht auch unter anaeroben Bedingungen eine Steigerung der Adrenalinwirksamkeit (an der intracutanen vasokonstriktorischen Reaktion gemessen) voraus.

2. Die Hydroxylionen beschleunigen die Oxydation des Adrenalins, worauf auch die Abnahme der Adrenalinwirksamkeit zurückzuführen ist. Diese Wirkung hat ihr Reaktionsoptimum, das zwischen  $p_H = 7,5$  und  $8,5$  (elektrometrisch gemessen) gelegen ist.

3. Durch Kontakt mit aus Bakterien gewonnenen Nucleoproteiden verliert das Adrenalin ebenfalls seine gefäßverengende und nach den früheren Erfahrungen auch blutdrucksteigernde Wirkung, wobei dieser Effekt weitgehend unabhängig von der Reaktion des Mediums und auch anaerob zu erzielen ist. Auch diesem Modus der Abnahme der Adrenalinwirksamkeit geht eine Steigerung voraus.

4. Diese Eigenschaft der Nucleoproteide wird durch Kochen abgeschwächt.

5. Nucleoproteide, aber auch andere Eiweißstoffe beschleunigen bei Luftzutritt die Oxydation des Adrenalins, und zwar unabhängig von der Reaktion des Mediums. Auch diese Eigenschaft wird durch Kochen vermindert.

6. Viele genuine Eiweißkörper und auch das

Tuberkulin erhöhen auch nach längerem Kontakt sowohl unter Luftatmosphäre als unter Wasserstoff die Wirksamkeit des Adrenalins. Auch üben sie eine deutliche Schutzwirkung gegen die durch Hydroxylionen herbeigeführte Adrenalinzerstörung aus.

7. Die adrenalinzerstörende Wirkung des Diphtherietoxins ist komplexer Natur und sowohl auf Nucleoproteid- als auf OH-Wirkungen zurückzuführen. Sie wird durch Kochen des Diphtherietoxins zerstört.

8. Die intracutane Adrenalinauswertungsmethode (v. Gröer) hat sich in unseren Versuchen gut bewährt.

# Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine.

## III. Mitteilung.

### Über den Einfluß der proteinogenen Amine, Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber.

Von

J. Abelin und J. Jaffé.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 5. November 1919.)

Mit 6 Tabellen und 1 Figur.

Zu den vielseitigen Wirkungen des Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamins gehört auch ihre spezifische Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels. In der II. Mitteilung<sup>1)</sup> wurden Versuche beschrieben, in welchen Injektionen von Tyramin und Phenyläthylamin zu einer erhöhten Verbrennung von Kohlenhydraten Anlaß gaben.

Als Folge davon war in vielen Fällen ein Ansteigen des R. Q. im nüchternen Zustande bis zu Werten von 0,9 und darüber. Nicht selten konnte sogar ein R. Q. von 1,0 beobachtet werden.

Ein erhöhter Zuckerverbrauch ist mit einer Inanspruchnahme der Kohlenhydratvorräte des Organismus verknüpft. Es muß dabei der Glykogenbestand, hauptsächlich das Leberglykogen, in Mitleidenschaft gezogen werden. Es ergab sich somit

---

<sup>1)</sup> Beiträge zur Kenntnis der physiol. Wirk. der prot. Amine, II. Mitt., diese Zeitschr. 101, 197, 1919/20.

als Notwendigkeit, die Wirkung von Tyramin und Phenyl-äthylamin auf den Glykogenstoffwechsel zu prüfen. Bereits die ersten Versuche ergaben, daß die genannten proteinogenen Amine ein Verschwinden des Glykogens aus der Leber bewirken und somit den Zellen in erhöhtem Maße Kohlenhydrate zur Verfügung stellen. Als Stoffe, die den Glykogenbestand der Leber herabsetzen, sind in letzter Zeit die Schilddrüsen-substanzen erkannt worden. Untersuchungen von Cramer und Krause<sup>1)</sup> haben gezeigt, daß nach Verfütterung von frischer Schilddrüse sowohl bei Katzen als auch bei Ratten der Glykogengehalt der Leber auf ein Minimum reduziert wird. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch S. Kuriyama<sup>2)</sup>. In seinen Versuchen an weißen Ratten sank der Glykogengehalt der Leber nach Schilddrüsen-eingabe. Die Leber wird dabei nach Schilddrüsen-substanzen nicht geschädigt: hört man mit der Schilddrüsen-zufuhr auf und gibt man den Tieren wieder normales Futter, so kehrt der Glykogengehalt der Leber zur Norm zurück. Auch beim Kaninchen ruft nach M. Parhon<sup>3)</sup> Verfütterung von Schilddrüsen-substanz eine Abnahme des Leberglykogens hervor. In den Muskeln wird dagegen das Glykogen nicht vermindert.

Bei den zahlreichen Analogien, die sich zwischen der Wirkung der geprüften proteinogenen Amine und der Schilddrüsen-stoffe finden ließen, schien es uns zweckmäßig, noch einige Versuche mit Schilddrüsen-fütterung anzustellen. Auch wir konnten feststellen, daß eine Verfütterung von Schilddrüse eine starke Herabsetzung des Leberglykogens zur Folge hat. Wir erzielten zudem diese Wirkung in manchen Fällen mit viel geringeren Schilddrüsen-mengen als Kuriyama.

Es ergibt sich aus den vorliegenden Versuchen, daß die Übereinstimmung im physiologischen Verhalten der geprüften proteinogenen Amine und der wirksamen Schilddrüsen-stoffe sich nicht nur auf die Hebung des Gesamtkörperumsatzes, sondern auch auf die spezifische Beeinflussung einzelner Organe (Leber) erstreckt.

---

<sup>1)</sup> Cramer und Krause, Proc. Roy. Soc. B. 86, 1913.

<sup>2)</sup> S. Kuriyama, Amer. Journ. of Phys. 43, 481, 1917.

<sup>3)</sup> M. Parhon, Journ. de phys. et de path. gen. 15, 76, 1913.

### Methodik.

Als Versuchstiere wurden weiße Ratten gebraucht. In Gruppen von 5 bis 6 Stück wurden sie gleichzeitig genau bezeichnet, gewogen und in Käfige gesetzt. Die eigentlichen Versuchstiere wurden einzeln in separaten Käfigen untergebracht, während die Kontrolltiere zusammen in einem größeren gehalten wurden.

Diese Tiere wurden nun 3 bis 4 Tage mit einer reichlichen, wesentlich aus Kohlenhydraten bestehenden Nahrung vorgefüttert. Das Futter bestand aus Brot, Mehl, Zucker, Fett und ab und zu aus gekochten Kartoffeln. Auf 100 g Brot kamen 20 g Mehl, 10 g Fett und ebensoviel Grieszucker. Das Brot wurde, damit es sich mit dem Fett und Zucker gut mische, durch eine Reibemaschine durchgelassen. Es wurde stets darauf geachtet, daß reichlich von dieser Nahrung vorhanden war, so daß bei der nächsten Fütterung in allen Käfigen sich Futterreste befanden. Auch die Trinkgefäße enthielten immer reichlich Wasser.

Nach 3 bis 4 Tagen vor Beginn des eigentlichen Versuches wurden alle Tiere wieder gewogen. Regelmäßig zeigte es sich, daß während dieser Zeit die Ratten 10 bis 20 g an Körpergewicht zugenommen hatten. Auch sonst konnte man beobachten, daß sich die Tiere unter den gegebenen Verhältnissen wohl befinden. Ihr Fell wurde glatter, glänzender und dichter.

Vom fünften Tage an wurden den Versuchstieren die vorgesehenen Präparate einverleibt. Der zuerst gewählte Weg das p-Oxyphenyläthylamin-HCl und das Phenyläthylamin, gemischt mit Mehl und Zucker, per os einzugeben, erwies sich als nicht gangbar. Die Tiere wollten das Gemisch nicht fressen. Auch nachdem größere Portionen der erwähnten Nahrung mit dem Präparat vermischt wurden, ließen die Tiere die Nahrung fast unberührt.

Wohl hätten schließlich hungernde Tiere das wenig konzentrierte Gemisch von Präparat und Nahrung gegessen. Aber damit wäre dem Versuche nicht gedient. Denn dieser setzte eine tägliche Einverleibung des Präparates bei normaler Nahrungsaufnahme voraus. Somit blieb als einzig praktischer Weg die subcutane Injektion übrig.

Die Präparate wurden mit physiologischer NaCl-Lösung quantitativ so gemischt, daß nicht mehr als 2 ccm von der Lösung auf einmal injiziert werden mußte. Die Tiere ertrugen die Injektionen im allgemeinen recht gut. Manchmal erregten die Injektionen der proteinogenen Amine lokale chemische Reize, die wahrscheinlich der Phenyläthylaminbase zuzuschreiben sind.

Über die übrigen sichtbaren Wirkungen der Injektionen ist noch folgendes zu sagen: Schon einige Minuten nach der Injektion fingen die Tiere an, rascher zu atmen. Bei einigen Exemplaren steigerte sich dieses rasche Atmen zu einem unregelmäßigen, für kurze Pausen vollständig aussetzenden Atemtypus, so daß die Analogie mit dem Cheyne-Stokeschen Atemtypus sich aufdrängte. Gleichzeitig trat bei einigen Tieren ein starker Speichelfluß auf. Während diese schweren Symptome nur



bei wenigen Exemplaren auftraten, konnte man bei allen ohne Ausnahme bemerken, daß sie sich so benahmen, als wenn sie an Atemnot litten. Sie legten sich im Käfig derart hin, daß der Kopf nach oben gerichtet, durch irgend etwas unterstützt wurde, sei es durch die Käfigwand, den Wassertrog usw. Die Art zu liegen war auffallend, da die Ratten gewöhnlich so etwas nicht machen. Der Eindruck der Atemnot wurde noch gesteigert durch das rasche Atmen und das deutliche Hervorquellen der Augen. Dieser Zustand dauerte gewöhnlich ungefähr eine halbe Stunde. Manche Tiere erholten sich noch rascher. Da die Versuchstiere einzeln gehalten wurden, konnte man die Nahrungsaufnahme einer jeden Ratte gut beurteilen. Fast ohne Ausnahme haben die Versuchstiere eine ungefähr gleich große Portion der oben angegebenen Nahrung gefressen wie die Kontrolltiere.

Nach 4 bis 5 Versuchstagen wurden gewöhnlich Versuchstiere und Kontrolltiere gleichzeitig getötet. Nachdem ihr Körpergewicht notiert war, wurde die Ratte durch einen (selten zwei) gut gezielten kräftigen Schlag auf den Kopf momentan getötet, die Leber rasch herauspräpariert, grob zerstückelt und sofort in ein, mit ungefähr 12 bis 15 g heißer 60%iger Kalilauge versehenes Kölbchen geworfen. Hier mußten die Kölbchen mit der heißen Kalilauge zweimal gewogen werden, zuerst ohne die Leber, und dann mit derselben. Diese Manipulation ergibt rasch und bequem das genaue Gewicht der Leber,

Das Gemisch von Kalilauge und zerhackter Leber wird nun 3 Stunden unter zweimaligem Umrühren auf dem Wasserbade gekocht, sodann in ein Becherglas gegossen, wobei das Kölbchen mit etwas destilliertem Wasser nachgespült wird, und das doppelte Volumen 95%igen Alkohols unter Schütteln zugesetzt. Damit das ausfallende Glykogen Zeit habe, sich auf dem Boden des Gefäßes abzusetzen, läßt man es einige Stunden ruhig stehen (gewöhnlich über Nacht). Die Flüssigkeit über dem Niederschlag wird dann vorsichtig durch den Filter durchgelassen und der zurückbleibende Niederschlag dreimal mit Alkohol von 60%, zweimal mit 95%igem Alkohol und zuletzt mit Äther gewaschen.

Nachdem die abfiltrierte Flüssigkeit weggegossen war, wurde das Glykogen auf dem Filter sowohl als auch im Becherglas in ungefähr 90 ccm heißem destilliertem Wasser aufgelöst.

Zu dem so gewonnenen, das gesamte Glykogen enthaltenden Filtrat wurden nun 4 ccm konzentrierter Salzsäure zugesetzt, diese Lösung zum Zwecke des Hydrolysierens wiederum 3 Stunden auf dem Wasserbade kochen gelassen und nach Abkühlung bis auf Zimmertemperatur so viel 60%ige Kalilauge beigefügt, daß die jetzt klare Flüssigkeit nur noch ganz schwach sauer reagiert. Zu diesem Zwecke und bei den gegebenen Volumina konnten etwas weniger als 3 ccm 60%iger Kalilauge aufs Mal hineingegossen und das noch Fehlende vorsichtig tropfenweise zugesetzt werden. Die so annähernd neutral reagierende 90 ccm enthaltende Lösung wird in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen gebracht. Dasselbe wird bis zur Marke mit destilliertem Wasser gefüllt. In 20 ccm dieser

Endlösung wurde nun der Zuckergehalt nach der bekannten Bertrand'schen Methode bestimmt und daraus der Glykogengehalt der Leber berechnet.

### Versuchstiere Nr. 1, 2, 3, 4 und 5.

5 Ratten wurden am 29. I. 19 in die Käfige gesetzt; die 3 eigentlichen Versuchstiere einzeln, die beiden Kontrolltiere zusammen. Am 1. und 2. II. bekommen die 3 Versuchstiere je 0,05 g Tyramin und 0,033 g Phenyläthylamin täglich. Da aber die Ratten von dieser Nahrung nur wenig fraßen, so mußte zur subcutanen Injektion gegriffen werden. Am 3. und 4. II. wird 0,05 g Tyramin und 0,05 g Phenyläthylamin in je 2 com physiol. Kochsalzlösung subcutan injiziert. Am 5. II. werden ein Versuchstier und ein Kontrolltier getötet. Die übrigen 2 Versuchstiere bekommen je 0,03 g Tyramin und Phenyläthylamin subcutan. Am 6. II. wird ein zweites Versuchstier getötet. Versuchstier Nr. 3 wird an diesem Tage nicht injiziert. Am 7. II. morgens wird dem dritten Versuchstier je 0,05 g von beiden Präparaten injiziert. Am Mittag desselben Tages wird das Tier gleichzeitig mit dem zweiten Kontrolltier getötet.

Wie aus nachfolgenden Versuchsprotokollen ersichtlich, ist der Leberglykogengehalt der mit Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin behandelten Tieren bedeutend geringer als bei den kontrollierten. Während die Kontrolltiere 3,5 und 3,3% Glykogen enthielten, fanden sich bei den Versuchstieren 1,43% und 1,17%. Die einzige Ausnahme (zugleich auch sämtlicher folgender Versuche) bildet das Tier Nr. 2, das einen sehr hohen Glykogengehalt aufweist. Worauf dies zurückzuführen sei, läßt sich nicht sagen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Tier einige Stunden vor dem Tode gefressen und somit Glykogen angesetzt hat. Dieser erste Versuch, der als Vorversuch aufzufassen ist, hatte einen mehr orientierenden Charakter. In den nachfolgenden Versuchen wurde von der Eingabe der proteinogenen Amine per os vollkommen abgesehen. Die Präparate wurden ausschließlich subcutan eingespritzt. Nach der letzten Injektion erhielten die Tiere keine Nahrung mehr, und die Tötung erfolgte 6 bis 8 Stunden nach der letzten Einspritzung.

### Analysen.

#### Versuch 1.

Die mit HCl hydrolysierte Endlösung wurde auf 100 com aufgefüllt. Zur Analyse kamen je 20 com dieser Lösung. Titer der Kaliumpermanganatlösung:

		1 com entspricht 9,81 mg Cu.	
Analyse	I	KMnO <sub>4</sub> Lösung verbraucht . . . . .	5,65 com
"	II	" " " " . . . . .	5,55 "
"	III	" " " " . . . . .	5,60 "
		Mittel	5,60 com

100 com der Lösung enthalten somit 0,139 g. Zucker = 0,129 g Glykogen.  
Gewicht der Leber 9 g. Glykogen = 1,43%.

## Versuch 2.

20 ccm der hydrolisierten Endlösung verbrauchten  $\text{KMnO}_4$ -Lösung bei der Titration:

Analyse	I . . . . .	10,75 ccm	
"	II . . . . .	10,70 "	
"	III . . . . .	10,65 "	
	Mittel	10,70 ccm	

100 ccm enthalten 0,275 g. Zucker = 0,255 g Glykogen. Lebergewicht 5,60 g. Glykogengehalt = 4,55%.

## Versuch 3.

20 ccm der hydrolisierten Endlösung verbrauchten bei der Titration:

Analyse	I . . . . .	3,55 ccm $\text{KMnO}_4$ -Lösung	
"	II . . . . .	3,45 "	"
	Mittel	3,50 ccm	

Glykogen = 0,079 g. Lebergewicht 7 g. Glykogengehalt = 1,17%.

## Versuch 4.

Bei der Titration verbrauchten 20 ccm der Endlösung:

Analyse	I . . . . .	10,20 ccm $\text{KMnO}_4$ -Lösung	
"	II . . . . .	10,30 "	"
"	III . . . . .	10,25 "	"
	Mittel	10,25 cm	

Zucker gefunden total 0,265 g = 0,245 g Glykogen. Lebergewicht 7 g. Glykogengehalt = 3,5%.

## Versuch 5.

Analyse	I verbraucht . . . . .	8,5 ccm $\text{KMnO}_4$ -Lösung	
"	II " . . . . .	8,5 "	"
	Mittel	8,5 ccm	

100 ccm der Endlösung enthalten somit 0,215 g. Zucker = 0,199 g Glykogen. Lebergewicht 6 g. Glykogen = 3,30%.

## Versuchstiere Nr. 6, 7, 8, 9, 10 und 11.

Zu diesem Versuch wurden 6 Ratten genommen, 3 dienten als Versuchstiere, 3 zur Kontrolle. Die Vorfütterung sämtlicher Tiere begann 20. II., der eigentliche Versuch am 22. II. Am 22., 23., 24., 25. und 27. II. erhielt jedes der 3 Versuchstiere je 33 mg Tyramin und 33 mg Phenyläthylamin subcutan in 2 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung. Außerdem bekamen die Tiere die gleiche kohlenhydratreiche Nahrung wie die Kontrolltiere. Am 27. Februar wurden sämtliche Tiere getötet.

Die Aminwirkung tritt in diesem Versuch besonders deutlich zutage.

Das Versuchstier Nr. 6 hat einen Glykogengehalt der Leber von 1,05%, Versuchstier Nr. 7 einen solchen von 0,23% und Versuchstier Nr. 8 von 0,28%. Die Kontrolltiere dagegen weisen in der Leber einen Glykogengehalt von 4,37%, 4,89%, 3,71% auf. Bemerkenswert ist, daß unter den Versuchstieren die Weibchen weniger Glykogen als die Männchen enthielten. In sämtlichen Versuchen, wo Männchen und Weibchen zur Anwendung kamen, hatten die Weibchen höhere Glykogenverluste als die Männchen. Besonders heftig reagierten trächtige Weibchen (vgl. Versuch Nr. 20).

Tabelle I.

Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Gewicht d. Leber	Einverleibung des Präparates	Glykogengeh. der Leber g	Glykogengeh. prozentual d. Lebergewicht %	Geschlecht des Tieres
6	20. II.	22. II.	27. II.	146,3	154	147,5	5,5	22. bis 25. II. je 0,033 g Tyramin und Phenyläthylamin subcutan. Am 26. II. keine Injektion. Am 27. II. Injektion von 0,033 g beider Präparate subcutan.	0,058	1,05	Männchen
7	20. II.	22. II.	27. II.	139,0	146	139,0	5,2		0,012	0,23	Weibchen
8	20. II.	22. II.	27. II.	171,0	185	175,0	6,4		0,018	0,28	Weibchen
9	20. II.		27. II.	162,0	169	182,0	7,2		0,315	4,37	Weibchen
10	20. II.		27. II.	183,0	191	197,0	6,5		0,253	3,89	Weibchen
11	20. II.		27. II.	108,0	111	114,5	4,5		0,167	3,71	Männchen

} Versuchstiere  
} Kontrolltiere

Versuch 6.

20 ccm der hydrolysierten Endlösung verbrauchten  $KMnO_4$ -Lösung:

Analyse I . . . . . 2,65 ccm

" II . . . . . 2,55 "

Mittel 2,60 ccm

100 ccm der Lösung enthalten 0,063 g Zucker = 0,058 g Glykogen.

Lebergewicht 5,5 g. Glykogengehalt = 1,05%.

Versuch 7.

20 ccm verbrauchten  $KMnO_4$ -Lösung.

Analyse I . . . . . 0,60 ccm

" II . . . . . 0,60 "

Mittel 0,60 cm

Zucker total = 0,013 g = 0,012 g Glykogen. Lebergewicht 5,2 g.  
Glykogengehalt = 0,23%.

### Versuch 8.

20 ccm verbrauchten  $\text{KMnO}_4$ -Lösung.

Analyse I . . . . . 0,85 ccm

" II . . . . . 0,95 "

Mittel 0,90 ccm

Zucker total 0,020 g. Glykogen 0,018 g. Lebergewicht 6,4 g.  
Glykogengehalt = 2,28%.

### Versuch 9.

Analyse I . . . . . 12,80 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II . . . . . 13,00 " "

Mittel 12,90 ccm

100 ccm der Lösung enthalten 0,340 g. Zucker = 0,315 g Glykogen.  
Lebergewicht 7,2 g. Glykogengehalt = 4,37%.

### Versuch 10.

Analyse I . . . . . 10,55 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II . . . . . 10,55 " "

Mittel 10,55 ccm

Zucker total 0,273 g = 0,253 g Glykogen. Lebergewicht 6,5 g.  
Glykogen = 3,89%.

### Versuch 11.

Analyse I . . . . . 7,10 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II . . . . . 7,30 " "

Mittel 7,20 ccm

Zucker 0,181 g Glykogen 0,167 g. Lebergewicht 4,5 g.  
Glykogengehalt = 3,71%.

### Die Versuche 32, 33, 34, 35, 36 und 37

stimmen mit den bereits mitgeteilten Befunden vollkommen überein. Nach fünftägiger Injektion von Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin konnten nur noch beim Tier 32 geringste Mengen von Glykogen analytisch nachgewiesen werden. Bei den anderen 2 Tieren dieser Reihe war so gut wie kein Glykogen in der Leber. Die Kontrolltiere wiesen dagegen recht erhebliche Glykogenvorräte auf, bei einem dieser Tiere wurde sogar der sehr hohe Wert von 6,20% Glykogen gefunden.

Tabelle II.

versuchsnummer	Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Einverleibung des Präparates	Glykogengeh. der Leber g	Glykogengeh. prozentual z. Lebergewicht %	Geschlecht des Tieres
32	32	19. VII.	22. VII.	26. VII.	165,2	164,2	167,3	Am 22., 23. u. 24. VII. je 0,05 g Tyramin + 0,05 g Phenyläthylamin subcutan. Am 25. und 26. je 0,03 g Tyramin + 0,03 g Phenyläthylamin subcutan.	0,015	0,20	Weibchen
33	33	19. VII.	22. VII.	26. VII.	141,2	150,7	143,7		unbestimmbare Spur		Weibchen
34	34	19. VII.	22. VII.	26. VII.	147,0	157,0	148,2	kein Präparat	kein Glykogen		Weibchen
35	35	19. VII.	22. VII.	26. VII.	200,8	204,7	205,2		0,775	6,20	Weibchen
36	36	19. VII.	22. VII.	26. VII.	175,0	177,7	188,0	kein Präparat	0,330	3,34	Weibchen (trächtig)
37	38	19. VII.	22. VII.	26. VII.	172,0	169,8	175,8	kein Präparat	0,359	4,78	Männchen

Versuch 32.

Titer der  $KMnO_4$ -Lösung: 1 ccm entspricht 9,9 mg Cu. 25 ccm der Endlösung verbrauchten:

Analyse I . . . . . 0,85 ccm  $KMnO_4$ -Lösung

„ II . . . . . 0,85 „

Mittel 0,85 ccm

100 ccm enthalten 16 mg Zucker = 14,83 mg Glykogen.

Lebergewicht 7,3 g. Glykogengehalt der Leber = 0,20%.

Versuche 33 und 34.

Beim Kochen mit Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung fielen im Versuch 33 nur einige Körnchen von Kupferoxydul aus, im Versuch 34 entstand kein Niederschlag.

Versuch 35.

10 ccm der hydrolysierten Endlösung verbrauchten:

Analyse I . . . . . 15,34 ccm  $KMnO_4$ -Lösung

„ II . . . . . 15,30 „

Mittel 15,32 ccm

100 ccm enthalten 0,836 g Zucker = 0,775 g Glykogen.

Lebergewicht 12,5 g. Glykogengehalt der Leber = 6,20%.

## Versuch 36.

20 ccm der hydrolysierten Lösung verbrauchten:

Analyse I . . . . .	13,40 ccm	KMnO <sub>4</sub> -Lösung
"    II . . . . .	13,20 "	"
	<u>        </u>	
Mittel	13,30 ccm	

100 ccm enthalten 355,5 mg Zucker = 330,0 mg Glykogen.  
Gewicht der Leber 7,6 g. Glykogengehalt der Leber = 4,34%.

## Versuch 37.

20 ccm der hydrolysierten Lösung verbrauchten:

Analyse I . . . . .	14,30 ccm	KMnO <sub>4</sub> -Lösung
"    II . . . . .	14,40 "	"
	<u>        </u>	
Mittel	14,35 ccm	

100 ccm enthalten 0,387 g Zucker = 0,359 g Glykogen.  
Gewicht der Leber 7,5 g. Glykogengehalt = 4,78%.

## Versuchstiere Nr. 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21.

Diese Serie umfaßt 4 Tiere, die subcutan mit Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin behandelt wurden. Die Tiere werden an 6 aufeinanderfolgenden Tagen injiziert. Die täglich einverleibten Mengen schwanken zwischen 0,02 g und 0,04 g von jedem der beiden Präparate. Wie aus der Tabelle ersichtlich, waren auch die in diesem Versuch gefundenen Glykogenmengen sehr gering. Das Tier Nr. 12 hat einen Glykogengehalt von nur 0,11%, Tier Nr. 13 — 0,07% und Tier Nr. 14 — 0,2%. Es sind dies Mengen, die man bei den Kontrollieren nie findet. Das Tier Nr. 15 hat im Vergleich mit den übrigen Tieren dieser Versuchsserie etwas mehr Glykogen. Der Grund ist darin zu suchen, daß es weniger von Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin erhielt als die anderen. Die Versuchstiere Nr. 12, 13 und 14 erhielten insgesamt je 190 mg von Tyramin und je 170 mg von Phenyläthylamin. Das Tier Nr. 15 hat dagegen total nur je 140 mg von Tyramin und Phenyläthylamin bekommen.

Die gefundenen geringen Glykogenmengen sind nicht etwa Folgen einer mangelnden Ernährung oder Erkrankung der Tiere. Die Tiere waren während der ganzen Versuchsdauer gesund, sie haben auch im Gewicht zugenommen, und zwar nicht nur während der Vorfütterung, sondern auch während der eigentlichen Versuchsperiode. Nur das Tier Nr. 13 hat während der Injektionstage 1,8 g an Körpergewicht verloren, eine Zahl, die wohl nicht besonders in Betracht fällt.

Um zu prüfen, ob dieses Verschwinden des Glykogens aus der Leber der Kombinationswirkung von Tyramin und Phenyläthylamin zuzuschreiben ist oder ob auch das Phenyläthylamin selbst wirksam ist, wurde eine Serie von 3 Ratten nur mit Phenyläthylamin subcutan gespritzt. Das Ergebnis läßt sich dahin zusammenfassen, daß auch das Phenyläthylamin den Kohlehydratstoffwechsel der Leber beeinflusst

und zwar zu einer Verminderung des Leberglykogens führt, allerdings ganz bedeutend schwächer als ein Gemisch von Tyramin und Phenyläthylamin. Dieses Resultat ist nicht befremdend, da im Tierkörper eine Hydroxylierung leicht stattfinden kann und der Übergang von Phenyläthylamin in Tyramin sehr wahrscheinlich ist. Zu diesen Versuchen wurden 2 Weibchen und 1 Männchen gewählt und es zeigte sich auch hier, daß die Weibchen bedeutend weniger Glykogen enthielten als das Männchen. Das Männchen hatte noch einen Glykogengehalt von 2,31%, während das eine trüchtige Weibchen nur unbestimmbare Spuren von Glykogen aufwies. Die Glykogenmengen waren im letzteren Fall so gering, daß beim Versetzen der Lösung mit Alkohol nur ganz geringe Flocken entstanden. Das andere Weibchen, dem 5 Tage nacheinander je 0,02 g Phenyläthylamin einverleibt wurden, hatte einen Glykogengehalt von 1,02%.

Die Kontrolltiere zu diesen Versuchen } hatten 3,5%, 3,4% und 2,3% Glykogen in der Leber.

Tabelle III.

Versuchsnummer	Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Gewicht d. Leber	Einverleibung des Präparates	Glykogengeh. der Leber g	Glykogengeh. prozentual d. Lebergewicht %	Geschlecht des Tieres	
12	12	1. III.	5. III.	10. III.	161,5	171,0	176,5	6,2	Tyramin g Phenyläthyl. g 5. III. 0,04 + 0,04 6. III. 0,02 + 0,04 7. III. 0,03 + 0,03 8. III. 0,04 + 0,04 9. III. 0,02 + 0,02 10. III. 0,04 + 0,04	0,007	0,11	Weibchen	
13	13	1. III.	5. III.	10. III.	144,5	154,0	152,2	6,2		0,0047	0,07	"	
14	14	1. III.	5. III.	10. III.	143,5	147,5	157,0	5,9		0,012	0,20	"	
15	15	1. III.	5. III.	10. III.	133,5	147,5	153,0	6,0		am 5. u. 6. III. je 0,03 g beider Präparate am 7., 8., 9., 10. je 0,02 g beider Präparate	0,078	1,30	"
16	16	1. III.	5. III.	10. III.	124,0	132,0	129,0	5,2		vom 6. bis 10. III. täglich je 0,02 g Phenyläthylamin	0,053	1,02	"
17	17	1. III.	5. III.	10. III.	128,2	141,2	142,7	6,5		vom 6. bis 10. III. täglich je 0,04 g Phenyläthylamin	—	(unbestimmb. Spuren)	"
18	18	1. III.	5. III.	10. III.	211,5	230,5	230,0	8,5		kein Präparat	0,162	2,31	"
19	19	1. III.	5. III.	10. III.	132,0	155,0	159,0	6,5		"	0,228	3,50	"
20	20	1. III.	5. III.	10. III.	135,0	150,0	162,5	6,5		"	0,150	2,30	"
21	21	1. III.	5. III.	10. III.	205,0	224,0	226,0	7,5		"	0,257	3,40	(gravid) Männchen



## Versuch 12.

Analyse I . . . . . 0,40 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 0,40 " "

Mittel 0,40 ccm

Zucker = 0,0076 g = 0,0070 g Glykogen. Leber 6,2 g. Glykogengehalt = 0,11%.

## Versuch 13.

20 ccm der hydrolisierten Endlösung verbrauchten  $\text{KMnO}_4$ -Lösung.Analyse I . . . . . 0,30 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 0,30 " "

Mittel 0,40 ccm

Zucker 0,0051 g, Glykogen 0,0047 g. Leber 6,2 g. Glykogen = 0,07 g.

## Versuch 14.

20 ccm der Endlösung.

Analyse I . . . . . 0,65 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 0,55 " "

Mittel 0,60 ccm

Zucker total 0,0132 g = 0,012 g Glykogen. Lebergewicht 5,90 g. Glykogen = 0,20%.

## Versuch 15.

Analyse I . . . . . 3,50 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 3,50 " "

Mittel 3,50 ccm

Zucker total 0,085 g = 0,075 g Glykogen. Lebergewicht 6,0 g. Glykogen = 1,30%.

## Versuch 16.

Analyse I . . . . . 2,45 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 2,35 " "

Mittel 2,40 ccm

Zucker 0,058 g = 0,053 g Glykogen. Lebergewicht 5,2 g. Glykogengehalt = 1,02%.

## Versuch 18.

Analyse I . . . . . 7,0 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung" II . . . . . 7,0 " "

Mittel 7,0 ccm

Zucker total 0,175 g = 0,162 g Glykogen. Lebergewicht 8,5 g. Glykogengehalt der Leber = 2,31%.

Versuch 19.

Analyse I . . . . . 9,60 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
 " II . . . . . 9,60 " "

Mittel 9,60 ccm

Zucker gefunden total 0,246 g = 0,228 g Glykogen. Glykogengehalt = 3,50%.

Versuch 20.

Analyse I . . . . . 6,60 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
 " II . . . . . 6,40 " "

Mittel 6,50 ccm

Zucker = 0,162 g = 0,150 g Glykogen. Lebergewicht 6,5 g. Glykogengehalt = 2,30%.

Versuch 21.

Analyse I . . . . . 10,75 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
 " II . . . . . 10,75 " "

Mittel 10,75 ccm

Zucker 0,278 g = 0,257 g Glykogen. Lebergewicht 7,5 g. Glykogengehalt = 3,40%.

In Fig. 1 sind die Ergebnisse der mit Tyramin + Phenyläthylamin ausgeführten Versuche nebst sämtlichen Kontrollen zusammengestellt. (Der Glykogenbefund beim Tier Nr. 2 ist in die Figur nicht aufgenommen, da er zweifellos eine nicht zu erklärende Ausnahme darstellt). Wie ersichtlich, konnten bei den Kontrolltieren in keinem einzigen Fall so tiefe Glykogenwerte gefunden werden, wie nach Behandlung mit den proteinogenen Aminen. Unter den Kontrolltieren sind auch diejenigen angeführt, die bloß mit steriler Kochsalzlösung gespritzt wurden.

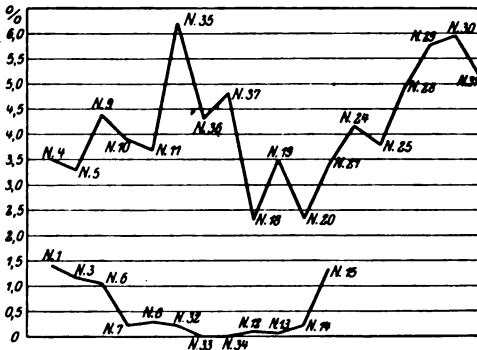


Fig. 1. Unten: Glykogengehalt der Leber der mit Tyramin und Phenyläthylamin behandelten Ratten. Oben: Glykogengehalt der Leber der Kontrolltiere.

### Versuche mit Schilddrüsenfütterung.

Versuchstiere Nr. 22, 23, 24 und 25.

2 Tiere dienten zum eigentlichen Versuch, 2 dienten als Kontrolle. Neben der gewöhnlichen kohlenhydratreichen Nahrung wurde trockene Rinderschilddrüse verfüttert. Jedes Tier bekam je eine Tablette im Tag. Die Tablette wog 0,165 g. Wie es sich nachträglich herausstellte, enthielt sie aber nur 0,012 g trockener Drüsensubstanz, der Rest war Milchzucker. Die verfütterten Mengen sind daher sehr gering. Trotzdem sind die bei den gefütterten Tieren gefundenen Glykogenmengen geringer als bei den Kontrolltieren. Das Tier Nr. 22 hat einen ziemlich hohen Glykogengehalt von 2,56%. Abgesehen davon, daß die gesamte verfütterte Menge von Schilddrüse sehr klein war (total nur 96 mg), hat dieses Tier am letzten Versuchstag überhaupt keine Tabletten bekommen. Das Tier konnte also Glykogen reichlich ablagern. Beim Tier 23 dagegen, das am letzten Versuchstage 2 Tabletten erhielt, ist der Glykogengehalt gering (0,77%). Die Kontrolltiere zeigten 4,15 und 3,80% Glykogen in der Leber. Die in diesem, sowie im nachfolgenden Versuch angewandten Schilddrüsentabletten waren nicht vollwirksam. Mit den Tabletten von Burroughs Wellcome ließen sich viel bessere Resultate erzielen (vgl. Tabelle 6).

Tabelle IV.

Versuchsnummer	Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Gewicht d. Leber	Einverleibung des Präparates	Glykogengeh. der Leber g	Glykogengeh. prozentual d. Lebergewicht %	Geschlecht des Tieres
22	22	4. II.	7. II.	15. II.		213,5	220	7,0	vom 7. bis 14. II. täglich eine Schilddrüsentbl. = 0,012 g Trockensubstanz, am 15. II. keine Tablette	0,179	2,56	Weibchen
23	23	4. II.	7. II.	15. II.	212	229,0	224	9,6	vom 7. bis 14. II. täglich 1 Tablette, am 15. II. 2 Tabletten	0,074	0,77	"
24	24	4. II.		15. II.		113,0	129	2,0	kein Präparat	0,083	4,15	"
25	25	4. II.		15. II.	289	—	306	10,2	"	0,337	3,80	"

#### Versuch 22.

Analyse I. . . . . 7,65 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II. . . . . 7,75 " "

Mittel 7,70 ccm

Zucker total 0,194 g = 0,179 g Glykogen. Lebergewicht 7,0 g. Glykogen-  
gehalt = 2,56%.

#### Versuch 23.

Analyse I . . . . . 3,30 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 3,30 " "  
Mittel 3,30 ccm

Zucker 0,080 g = 0,074 g Glykogen. Lebergewicht 9,6 g. Glykogen-  
gehalt 0,77%.

#### Versuch 24.

20 ccm der hydrolysierten Lösung verbrauchten:

Analyse I . . . . . 3,70 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 3,70 " "  
Mittel 3,70 ccm

Zucker 0,090 g = 0,083 g Glykogen. Lebergewicht 2 g. Glykogengehalt  
der Leber 4,15%.

#### Versuch 25.

Analyse I . . . . . 15,60 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 15,40 " "  
Mittel 15,50 ccm

Zucker 0,418 g = 0,387 g Glykogen. Die Leber wog 10,2 g. Glykogen-  
gehalt = 3,80%.

#### Versuchstiere Nr. 26, 27, 28, 29, 30, 31.

Auch in dieser Versuchsserie wurde Rinderschilddrüse verfüttert, und zwar etwas größere Mengen als in früheren Versuchen. Die Tiere erhielten vom 5. bis 8. V. je eine Schilddrüsentablette täglich, vom 9. bis 11. V. je  $1\frac{1}{2}$  Tabletten, am 12. V. je 2 Tabletten. Zu den Versuchen wurde ein Weibchen und ein Männchen gewählt. Übereinstimmend mit den früheren Ergebnissen hatte auch hier das Weibchen geringere Glykogenmengen als das Männchen.

An den Kontrolltieren wurde noch folgender Versuch gemacht: Um zu prüfen, ob nicht etwa Injektionen an und für sich durch Auslösung irgendeines Reizes zu einer Herabsetzung des Leberglykogens führen, haben wir auf Vorschlag von Herrn Professor Asher den Kontrolltieren Nr. 28, 29 und 30 vom 8. bis 13. V. täglich je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung subcutan injiziert. Das Kontrolltier Nr. 31 hat keine Kochsalzinjektionen bekommen. Wie die gefundenen Zahlen beweisen, haben die Kochsalzinjektionen keinen Einfluß auf den Glykogengehalt der Leber. Derselbe bleibt sehr hoch: 4,95, 5,76 und 5,96%.

Die oben mitgeteilten Resultate nach Injektion der proteinogenen Amine sind somit als spezifische Wirkungen dieser Stoffe anzusehen, sie können nicht durch den Injektionsreiz als solchen verursacht sein.

Tabelle V.

Versuchsnummer	Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Gew. d. Leber	Einverleibung des Präparates	20 ccm d. hydrolyt. Lös. verbr. im Mittl. $\text{KMnO}_4$ ccm	Glykogengehalt der Leber in g	Glykogengehalt prozentual zum Lebergew. in %	(Geschlecht des Tieres)
26	26	1. V.	5. V.	13. V.	142,0	157,5	166,0	7,0	5. bis 8. V. täglich je eine Schilddrüsen-tablette, vom 9. bis 11. je 1 $\frac{1}{2}$ Tabl., am 12. V. 2 Tabletten	5,1	0,117	1,68	Weibchen
27	27	1. V.	5. V.	13. V.	116,0	130,4	148,0	6,7		Injektion von steriler, 0,9%iger Kochsalzlös. 2 ccm pro Tag und Tier	6,2	0,144	2,15
28	28	1. V.	5. V.	13. V.	104,5	116,0	142,2	6,7	keine Kochsalzinjektion	13,4	0,831	4,95	Weibchen
29	29	1. V.	5. V.	13. V.	114,0	130,8	137,2	6,0		13,9	0,346	5,76	Männchen
30	30	1. V.	5. V.	13. V.	116,5	133,0	146,5	9,0	keine Kochsalzinjektion	20,7	0,537	5,96	Weibchen
31	31	1. V.	5. V.	13. V.	127,5	144,0	152,2	6,3		13,1	0,323	5,10	Männchen

Neue Titerstellung der  $\text{KMnO}_4$ -Lösung:  
1 ccm der Lösung entspricht 9,90 mg Cu.

## Versuch 26.

Analyse I . . . . . 5,05 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 5,15 " "

Mittel: 5,10 ccm

Zucker 0,127 g. Glykogen 0,117 g. Lebergewicht 7 g.  
Glykogengehalt 1,68%.

## Versuch 27.

Analyse I . . . . . 6,20 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 6,20 " "

Mittel: 6,20 ccm

Zucker 0,156 g. Glykogen 0,144 g. Lebergewicht 6,7 g.  
Glykogengehalt 2,15%.

## Versuch 28.

Analyse I . . . . . 13,40 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 13,40 " "

Mittel: 13,40 ccm

Zucker 0,358 g. Glykogen 0,331 g. Lebergewicht 6,7 g.  
Glykogengehalt 4,95%.

## Versuch 29.

Analyse I . . . . . 13,95 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 13,85 " "

Mittel: 13,90 ccm

Zucker 0,374 g. Glykogen 0,346 g. Lebergewicht 6,0 g.  
Glykogengehalt 5,76%.

## Versuch 30.

Analyse I . . . . . 20,65 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 20,75 " "

Mittel: 20,70 ccm

Zucker 0,580 g = 0,537 g Glykogen. Lebergewicht 9,0 g.  
Glykogengehalt 5,96%.

## Versuch 31.

Analyse I . . . . . 13,10 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  
" II . . . . . 13,10 " "

Mittel: 13,10 ccm

Zucker 0,349 g. Glykogen 0,323 g. Lebergewicht 6,3 g.  
Glykogengehalt 5,10%.

## Versuche 39, 40, 41, 42.

Es ist eine bekannte Erfahrungstatsache, daß die käuflichen Schilddrüsenpräparate nicht gleichmäßig wirken. Es hängt dies nicht nur mit der Verarbeitung, sondern auch mit der Herkunft der Drüsen zusammen. Drüsen gewisser Tiere sind sehr gut wirksam, diejenigen anderer dagegen viel schwächer. Es wurden daher noch einige Versuche mit den Tabloid Thyroid Gland Burroughs Wellcome angestellt. Die Tabletten enthalten nicht weniger als 0,05% Jod in organischer Bindung. In Übereinstimmung mit den Gaswechselversuchen haben wir feststellen können, daß diese Tabletten auch in bezug auf die Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels hoch wirksam sind. Nach deren Verfütterung konnten nur bei 2 Tieren ganz geringe Glykogenmengen (0,128 und 0,103%) gefunden werden, die anderen 2 mit den Tabletten gefütterten Tiere hatten überhaupt keine Glykogen. Es muß noch erwähnt werden, daß auch die absoluten, von jedem Tier gefressenen Schilddrüsenmengen in diesem Versuch bedeutend höher sind als im früheren.

Tabelle VI.

Versuchsnummer	Tiernummer	Beginn der Fütterung	Beginn des Versuches	Tötung der Tiere	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht bei Beginn des Versuches	Körpergewicht vor der Tötung	Einverleibung des Präparates	Glykogengehalt der Leber in g	Glykogengehalt prozentual zum Lebergew. in %	Geschlecht des Tieres	
39	39	19. VII.	22. VII.	26. VII.	170,0	178,2	184,8	Am 22., 23. u. 24. VII. bekommt jedes Tier je 1 Tabloid Thyreoid Gland Welcome à 0,324 g. Am 25. u. 26. VII. je 2 Tabletten	0,010	0,128	Weibchen	
40	40	19. VII.	22. VII.	26. VII.	127,5	135,7	130,0		kein Glykogen			"
41	41	19. VII.	22. VII.	26. VII.	132,0	148,5	124,7		kein Präparat	0,005	0,103	Männchen
42	42	19. VII.	22. VII.	26. VII.	160,2	156,7	138,0			nicht bestimmbar		
35a	35a	19. VII.	22. VII.	26. VII.	200,8	204,7	205,2	kein Präparat	0,775	6,20	"	
36a	36a	19. VII.	22. VII.	26. VII.	175,0	177,7	188,0	kein Präparat	0,330	4,34	Weibchen	
37a	37a	19. VII.	22. VII.	26. VII.	172,0	169,8	175,8	kein Präparat	0,359	4,78	"	

## Versuch 39.

20 ccm der hydrolysierten Lösung verbrauchten:

Analyse I. . . . . 0,48 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II. . . . . 0,52 " "

Mittel: 0,50 ccm

100 ccm enthalten 0,0112 g Zucker = 0,010 g Glykogen. Gewicht der Leber 7,8 g. Glykogengehalt 0,128%.

## Versuch 41.

20 ccm der hydrolysierten Endlösung verbrauchten:

Analyse I. . . . . 0,25 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung

" II. . . . . 0,25 " "

Mittel: 0,25 ccm

100 ccm enthalten 5,5 mg Zucker = 5,1 mg Glykogen. Lebergewicht 4,95 g. Glykogengehalt 0,103%.

## Zusammenfassung.

1. Die proteinogenen Amine Phenyläthylamin und Tyramin erhöhen den Gesamtumsatz des Körpers und beeinflussen zugleich in charakteristischer Weise den Kohlenhydratstoffwechsel

der Leber. Subcutane Injektionen dieser Amine bewirken bei Ratten eine sehr starke Verminderung, oftmals sogar ein vollständiges Verschwinden des Glykogens aus der Leber.

In Gaswechselfersuchen wurde früher festgestellt, daß nach subcutaner Einverleibung des Phenyl- und des p-Oxyphenyläthylamins eine Erhöhung des respiratorischen Quotienten auftritt. Es darf daher geschlossen werden, daß diese vermehrte Kohlenhydratverbrennung mit der Glykogenausschüttung aus der Leber im Zusammenhang steht.

2. Ebenso wie die Injektion von Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin führt auch die Verfütterung von wirksamer Schilddrüsensubstanz zu einer Verminderung des Glykogenvorrates in der Leber der Ratten.

Es ergibt sich eine interessante Parallele zwischen dem physiologischen Verhalten dieser Stoffgruppen, indem beide nicht nur eine Erhöhung des gesamten Stoffumsatzes bewirken, sondern auch bestimmte chemische Vorgänge in der Leber im gleichen Sinne beeinflussen.

3. Da die Injektion der proteinogenen Amine (des Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamins) sowie eine Verfütterung von wirksamen Schilddrüsenstoffen den Leberglykogengehalt vermindert, und da die Ratten dabei dauernd am Leben bleiben, so kann die Einverleibung dieser Stoffe als Mittel benutzt werden, um die Leber der Ratte (und eventuell auch anderer Tiere) glykogenarm oder beinahe glykogenfrei zu machen.

---



# Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine.

## IV. Mitteilung.

### Einfluß von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froscharven.

Von

J. Abelin.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 5. November 1919.)

Mit 9 Figuren am Schluß.

Zu den interessantesten Beobachtungen der letzten Jahre auf dem Gebiete der Schilddrüsenphysiologie gehört die Feststellung Gudernatschs, daß nach Verfütterung von Schilddrüsenstoffen die Kaulquappen des Frosches eine typische Veränderung der Körperform und eine beschleunigte Metamorphose erleiden. Die Gudernatschsche Reaktion berührt die physiologisch wichtigsten Funktionen der Schilddrüse, nämlich Wachstum, Entwicklung und Stoffwechsel. Zur Erforschung der Stoffwechselwirkung der Thyreoidea standen uns sehr genaue Methoden zur Verfügung. Dagegen waren die Versuche über den Wachstums- und Entwicklungseinfluß der Schilddrüse nicht leicht durchführbar. Sie setzten voraus entweder von Natur aus krankhafte Individuen (Kretins) oder operativ behandelte Tiere (ganz junge schilddrüsenlose Hunde oder Ziegen). Der Vorteil der neuen Reaktion besteht eben darin, daß sie leicht ausführbar ist und zudem gleichzeitig eine sehr große Anzahl von Tieren umfassen kann. Sie erlaubt daher die beim Studium so wichtiger Fragen unbedingt nötigen Vergleiche und

Kontrollen. Die Reaktion von Gudernatsch wirkt spezifisch, indem kein anderes Organ außer der Schilddrüse die Metamorphose der Kaulquappen zu beschleunigen vermag. Man hat daher diese Reaktion zum näheren Studium der Natur der wirksamen Schilddrüsensubstanzen angewendet. Das Ergebnis dieser Versuche ist folgendes: natives Schilddrüsenweiß ist zur Hervorrufung der frühzeitigen Umwandlung der Froschkaulquappen nicht unbedingt nötig. Vollkommen verdautes oder durch Barythydrolyse zerlegtes Schilddrüsen Gewebe beschleunigt ebenfalls die Entwicklung der Kaulquappen [Abderhalden<sup>1)</sup>, Kahn<sup>2)</sup>, Romeis<sup>3)</sup>, Rogoff und Marine<sup>4)</sup>]. Es ist damit, wenigstens was die Metamorphose der Froschlarven betrifft, sicher nachgewiesen, daß der Träger dieser spezifischen Schilddrüsenwirkung ein Körper ist, der viel einfacher als das natürliche Eiweiß gebaut ist.

Diese Feststellungen haben einen Anstoß zur weiteren Erforschung des ganzen Problems gegeben. Das Augenmerk der Forscher verschiebt sich immer mehr und mehr zu denjenigen Stoffen, die zwar vom Eiweiß abstammen, aber nicht mehr Eiweißkörper sind. Wir kennen eine größere Anzahl solcher spezifischer und hochwirksamer Verbindungen. Es genügt der Hinweis auf das Adrenalin, die krystallisierbaren basischen Substanzen der Hypophyse, die eiweißfreien Produkte der Schilddrüse, der Thymus, das Cholin usw. In diese Reihe gehören auch die sog. proteinogenen Amine.

In den früheren Mitteilungen habe ich auf gewisse Analogien zwischen der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine und der Schilddrüsenstoffe hingewiesen. So konnte festgestellt werden, daß ebenso wie unter dem Einfluß von Thyreoideapräparaten auch nach Injektion von Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin der gesamte Stoffwechsel der Ratte in die Höhe geht: es steigt die Stickstoffausscheidung im Harn, die Kohlensäureabgabe, die Sauerstoffaufnahme, die Harnproduktion sowie die Wasserabgabe durch die Luftwege. Auch im Gly-

<sup>1)</sup> Abderhalden, Arch. f. d. ges. Physiol. 162.

<sup>2)</sup> R. H. Kahn, Arch. f. d. ges. Physiol. 163.

<sup>3)</sup> B. Romeis, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 6, 101.

<sup>4)</sup> Rogoff und Marine, Journ. of Pharm. and exper. Therapeut. 9, 1916.

kogenstoffwechsel der Leber treten tiefgreifende Veränderungen ein: Eingabe von Schilddrüse oder Injektion der genannten Amine führt zu einem beinahe vollständigen Verschwinden des Leberglykogens und zu einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung.

In Fortsetzung des gesamten Versuchsplanes ergab sich auch die Notwendigkeit, die Wirkung der proteinogenen Amine auf das Wachstum und die Entwicklung von jungen Tieren (Kaulquappen) zu untersuchen. So sehr wertvoll auch Versuche mit Organextrakten und Organfraktionen sind, sie leiden doch alle an einem gemeinsamen Nachteil — unserer vollkommenen Unkenntnis der chemischen Zusammensetzung der wirksamen Komponenten. Die Untersuchung gewisser proteinogener Amine schien mir auch deswegen von Interesse, weil wir es hier mit chemisch bekannten Verbindungen zu tun haben, deren Beziehungen zu anderen physiologischen Stoffen klargelegt sind und über deren physiologisches Verhalten man ziemlich gut unterrichtet ist. Es wurde eine ganze Anzahl proteinogener Amine geprüft. Hier soll nur über die Wirkung des Tyramins und seiner Abkömmlinge berichtet werden. Zahlreich ausgeführte Vergleichsversuche sprechen dafür, daß p-Oxyphenyläthylamin die Metamorphose der Froschlarven unter bestimmten Bedingungen beschleunigen kann. Dieser Effekt wird aber sehr bedeutend gesteigert, wenn in das Tyraminmolekül Jod eingeführt wird. Im Dijodtyramin wurde eine Substanz gefunden, die selbst in geringen Mengen die normale Entwicklung der Kaulquappen in ganz charakteristischer Weise beeinflusst und beschleunigt. Es hat die Jodierung in diesem, wie in zahlreichen anderen Fällen zu einer Verstärkung der physiologischen Wirkung geführt. Es wäre aber nicht angebracht, dies als eine reine „Jodwirkung“ anzusehen. Versuche mit anderen Präparaten, die das Jod sowohl in organischer wie anorganischer Bindung enthalten, haben zu ganz negativen Ergebnissen geführt. Daraus folgt, daß es nicht nur auf die Anwesenheit des Jods ankommt, sondern das Jod muß natürlich auch passend chemisch gebunden sein. Vom chemischen Standpunkte aus ist es nicht angängig (wie das aber leider sehr oft geschieht) sein Hauptinteresse nur dem Jod zu widmen und die chemische Konstitution des gesamten Moleküls zu vernachlässigen. Der

Gesamteffekt einer solchen Verbindung ist die Resultante der eigenartigen chemischen Bindung des Jods und des Aufbaues des übrigen Molekülrestes. Beides ist untrennbar miteinander verbunden. Es beziehen sich diese Betrachtungen nicht nur auf das hier untersuchte Dijodtyramin, sondern auch besonders auf die Stellung des Jods in der Schilddrüsenfrage.

Über die Art der Jodbindung in den Schilddrüsenstoffen sind die Meinungen geteilt<sup>1)</sup>. Es sprechen manche Überlegungen dafür, daß das Jod hier mit dem Tyrosin (der Muttersubstanz des Tyramins) verknüpft sein kann. Nach Oswald soll bei künstlicher Jodierung der Thyreoideasubstanzen das Jod hauptsächlich vom Tyrosinmolekül aufgenommen werden. In einigen in der Natur vorkommenden jodhaltigen Substanzen ist ebenfalls Tyrosin der Träger der Jodkomponente (z. B. in den Korallen, im Badeschwamm, bei den Anthozoen). Die schilddrüsenähnliche Wirkung des Dijodtyramins wäre ein weiterer indirekter Anhaltspunkt für diese Auffassung. Dennoch sind all solche Schlußfolgerungen wenig aussagend, solange nichts Sicheres über die Natur der wirksamen Schilddrüsensubstanzen bekannt ist. Was dagegen aus den hier mitzuteilenden Versuchen geschlossen werden darf, ist folgendes: eine ganz eigenartige Schilddrüsenwirkung — die beschleunigte Metamorphose der Kaulquappen — kann durch eine jodhaltige Verbindung (Dijodtyramin) in weit höherem Maße nachgeahmt werden, als durch eine sehr nahe dazu verwandte, aber jodfreie Substanz (Tyramin).

#### Methodik.

Die Versuche wurden im Frühjahr und in den Sommermonaten 1918 und 1919 ausgeführt. Benutzt wurden Kaulquappen von *Rana esculenta* und *Rana temporaria*. Ein Teil der gebrauchten Tiere wurde im Institut aus Laichballen aufgezogen, der Rest wurde in verschiedenen Gegenden in der Nähe von Bern gefangen. Die Versuchstiere kamen in Bechergläser von 1 Liter Inhalt, die mit 200 ccm Wasser gefüllt waren. Das Wasser wurde jeden Tag oder über einen Tag gewechselt. Bei jedem Wasserwechsel wurden die Gläser sorgfältig gereinigt. Das frische Wasser war vorher 24 Stunden im gleichen Zimmer gestanden. Auf diese Weise wurde eine Temperaturänderung bei der Erneuerung

<sup>1)</sup> Diese Frage wurde neuerdings von Herzfeld und Klinger behandelt. Diese Zeitschr. 96, 260.

des Glaseinhalts vermieden. Zur Ausschaltung von größeren Temperaturschwankungen kamen die Versuchsgefäße nie in direktes Sonnenlicht. Es kommt oft vor, daß nach Hineinbringen in frisches Wasser die Tiere massenhaft Kot abgeben. In solchen Fällen wurde der Kot nach kurzer Zeit mit Hilfe einer Pipette beseitigt.

Im Sommer 1918 bekamen die Tiere während der Versuchszeit keine Nahrung. Im Sommer 1919 erhielten sie dagegen außer der zu prüfenden Substanz auch „Piscidin“ (Fischfutter) und Grasfutter. Das „Piscidin“ wurde von allen Tieren sehr gerne gefressen, die damit gefütterten Kontrolltiere entwickelten sich sehr gut. Eine gewisse Vorsicht ist bei der Piscidinfütterung der *Rana-temporaria*-Kaulquappen geboten. Hier müssen die Futterreste sehr schnell beseitigt werden. Ein längeres Verbleiben des Piscidins im Versuchsgefäß führt zu einer Trübung des Wassers und zur Entstehung von Stoffen, gegen die die *Temporariakaulquappen* sehr empfindlich zu sein scheinen. Es können wertvolle Versuchstiere auf diese Weise schnell zugrunde gehen. Bei den Esculentalarven dagegen habe ich nie ein Absterben in einem piscidinhaltigen Wasser gesehen.

Die Vorrattiere befanden sich in einem großen Aquarium, dessen Boden mit Sand und Steinen ausgekleidet war. Im Aquarium waren auch verschiedene Wasserpflanzen eingesät, so daß die Tiere bis zu Versuchsbeginn in ziemlich normalen Verhältnissen lebten. Zu den einzelnen Versuchen wurden möglichst gleich große Tiere vom gleichen Entwicklungsstadium gewählt. Zu jedem Versuch wurden 3 bis 8 bis 10 Tiere genommen.

In einem anderen Gefäß befanden sich ebensoviel oder noch mehr Kontrolltiere. Die gleichzeitige Beobachtung zahlreicher Kontrolltiere ist für die Deutung der Resultate unerlässlich. Bei den ausgedehnten individuellen Schwankungen der Kaulquappen sagt das Verhalten eines oder zweier Tiere nicht viel aus. Bei der Auswahl der Tiere muß nicht nur ihre Größe, sondern vor allem ihre Entwicklungsstufe beachtet werden. Ich habe die besten Erfahrungen mit Larven erzielt, die bereits Hinterbeinchen, aber keine Vorderbeinchen hatten. Die Wirkung der Präparate äußerte sich nach 2 bis 4 Tagen. Je nach der Natur und der Menge der zugesetzten Substanz war manchmal die Metamorphose bereits am 4. Versuchstag vollzogen. Die Versuchstiere müssen öfters beobachtet werden, am besten morgens und gegen Abend. Nicht selten erfolgt der Durchbruch der Vorderbeinchen ganz plötzlich. Tiere, die morgens noch ganz wie Kaulquappen aussahen, können gegen Abend die Gestalt von kleinen Fröschen mit 4 Beinchen annehmen. Ebenso wie R. H. Kahn habe ich zuerst den Durchbruch der linken vorderen Extremität gesehen, nur in Ausnahmefällen kommt das rechte Beinchen zuerst zum Vorschein. Nach vollzogener Metamorphose bleiben die Tiere nicht lange am Leben, in 2 bis 3 Tagen gehen sie ein. Auffallenderweise nimmt mit dem Eintritt der Metamorphose die Widerstandskraft der Tiere gegen chemische Einflüsse ab: die gleichen Dosen eines Stoffes,

die von Kaulquappen noch gut ertragen werden, töten rasch das kleine Fröschen. Es empfiehlt sich daher, nach Durchbruch der beiden Vorderbeinchen und bei beginnender Schwanzreduktion keine Giftsubstanzen mehr dem Wasser zuzusetzen.

Für die photographische Aufnahme wurden die Tiere mit ganz schwacher Formaldehydlösung abgetötet. Die Anwendung konzentrierter Formollösungen ist nicht zu empfehlen, da die Körperform dadurch etwas verändert werden kann.

### Versuche mit Dijodtyramin.

Das Dijodtyramin ist in der chemischen Literatur bereits beschrieben<sup>1)</sup>. Das freie Dijodtyramin wurde nur im Versuch 40 angewendet, in sämtlichen übrigen Versuchen wurde das Jodhydrat des Dijodtyramins verfüttert.

#### Versuch 83.

**Material:** Rana-esculenta-Kaulquappen, in der Aare gefangen. Große Tiere, gut ernährt, mit sehr langem und breitem Schwanz. Helle Farbe, Bauchgegend weiß, leicht pigmentiert.

**Entwicklungsstadium:** Hinterbeinchen klein, keine Anlagen der vorderen Extremitäten. Die Zehen sind noch nicht gut differenziert. Größe der Tiere:

Durchschnittliche Rumpflänge . . . . .	17,5 mm
"    Schwanzlänge . . . . .	33,0 "
"    Rumpfbreite . . . . .	11,8 "
"    Länge der Hinterbeinchen . . .	6,0 "

**Beginn des Versuches:** 5. VIII. 1919.

3 Kaulquappen, 200 ccm Wasser + 15 mg Dijodtyramin (3 ccm einer 5<sub>00</sub>igen Suspension in Wasser).

6. VIII. Wasserwechsel und Zusatz von Grasfutter.

7. VIII. Das Grasfutter wird herausgenommen, Zusatz von weiteren 15 mg Dijodtyramin.

8. VIII. Die Tiere werden mit Gras gefüttert.

9. VIII. Die Hinterbeinchen sind bei sämtlichen Tieren größer geworden, sie sind auch in gebogener Stellung. Ein Tier zeigt eine ganz deutliche Zuspitzung gegen den Schwanz zu. Das Wasser wird erneuert, es werden wieder 20 mg Dijodtyramin zugesetzt (Verdünnung 1 : 10000).

10. VIII. Bei einem Tier ist die Zuspitzung gegen den Schwanz noch deutlicher geworden. Die Hinterbeine sind jetzt 10,5 mm lang, die Zehen sind gut differenziert und einzeln erkennbar. Die Hinterbeinchen sind in Sprungstellung. Die Mundgegend ist breiter geworden.

Bei einem anderen Tier ist die Abmagerung gegen die Hinterbeinchen sehr gut erkennbar, beim dritten Tier beginnt sie sich auszu-

<sup>1)</sup> Chem. Zentralbl. 1, 1845, 1913; DRP. 259193.

bilden. Es werden noch 10 mg Dijodtyramin zugesetzt (Verdünnung 1:20000). Die Tiere bekommen Piscidinfutter.

11. VIII. Wasserwechsel. Ein Tier zeigt die ganz charakteristische Abmagerungsform; an der Durchbruchstelle der Vorderbeinchen sind starke Anschwellungen vorhanden. Beim anderen Tier hat die Abmagerung ebenfalls zugenommen. Zusatz von 20 mg Dijodtyramin (Verdünnung 1:10000).

12. VIII. Sämtliche Tiere haben nun die typische Abmagerungsform angenommen. Bei einem Tier sind beide Vorderbeine durchgebrochen. Wasserwechsel, Zusatz von 30 mg Dijodtyramin.

13. VIII. Wasserwechsel. Bei zwei Tieren beginnt die Schwanzreduktion.

14. VIII. Bei einem Tier ist nur ein geringer Rest vom Schwanz vorhanden, die Metamorphose ist vollendet. Ein anderes Tier hat ein Vorderbein bekommen, der Schwanz ist stark eingeschmolzen. Die enge larvale Mundöffnung ist in einen breiten Froschmund umgewandelt. Auch das dritte Tier hat Vorderbeinchen, einen „Froschmund“, die Schwanzverkleinerung ist aber gering. Die ganze Metamorphose verläuft sehr rapid. Da die Tiere schwächlich sind und abzusterben drohen, werden sie am Abend mit verdünntem Formol abgetötet und am nächsten Morgen photographiert.

#### Kontrolltiere. Versuch 85.

3 große Kaulquappen aus der Aare. Die Tiere stammen vom gleichen Fange wie die Versuchstiere und sind auch im gleichen Entwicklungsstadium.

Durhschnittliche Rumpflänge . . . . .	17,0 mm
„ Schwanzlänge . . . . .	31,0 „
„ Rumpfbreite . . . . .	12,0 „
„ Länge der Hinterbeinchen . . . . .	6,0 „

Die Tiere kommen in ein Becherglas von genau der gleichen Größe wie bei den Versuchstieren. Zusatz von 200 cem  $H_2O$ .

7. VIII.  $H_2O$ -Wechsel, Zugabe von Grasfutter.

8. VIII. Fütterung mit Gras, die Tiere zeigen keine deutliche Veränderung gegenüber dem Ursprungsstadium.

9. VIII. Wasserwechsel.

10. VIII. Fütterung der Tiere mit Piscidin.

11. VIII. Wasserwechsel, ohne Veränderung.

12. VIII. Wasserwechsel.

13. VIII. Ein Tier bekommt ein linkes Vorderbeinchen.

14. VIII. Wasserwechsel und Grasfütterung. Das Tier bekommt auch das andere Vorderbeinchen; auch in der Mundgegend sind die Veränderungen deutlich. Der Schwanz ist aber lang, dessen Resorptoin hat noch nicht begonnen. Bei den zwei anderen Kaulquappen keine Veränderung. Die Tiere werden gleichzeitig mit den Versuchstieren mit Formol abgetötet und photographiert.

## Versuch 81.

Beginn des Versuches: 29. VII. 1919.

Kaulquappen von *Rana esculenta*. Die Tiere wurden aus einem Laichballen gezüchtet. Als Nahrung diente Piscidin und Grasfutter. Die Tiere sind  $2\frac{1}{2}$  Monate alt.

Entwicklungsstadium: gut entwickelte Larven, die Hinterbeinchen sind ausgebildet, Körperform ziemlich rund, keine Anschwellung der Vorderbeine, Schwanz sehr lang.

Mittlere Schwanzlänge . . . .	28,6 mm
" Rumpflänge . . . .	13 "
" Rumpfbreite . . . .	7—8 "

Drei Tiere werden in 200 ccm Wasser gebracht. Zusatz von 15 mg Dijodtyramin.

30. VII. Die Tiere werden mit Gras gefüttert. Ein Tier zeigt eine geringe Einschmelzung des Schwanzes.

31. VII. Die Schwanzreduktion schritt bei einem Tier noch weiter. Am Abend des gleichen Tages stirbt das Tier, der Schwanz hat nur noch  $\frac{1}{2}$  seiner ursprünglichen Länge. An Stelle dieses Tieres wird ein anderes von oben angegebener Größe eingesetzt. Außerdem werden noch 2 gleich große Kaulquappen genommen, so daß die Zahl der Versuchstiere jetzt 5 beträgt. Wasserwechsel und Zusatz von 10 mg Dijodtyramin.

1. VIII. Bei einem Tier ist die Abmagerung typisch, die Hinterbeinchen sind dicker geworden. Bei den anderen Tieren keine sichtbare Veränderung. Wasserwechsel und Zusatz von 15 mg Dijodtyramin.

2. VIII. Bei einem Tier kommen die Hinterbeinchen oft in Streckstellung, bei 3 anderen Tieren sind die Hinterbeinchen in Sprungstellung, Zehen gut differenziert, 1 Tier hat Keilform angenommen. Die Tiere werden mit Gras gefüttert.

3. VIII. Über Nacht hat 1 Tier beide Vorderbeine bekommen, der Schwanz ist viel kleiner geworden. Ein anderes Tier hat einen Froschmund, an der Austrittsstelle der Vorderbeinchen sind starke Anschwellungen vorhanden. Wasserwechsel + 10 mg Dijodtyramin.

4. VIII. Noch 1 Tier hat metamorphosiert, die Hinterbeinchen sind auch bei diesem Tier zeitweise ebenfalls gestreckt (wie bei einem mit Strychnin vergifteten Frosch). Beim Tier, das am 3. VIII. die beiden Vorderbeine bekommen hat, ist der Schwanz bereits auf die Hälfte reduziert. 1 Tier hat eine Zuspitzung gegen den Schwanz zu, der Mund ist breit. Die Tiere werden mit Gras gefüttert.

5. VIII. Das Tier, das die Metamorphose bereits am 3. VIII. erlitten hat, hat beinahe keinen Schwanz mehr. Beim anderen Tier, das am 4. VIII. Vorderbeine bekommen hat, ist der Schwanz auf die Hälfte reduziert. Noch 1 Tier hat 2 Vorderbeinchen bekommen. Es sind jetzt 3 Tiere mit Vorderbeinen, 2 ohne. Sowohl die metamorphosierten als auch die nicht metamorphosierten Tiere halten die Hinterbeinchen oft in gestreckter Stellung.



6. VIII. 2 Tiere sind tot, sie haben keinen Schwanz mehr. 1 kleines Fröschen hat noch einen kleinen Schwanz, dessen Größe im Laufe des Tages noch weiter abnimmt. Die Beinchen sind gestreckt. Bei einem Tier ist der Froschmund voll ausgebildet, es hat aber noch keine Vorderbeine. 1 Tier hat keine Veränderungen erlitten.

7. VIII. Das Fröschen ist nunmehr ganz ohne Schwanz. 1 Tier hat 1 linkes Vorderbein, die Hinterbeinchen sind bei ihm gestreckt.

8. VIII. morgens. 1 metamorphosiertes Tier ist tot. Ein anderes hat ein linkes Vorderbeinchen und sehr starke Schwanzreduktion. Das dritte Tier hat nur  $\frac{1}{2}$  der ursprünglichen Schwanzlänge, aber noch keine Vorderbeine. Beide Tiere haben einen Froschmund. Die Beinchen sind während des Schwimmens und oft auch während der Ruhelage längs gestreckt.

8. VIII. abends. Beide Tiere sind tot. Bei einem Tier ist noch das linke Vorderbeinchen durchgebrochen, der Schwanz hat sich noch weiter verkleinert.

### Kontrollen. Versuch 82.

Beginn: 29. VII. 1919. Körpergröße und Entwicklung der Tiere wie im Hauptversuch. 6 Esculentakaulquappen. Die Tiere werden in 200 ccm Wasser gebracht und mit Gras gefüttert.

31. VII. Wasserwechsel, keine Veränderung. Es werden noch 2 Kontrolltiere eingesetzt, insgesamt nun 5 Tiere.

2. VIII. Wasserwechsel. Kein sichtbarer Unterschied gegenüber dem Ausgangsstadium.

4. VIII. Bei 1 Tier ist ein linkes Vorderbeinchen durchgebrochen, alle anderen Tiere sind ohne Vorderbeine. Grasfutter.

5. VIII. Noch 1 Tier hat 2 Vorderbeine bekommen, der Schwanz ist lang. Wasserwechsel, Grasfutter.

6. VIII. Jetzt haben 3 Tiere Vorderbeinchen, 2 nur Hinterbeine. Bei einem metamorphosierten Tier ist die Schwanzreduktion sichtbar, bei den anderen 2 Tieren ist der Schwanz noch sehr lang (vgl. Hauptversuch).

7. VIII. Das kleine Fröschen ist tot. Bei den 2 anderen metamorphosierten Tieren ist die Hälfte des Schwanzes resorbiert. 2 Tiere haben noch keine Vorderbeine.

8. VIII. 1 metamorphosiertes Tier ist tot. Die beiden anderen Fröschen sind beinahe ohne Schwanz. 2 Tiere haben Vorderbeine bekommen, der Schwanz ist lang.

### Versuch 79.

Dieser Versuch wurde gleichzeitig an Kaulquappen von *Rana esculenta* und *Rana temporaria* ausgeführt. Die Esculentakaulquappen wurden im Institut aus Laich gezüchtet, die Temporariatiere stammen aus dem botanischen Garten. Beide Arten sind ungefähr im gleichen Entwicklungsstadium: die Hinterbeinchen sind gut entwickelt,

Vorderbeinchen sind noch keine vorhanden. Die Körpermessungen haben im Durchschnitt folgende Zahlen ergeben:

<i>Rana temporaria</i> :	Rumpfbreite . . .	7 mm
	Rumpflänge . . .	10,2 "
	Schwanzlänge . .	17,5 "
<i>Rana esculenta</i> :	Rumpfbreite . . .	8,5 "
	Rumpflänge . . .	13 "
	Schwanzlänge . .	25 "

Anzahl der Versuchstiere: 6 *Esculenta*- und 5 *Temporaria*-Kaulquappen.

Beginn des Versuches: 22. VII. 1919. 200 ccm Wasser + 5 mg Dijodtyramin:

23. VII. Weiterer Zusatz von 5 mg Dijodtyramin.

24. VII. Am Vormittag werden die Tiere mit Gras gefüttert. Am Abend wird das Wasser ausgewechselt, 10 mg Dijodtyramin werden zugesetzt.

26. VII. Bei 2 *Temporariakaulquappen* ist je ein rechtes Vorderbeinchen durchgebrochen. 2 *Esculentatiere* zeigen eine typische Zuspitzung der hinteren Körperhälfte. Wasserwechsel und Zusatz von 15 mg Dijodtyramin.

27. VII. *Temporaria*: in der Nacht sind auch die linken Vorderbeinchen durchgebrochen, 1 Kaulquappe bekam ein Vorderbeinchen.

*Esculenta*: Bei einem Tier sind beide Vorderbeinchen vorhanden, 2 Tiere haben typische Zuspitzung. Das Grasfutter bleibt die ganze Zeit im Versuchesgefäß.

28. VII. *Temporaria*: von den 5 Versuchstieren haben 3 Metamorphose erlitten, der Schwanz beginnt stark einzuschmelzen, an 2 Tieren lassen sich keine Veränderungen feststellen.

*Esculenta*: Metamorphose einer Larve, 2 Larven bekommen je 1 linkes Vorderbein. Bei den Kontrolltieren sind bis zu diesem Tag noch keine Vorderbeine da (vgl. *Esculentakontrollen*).

29. VII. *Temporaria*: Die Schwanzreduktion ist im Laufe dieser 24 Stunden weiter fortgeschritten. Die 2 noch nicht metamorphosierten Tiere zeigen ebenfalls eine Verkleinerung des Schwanzes, die Hinterbeinchen sind bedeutend größer geworden. Die Schwanzreduktion vor Durchbruch der Vorderbeine ist besonders auffallend.

Die *Temporariakaulquappen* zeigen auch die typische „Geigenform“.

*Esculenta*: 1 Fröschen vollkommen ohne Schwanz, 2 Tiere haben beide Vorderbeine, Körperform zugespitzt. 2 Tiere zeigen nur Zuspitzung, aber keine Vorderbeine. 1 Tier ist ohne deutliche Veränderung. Keine „Geigenform“.

Wasserwechsel, Zugabe von Grasfutter und 10 mg Dijodtyramin.

30. VII. abends. Bei sämtlichen *Temporariakaulquappen* ist der Schwanz noch kleiner geworden.

31. VII. Metamorphose bei allen 5 *Temporariatieren*, die kleinen Fröschen haben beinahe keinen Schwanz mehr.

**Esculenta:** 2 metamorphosierte Tiere geben nur noch geringe Lebenszeichen, Schwanzreduktion sehr stark. Bei 2 Tieren sind beide Vorderbeinchen durchgebrochen, aber in Form von ganz dünnen Stummeln und ohne Differenzierung, die Schwanzresorption beginnt. Sämtliche Tiere dieses Versuches werden nebst den dazu gehörigen Kontrollen photographiert.

### Kontrollversuch 80.

Beginn: 22. VII. 1919. Anzahl der Tiere: 5.

**Temporaria-** und 5 Esculentakaulquappen: Herkunft, Entwicklungsstadium und Größe der Tiere wie im Hauptversuch.

24. VII.: Grasfutter, darauf Wasserwechsel.

25. VII.: Grasfutter.

26. VII.: 1 Temporariatier hat 2 Vorderbeine bekommen.

27. VII.: Noch 1 Temporariatier bekommt 2 Vorderbeine, bei den anderen Tieren lassen sich keine Veränderungen beobachten. Grasfutter.

28. VII. Temporaria: 3 Tiere haben beide Vorderbeine, 2 Tiere nur 1 linkes Vorderbeinchen.

**Esculenta:** Keine einzige Larve hat Metamorphose erlitten, die Hinterbeinchen sind größer und dicker geworden, keine Vorderbeine, auch keine seitlichen Anschwellungen.

29. VII. Temporaria: Keine Veränderungen gegenüber dem 28. VII. Der Schwanz hat bei allen Tieren die ursprüngliche Länge, an der Schwanzspitze sind keine Reduktionserscheinungen festzustellen.

**Temporaria:** 1 Tier mit 2 Vorderbeinen, die übrigen Tiere haben kein einziges Vorderbeinchen.

Grasfutter und Wasserwechsel.

31. VII. Die Temporariatiere sind alle metamorphosiert. Der Schwanz ist aber zum Unterschied von den mit Dijodtyramin behandelten Tieren ziemlich lang.

**Esculenta:** Bei 3 Tieren Metamorphose, der Schwanz ist lang. Die anderen Tiere sind ohne Veränderung.

Der Verlauf der Metamorphose in diesem Versuch unter dem Einfluß von Dijodtyramin erinnerte in sehr vielen Punkten an das Verhalten der Kaulquappen nach Schilddrüsenzufuhr. Abgesehen davon, daß die Metamorphose beschleunigt war, zeigten sich noch hier folgende gewöhnlich für die Schilddrüse charakteristischen Merkmale. Erstens, die rasche Schwanzreduktion. Dies Symptom ist mir bei mit Schilddrüsen gefütterten Tieren immer besonders aufgefallen. Ich konnte sehr oft feststellen, daß bei solchen Schilddrüsentieren der Schwanz einzuschmelzen beginnt, ehe noch die Vorderbeinchen zum Vorschein kommen. Bei der normal verlaufenden Metamorphose ist es umgekehrt: zuerst tritt gewöhnlich 1 Vorderbeinchen, nach 1 bis 2 Tagen (manchmal etwas schneller) das zweite auf. Erst dann beginnt die Resorption des Schwanzes, die ebenfalls allmählich verläuft. Bei den Dijodtyramin-

tieren ließ sich die Verkürzung des Schwanzes noch einige Tage vor Durchbruch der Vorderbeinchen feststellen (vgl. Angaben vom 29. VII. und andere Versuchsprotokolle).

Zweitens, die Zartheit der erscheinenden Vorderbeinchen. Normalerweise treten die Vorderbeinchen ziemlich dick (je nach der Größe des Tieres) und gut differenziert hervor. Nach Schilddrüsenfütterung und nach Dijodtyramineingabe bilden sich an Stelle von Vorderbeinchen nur ganz zarte und schlecht differenzierte Stummel aus. Eine Umbildung solcher Stummel zu echten Extremitäten tritt nicht immer ein, da die Tiere gewöhnlich nur einige Tage am Leben bleiben (vgl. auch Versuch Nr. 4 und Photographie Nr. 3).

Drittens, die sogen. „Geigenform“, besonders bei *Temporaria*-larven. Vom 29. VII. konnte bei den Versuchstieren diese charakteristische Körperform auch von wenig Erfahrenen leicht festgestellt werden. An der Photographie ist dies leider nicht gut zu sehen. In den anderen Versuchen war die Geigenform nicht so ausgesprochen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß Dijodtyramin bei den *Temporaria*-larven auch wachstumshemmend wirkte. Die mit Dijodtyramin behandelten *Temporariakaulquappen* erscheinen auch in der Photographie kleiner als die Kontrolltiere. Über die wachstumshemmende Wirkung des Dijodtyramins vgl. Versuch 57.

Sowohl in diesen wie in den anderen Versuchen waren die angewandten Dijodtyraminmengen sehr gering. Bei Zusatz von 20 mg davon ergibt sich eine Verdünnung von 1:10 000. Manchmal waren die Verdünnungen noch stärker. Die Anwendung hoher Konzentrationen verbietet die Giftigkeit des Dijodtyramins.

### Versuch 52.

Beginn des Versuches: 31. V. 1919.

Esculentakaulquappen aus dem botanischen Garten. 8 Tiere, 4 haben kleine Hinterbeinchen, 4 haben ovale Form, die Hinterbeinchen sind noch nicht durchgebrochen. Vorderbeinchen sind bei keinem einzigen der zahlreich gefangenen Tiere zu sehen. 200 ccm Wasser + 5 mg Dijodtyramin. (Verdünnung 1:40000.)

1. VI. Wasserwechsel und Fütterung mit Piscidin, Zusatz von 5 mg Dijodtyramin. Am 2. VI. wieder Wasserwechsel und Zusatz von 10 mg Dijodtyramin (Verdünnung 1:20000). Es lassen sich noch keine auffallenden Veränderungen beobachten.

3. VI. Die Tiere werden mit Piscidin gefüttert. Wasserwechsel ohne Zusatz von Dijodtyramin.

4. VI. Bei 2 Tieren ist der Kopf breit, der Leib ist nach hinten zugespitzt. Zusatz von 10 mg Dijodtyramin.

5. VI. Bei einem Tier ein linkes Vorderbeinchen.

6. VI. vorm.: Auch das zweite Vorderbeinchen ist durchgebrochen, die Schwanzreduktion ist sichtbar. Bei einem anderen Tier sind starke

Anschwellungen am vorderen Körperteil vorhanden. 1 Tier zeigt typische Abmagerung.

6. VI. abends. Das metamorphosierte Tier ist tot. Beim anderen Tier sind die Vorderbeine durchgebrochen. Die Tiere werden mit Piscidin gefüttert, Zusatz von 6 mg Dijodtyramin.

7. VI. Bei 2 Tieren Metamorphose und starke Schwanzreduktion. Piscidinfütterung, Zugabe von 5 mg. Dijodtyramin (Verdünnung von 1:40000).

9. VI. Die beiden metamorphosierten Tiere sind tot. 1 Tier hat Metamorphose erlitten.

10. VI. Metamorphose beim letzten der 4 Tiere, die zu Beginn des Versuches Hinterbeinchen hatten. Auf die Tiere ohne Hinterbeinchen hat das Dijodtyramin wenig gewirkt: die Tiere zeigen keine Zuspitzung des Leibes, die Hinterbeinchen sind klein.

Was die Kontrolltiere betrifft, so hat noch kein einziges davon bis zum 10. VI. Vorderbeine bekommen. Die Tiere sind rund, mit gut entwickeltem Schwanz, Hinterbeinchen sind vorhanden, sie sind aber noch nicht deutlich differenziert.

#### Versuch 40.

Beginn: 1. VIII. 1918.

Esculentakaulquappen, auf einem Weiher am Ufer der Aare gefangen. Sehr große Tiere, gut genährt. Vorderbeinchen bei keinem einzigen Tier. Die Hinterbeinchen sind da, aber klein und eben differenziert. Aus dem großen Becken wurden 10 möglichst gleich große Larven ausgesucht: 5 dienen zum Versuch, 5 als Kontrollen.

Durchschnittliche Rumpflänge . . . . .	16,8 mm
"    Schwanzlänge . . . . .	30,5 "
"    Rumpfbreite . . . . .	12,0 "
"    Länge der Hinterbeinchen . . . . .	4—5 "

Während der ganzen Versuchsdauer hungern die Versuchs- und die Kontrolltiere.

400 ccm Wasser + 0,5 mg Dijodtyramin. Zu diesem Versuch wurde das Dijodtyramin in Form seiner freien Base verwendet. Dieses Präparat wurde so gewonnen, daß das Jodhydrat des Dijod-p-oxydphenyläthylamins in Wasser zu einer sehr feinen Suspension verrieben und das Gemisch mit Sodalösung vorsichtig neutralisiert wurde. Der Rückstand wurde abgesaugt und mit Wasser sehr gut gewaschen. Die freie Base des Dijod-p-oxyphenyläthylamins ist in Wasser noch schwerer löslich als das jodwasserstoffsaurer Salz und scheint auch für die Kaulquappen bedeutend giftiger zu sein. In diesem Versuch kamen daher äußerst geringe Mengen zur Anwendung. Dementsprechend ist auch der Effekt der Wirkung nur langsam zum Vorschein gekommen.

3. VIII. Wasserwechsel, 0,5 mg Dijod-p-oxyphenyläthylamin. Am 4., 6., 8., 10., 12. und 15. VIII. wird das Wasser gewechselt, jedesmal

erfolgt Zusatz von 0,5 mg Dijodtyramin. Im Laufe dieser Zeit lassen sich nur geringfügige Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren erkennen. Beide Gruppen sind abgemagert.

18. VIII. Wasserwechsel, Zusatz von 0,3 mg Dijodtyramin. 1 Tier hat Extremitätenknospen.

21. VIII. Durchbruch eines linken Vorderbeinchens bei einem Tier.

22. VIII. Auch das zweite Vorderbeinchen ist durchgebrochen. An den Stellen, wo die vorderen Extremitäten herauskommen, sind runde Löcher vorhanden. An der Schwanzspitze dunklere Farbe und Fältungen als Zeichen beginnender Resorption.

23. VIII. Das metamorphosierte Tier ist tot. Wasserwechsel und Zusatz von 1,5 mg Dijodtyramin.

26. VIII. Wasserwechsel, Zusatz von 3 mg Dijodtyramin.

28. VIII. Durchbruch eines Vorderbeinchens bei noch einem Tier, an der Austrittsstelle des Beinchens ist ein Loch. Ein anderes Tier zeigt eine ziemlich dicke Extremitätenknosphe.

31. VIII. Ein anderes Tier bekommt ebenfalls ein linkes Vorderbeinchen. Bei den Kontrolltieren sind noch keine Vorderbeine. Wasserwechsel.

1. IX. Die Hinterbeinchen sind bei sämtlichen Tieren gut differenziert; sie sind bedeutend dicker und größer geworden. 1 Tier hat einen „Froschmund“, die Lippen sind verschwunden, Ober- und Unterkiefer sind breiter geworden. Die Tiere zeigen typische Geigenform.

2. IX. Noch ein Tier bekommt ein linkes Vorderbein. Ein zweites Vorderbeinchen entwickelt sich beim Tier, das am 31. VIII. das linke Vorderbeinchen bekommen hat. Am Schwanz ist die Resorption deutlich zu sehen. Wasserwechsel.

4. IX. Weitere Verkleinerung des Schwanzes. Die 2 metamorphosierten Tiere haben nur ganz kleine Vorderbeinchen; es sind das eher Stummel, die nur unvollständig an die Gliederung der Extremität erinnern. Beim noch nicht metamorphosierten Tier sind 2 Extremitätenknospen vorhanden.

7. IX. Die Hinterbeinchen sind bei einem Tier ganz dick, die einzelnen Teile sind sehr gut entwickelt, Zehen und Schwimmhaut sind deutlich. Der Schwanz ist noch weiter eingeschmolzen. Auch die Entwicklung der Vorderbeinchen ist fortgeschritten. Bei den 2 anderen Tieren beginnen auch die Umbildungen am Mund, auffallend ist auch die Zuspitzung der hinteren Körperhälfte. Photographie der Versuchstiere und der Kontrolltiere (vgl. Fig. 3).

An der Photographie ist die stummelartige Ausbildung der Vorderbeinchen bei den Versuchstieren ganz deutlich. Auch die Abmagerung ist sichtbar. Das am 23. VIII. metamorphosierte Tier ist nicht abgebildet.

#### Versuch 36.

Beginn: 31. VII. 1918.

Temporariakaulquappen aus dem botanischen Garten.

Entwicklungsstadium: Kaulquappen von 100 bis 130 mm

Körperlänge. Die Hinterbeinchen sind meistens noch schlecht entwickelt, bei vielen Tieren sind nur Hinterbeinchenanlagen. Keine Vorderbeine. Für den Versuch werden 4 Tiere gewählt: 1 Larve hat ziemlich gut entwickelte Hinterbeinchen, 3 Larven haben nur geringe Hinterbeinchenanlagen.

Durchschnittliche Rumpflänge . . . . . 95 mm

„ Schwanzlänge . . . . . 100 „

200 ccm Wasser + 5 mg Dijodphenyläthylamin.

Am 1. VIII. ist bei einem Tier das linke, am 2. VIII. auch das rechte Vorderbeinchen durchgebrochen.

3. VIII. Wasserwechsel, Zusatz von 1 mg Dijodtyramin.

5. VIII. Vollständige Metamorphose eines Tieres, Schwanz ganz resorbiert. 3 Tiere zeigen typische Verschmälnerung des Leibes.

8. VIII. Metamorphose bei noch 1 Tier. Bei einer Larve haben sich die Hinterbeinchen gut entwickelt, Oberschenkel, Unterschenkel und Fußplatte sind gut erkennbar. Zusatz von 2 mg Dijodtyramin.

10. VIII. Bei 2 Tierchen sind die Hinterbeinchen ausgebildet, Metamorphose eines Tieres. Wasserwechsel.

13. VIII. 2 metamorphosierte Larven sind tot.

17. VIII. Wasserwechsel. Gut ausgebildete Extremitäten bei einem Tier, vollständige Metamorphose und Schwanzresorption beim anderen.

### Versuch 51.

Kaulquappen von *Rana esculenta*, aus einem Laichballen selbst gezüchtet. Die Tiere sind 14 Tage alt, sie wurden mit Piscidin gefüttert. Zum Versuch wurden 10 Tiere genommen.

Beginn des Versuches: 23. V. 1919.

200 ccm Wasser +  $\frac{1}{10}$  mg Dijodtyramin.

Am 24., 26. und 28. V. wird das Wasser ausgewechselt, jedesmal werden  $\frac{1}{10}$  mg Dijodtyramin zugesetzt. Jeden zweiten Tag wurden die Tiere mit Piscidin gefüttert.

Am 31. V. wird 1 mg, am 1. VI. werden 5 mg Dijodtyramin zugesetzt. Außerdem werden am 1. VI. die Tiere mit Piscidin gefüttert. Im Vergleich mit den Kontrolltieren ergaben sich bis jetzt keine deutlichen Unterschiede. Manche Tiere haben eine mehr ovale Körperform, doch findet man auch bei den Kontrollen ähnlich aussehende Tiere.

2. VI. Zugabe von 10 mg Dijodtyramin, Wasserwechsel.

3. VI. 5 Tiere sind träge, machen nur geringe Bewegungen, schwimmen oft auf dem Rücken. Sie werden in frisches Wasser gebracht und mit Piscidin gefüttert.

4. VI. Sämtliche Tiere haben sich erholt, Zusatz von 5 mg Dijodtyramin.

Am 6. und 7. V. werden die Tiere mit Piscidin gefüttert, es werden bei jeder Fütterung 5 mg Dijodtyramin zugesetzt.

11. VI. Die Tiere sind sowohl im Wachstum, als auch in der Ent-

wicklung gegenüber den Kontrollen zurückgeblieben. Die Hinterbeinchen sind nur als kleine helle Anlagen und nur bei einem Teil der Tiere ausgebildet.

15. VI. Wasserwechsel, Fütterung der Tiere und Zusatz von 5 mg Dijodtyramin.

In der nachfolgenden Zeit bekamen die Larven kein Dijodtyramin mehr. Zwischen dem 17. und 24. VI. bekommen sie als Futter Piscidin und Grasfutter, vom 24. VI. an nur Grasfutter. Die Tiere wurden den ganzen Sommer lang beobachtet. Sie sind nur ganz wenig gewachsen, die Hinterbeinchen blieben stummelartig. Die anderen Tiere vom gleichen Laichballen sind sämtlich im Laufe des Monats Juli metamorphosiert. Die mit Dijodtyramin behandelten Kaulquappen sind im August noch im larvalen Zustande, in dieser Entwicklungsstufe gingen sie allmählich ein. Am 18. IX. stirbt das letzte Tier, es hat keine Vorderbeine, macht den Eindruck einer ca. 30 Tage alten Larve. Die Messungen ergaben folgende Zahlen:

Rumpflänge 6 mm, Rumpfbreite 3,2 mm, Schwanzlänge 15 mm, Länge der Hinterbeinchen 2 mm.

### Versuche mit Tyramin.

Das Tyramin wirkt bedeutend schwächer als das Dijodtyramin. Seine Wirkung ist auch nicht regelmäßig. Das Alter der Larven ist hier von großer Bedeutung. Bei reifen Kaulquappen ist die entwicklungsbeschleunigende Wirkung des Tyramins oft sehr deutlich, bei jungen Larven bleibt sie aus.

Anmerkung bei der Korrektur. Während der Drucklegung dieser Arbeit ist eine Mitteilung von E. Abderhalden erschienen, die sich mit dem Einfluß von verschiedenen Organsubstanzen auf die Froschlarven befaßt<sup>1)</sup>. Abderhalden hat beobachtet, daß es für den Ausfall der Versuche nicht unwesentlich ist, wann die Einwirkung der wirksamen Stoffe auf die Kaulquappen erfolgt. In der ersten Zeit der Entwicklung scheint der Einfluß nicht so wesentlich zu sein, als in späteren Entwicklungsstadien. Meine Versuche (vgl. Nr. 51, 52 u. a.) sowie diejenigen von B. Romeis (l. c.) und Kahn (l. c.) bestätigen dies. Junge Kaulquappen reagieren meinen Erfahrungen nach nicht regelmäßig, die Wirkung tritt erst nach längerer Zeit auf.

Abderhalden berichtet, daß Verfütterung von Plazentagewebe außerordentlich beschleunigend auf die Entwicklung von Kaulquappen wirkte. Diese Beobachtung scheint mir sehr beachtenswert, da in der Plazentasubstanz nach Untersuchungen von H. Guggisberg u. a. Stoffe enthalten sind, die den proteinogenen Aminen sehr nahe stehen. Die Anwesenheit von Tyramin in Plazentaextrakten ist sogar sehr wahrscheinlich. Ist vielleicht die Wirkung von Plazentagewebe der Anwesenheit dieser tyraminähnlichen Stoffe zuzuschreiben?

<sup>1)</sup> E. Abderhalden, Arch. f. d. ges. Physiol. 176, 236.



Nach einer Mitteilung von David J. Macht<sup>1)</sup> soll auch eine Verfütterung von Prostata eine beschleunigte Metamorphose der Kaulquappen zur Folge haben. Ich habe einige Prostatadrüsen auf ihren eventuellen Jodgehalt untersucht, konnte aber bis jetzt kein Jod finden.

Auch die Lebensweise, die Art der Ernährung der Larven usw. scheinen eine Rolle zu spielen. Ich habe z. B. einen von mir selbst gezüchteten, vorwiegend mit Piscidin gefütterten Stamm von Esculentakaulquappen gehabt, der auf Tyramin nicht reagiert hat. Ein Kontrollversuch mit Tyramin an ungefähr gleich alten, frisch eingefangenen Esculentalarven hatte dagegen vollen Erfolg. Der Verlauf der Metamorphose unter dem Einfluß von Tyramin erinnert vollkommen an die normale Umbildung der Froschlarven, sie ist nur zeitlich abgekürzt. Einige Tyraminversuche sollen hier näher beschrieben werden.

### Versuche 76 bis 78.

*Rana-temporaria*-Kaulquappen, vom botanischen Garten. Mittelgroße Larven mit gut entwickelten und differenzierten Hinterbeinchen. Vorderbeinchen keine. Es werden 18 Tiere von möglichst genau der gleichen Größe und gleicher Entwicklungsstufe ausgesucht und in 3 Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt: Gruppe 1 dient als Kontrolle, Gruppe 2 und 3 erhalten neben Pflanzenfutter Tyramin-HCl.

Durchschnittliche Größe der Tiere:

Rumpflänge 11,5 mm, Rumpfbreite 7,5 mm, Schwanzlänge 16,5 mm.  
Beginn des Versuches: 14. VII. 1919.

Gruppe 1. Pflanzenfutter. Das Piscidin hat sich bei den Temporalarven nicht bewährt. Überreste von Piscidin verderben das Wasser und die Tiere gehen leicht ein, es wurden daher ausschließlich Wasserpflanzen verwendet.

Gruppe 2. 200 ccm Wasser + 0,045 g Tyramin-HCl [Verdünnung 1 : ca. 500<sup>(\*)</sup>]. In den nachfolgenden Tagen erfolgt der Wasserwechsel täglich. Am 15., 17. und 19. VII. werden dem Wasser je 0,03 g Tyramin-HCl zugesetzt. Außerdem Grasfutter.

Gruppe 3. 200 ccm Wasser + 0,045 g Tyramin-HCl. 15. VII. Fütterung der Tiere und Zusatz von 0,03 g salzsaurem Tyramin.

16. VII. Wasserwechsel. 17. VII. Zusatz von 0,03 g Tyramin-HCl. 1 Larve bekommt ein linkes Vorderbeinchen.

18. VII. Metamorphose bei 3 Tieren, die Tiere sind stark abgemagert. Am Munde lassen sich Umbildungen erkennen. Am 19. VII. Wasserwechsel + 0,01 g Tyramin-HCl.

20. VII. Gruppe 1 (Kontrolltiere). Kein einziges Tier hat Vorderbeinchen, die Tiere haben noch ein typisch larvales Aussehen.

Gruppe 2. 4 Tiere zeigen Verschmälerung im Unterleibe.

<sup>1)</sup> Proc. of the Soc. for exper. Biology and Med. 16, New-York 1919.

<sup>2)</sup> Die Reaktion des Wassers gegen Lackmuspapier ist neutral.

Gruppe 3. Noch 1 Tier hat Metamorphose erlitten, insgesamt haben von 6 Tieren bis heute 4 metamorphosiert. Schwanzreduktion. 2 Tiere haben noch keine Vorderbeinchen.

21. VII. Gruppe 1 (Kontrollen). Keine Metamorphosen, Vorderbeinchen sind bei keinem Tier durchgebrochen. Wasserwechsel, Grasfutter.

Gruppe 2. Wasserwechsel + 0,04 g Tyramin.

Gruppe 3. 1 metamorphosiertes Tier ist tot. Bei diesem, sowie bei den 3 anderen metamorphosierten Tieren ist der Schwanz zum großen Teil resorbiert.

22. VII. Gruppe 2. Vollständige Metamorphose bei einem Tier.

Gruppe 3. Metamorphose bei noch einem Tier. Von 6 Tieren haben 5 metamorphosiert, eins noch nicht.

23. VII. Gruppe 1 (Kontrollen). 1 Tier hat 1 linkes Vorderbeinchen, bei 2 Tieren Zuspitzung der Körperform.

Gruppe 2. Metamorphose bei noch 2 Tieren. Wasserwechsel + 0,04 g Tyramin-HCl.

Am 24. VII. werden die Tiere photographiert.

#### Versuch 54.

Beginn des Versuches: 6. VI. 1919.

Esculentakaulquappen aus dem botanischen Garten. Mittelalte Kaulquappen. Hinterbeinchen sind vorhanden, sie sind ganz dünn, Vorderbeinchen keine. 8 Tiere. 200 ccm Wasser + 0,02 g Tyramin-HCl (Verdünnung 1:10 000).

7. VI. Die Tiere werden mit Piscidin gefüttert. Wasserwechsel und Zusatz von 0,02 g Tyramin-HCl.

9. VI. Metamorphose bei einem Tier. Die anderen 7 Tiere zeigen die charakteristisch zugespitzte Körperform. Zusatz von 0,2 g Tyramin-HCl. (Das Wasser, in dem sich die Tiere befinden, reagiert nicht sauer.)

10. VI. Wasserwechsel und Zugabe von 0,025 g Tyramin-HCl.

11. VI. Beim metamorphosierten Tier ist die Schwanzresorption in voller Entwicklung. Im Laufe des Tages stirbt das Tier. Bei allen Tieren sind die Hinterbeinchen dicker und größer geworden, die Extremitäten sind auch gut differenziert. An den Durchbruchstellen der vorderen Beinchen sind starke Anschwellungen vorhanden, sie sind von hellroter Farbe. Fütterung mit Piscidin und Zusatz von 0,03 g Tyramin-HCl.

12. VI. 1 Tier hat Metamorphose erlitten, 2 Tiere haben ein linkes Vorderbeinchen. Kontrolltiere: 1 Tier hat ein linkes Vorderbeinchen.

13. VI. Metamorphose bei 5 weiteren Tieren.

Von den am 6. VI. verwendeten 8 Versuchstieren haben also 7 metamorphosiert, 1 Tier hat noch keine Vorderbeinchen,

aber Extremitätenknospen, die Hinterbeinchen haben bei ihm deutlich an Größe und Dicke zugenommen.

Kontrolltiere: 1 Tier hat zwei Vorderbeinchen, 2 Tiere haben ein linkes Vorderbeinchen, 5 Tiere ohne Veränderung.

Am 14. VI. werden die Tiere photographiert.

### Versuch 56.

Beginn des Versuches: 12. VI. 1919.

*Rana-esculenta*-Kaulquappen, gefangen im Belpmoos.

Entwicklungstadium: Junge Kaulquappen, Körperform oval, gut genährte Tiere, Hinterbeinchen klein, sie sind nur beim Schwimmen der Larven deutlich zu sehen. Vordere Extremitäten bei keinem einzigen Tier des ganzen Fanges. 18 möglichst gleich große und gleich gut entwickelte Kaulquappen werden in 2 Gruppen eingeteilt: 8 Tiere dienen zum Versuch mit Tyramin, 10 als Kontrolle.

Die Körpermessungen ergaben folgende Zahlen:

Durchschnittliche Rumpflänge	13,8 mm
" " breite	8,0 "
" Schwanzlänge	21,0 "

Die Versuchstiere kommen in ein Gefäß mit 200 ccm Wasser + 0,03 g Tyramin-HCl, die Kontrolltiere in ein gleich großes Gefäß mit 200 ccm Wasser.

13. VI. 2 Tiere zeigen eine starke Verschmälerung am Unterleib, bei einem Tier beginnt die Zuspitzung in der Nähe des Schwanzes. Wasserwechsel, Zusatz von 0,03 g Tyramin-HCl. Die Kontrolltiere zeigen keine Formveränderung, das Wasser wird ausgewechselt.

14. VI. Zusatz von 0,03 g Tyramin-HCl. Die Zuspitzung der Körperform ist noch weiter fortgeschritten.

15. VI. Wasserwechsel. Bei einem Tier ist eine vordere Extremität durchgebrochen (merkwürdigerweise rechts).

Unter den ca. 100 gleichzeitig gefangenen Kaulquappen ist es das erste und einzige Tier, das ein Vorderbeinchen hat. 5 Kaulquappen zeigen starke Einschmelzungen am Unterleibe. Zusatz von 0,03 g Tyramin-HCl.

Bei den Kontrolltieren hat nur ein Tier eine Verschmälerung des Unterleibes.

16. VI., vorm. Das Wasser ist rötlichbraun gefärbt, es wird ausgewechselt. Sämtliche Versuchstiere haben jetzt konische Körperform, davon haben 4 Tiere sehr starke Zuspitzung in der Schwanzgegend. Beim Tier, das gestern ein Vorderbeinchen bekommen hatte, ist auch das zweite Vorderbeinchen durchgebrochen. Die Schwanzspitze ist gekrümmt, die Schwanzflossen sind eingeschmolzen. Mundlinie sehr breit, Ober- und Unterkiefer sind gut ausgebildet. Bei den anderen Versuchstieren sind die Hinterbeinchen ausgewachsen, die Gliederung in Ober-, Unterschenkel und Fuß ist gut zu sehen. Zusatz von 0,015 g Tyramin-HCl.

Unter den Kontrolltieren hat nur eine Larve stärkere Hinterbeinchen und Keilform, die anderen Tiere weisen keine Formveränderung auf.

16. VI., 7<sup>00</sup> abends. Die tyraminhaltige Flüssigkeit hat sich im Laufe des Tages rötlichbraun gefärbt.

17. VI. Noch ein Tier hat Metamorphose erlitten, es hat gut differenzierte Vorderbeinchen und einen Froschmund. Die anderen 6 Versuchstiere haben Extremitätenknospen. Wasserwechsel, Zugabe von 0,02 g Tyramin-HCl. Unter den Kontrolltieren hat keine einzige Larve Vorderbeinchen, Wasserwechsel.

18. VI., 9<sup>00</sup> vorm. Bei einem metamorphosierten Tier ist der Schwanz auf ca.  $\frac{1}{2}$  reduziert. Ein Tier hat ein Vorderbeinchen (wieder ein rechtes!). Ein anderes Tier hat bereits einen breiten Froschmund, aber noch keine Vorderbeine. Bei 3 Tieren sind an den Stellen der Extremitätenknospen runde Löcher. Wasserwechsel.

Bei den Kontrolltieren bekommt eine Larve ein Vorderbeinchen, die anderen Tiere haben sich in ihrem Aussehen wenig verändert.

18. VI., 6<sup>00</sup> abends. Bei 6 Versuchstieren (von 8) sind die vorderen Extremitäten durchgebrochen. Beim zuerst metamorphosierten Tier ist der Schwanz beinahe vollständig resorbiert.

Kontrolltiere: Bei einer Larve ist ein linkes Vorderbeinchen durchgebrochen, der Schwanz ist lang, die Mundöffnung ist klein und larval.

19. VI., vorm. 4 metamorphosierte Tiere zeigen starke Schwanzschmelzungen, 2 Tiere haben stark angeschwollene Extremitätenknospen, die Vorderbeinchen sind noch nicht zu sehen.

19. VI., 3<sup>00</sup> nachm. Auch die letzten Versuchstiere haben Vorderbeine, die Schwanzresorption ist bei allen Tieren weiter fortgeschritten.

Kontrolltier: Ein Tier bekommt ein zweites Vorderbeinchen, sonst keine Veränderung.

20. VI. 2 Tiere sind tot. Bei den Kontrollen hat sich eine vordere Extremität bei 2 Larven ausgebildet. Die Tiere werden photographiert.

Es wurde auch versucht die Wirkung von Phenyläthylamin auf die Entwicklung der Froschlarven zu prüfen. Derartigen Versuchen stehen manche Eigenschaften des Phenyläthylamins im Wege. Phenyläthylamin wirkt auf die Kaulquappen stark narkotisch: selbst in ganz verdünnten Lösungen werden die Tiere rasch narkotisiert. Werden die Tiere nicht bald in frisches Wasser gebracht, so erwachen sie aus der Narkose nicht mehr. Phenyläthylamin hat sich auch als ein starkes Lokalanästheticum erwiesen. Diese Nebenwirkungen erschweren die Gewinnung eines einwandfreien Einblickes in die entwicklungsbeschleunigende Kraft des Phenyläthylamins.

### Kontrollversuche mit jodhaltigen Präparaten.

Um das Verhalten der Froschkaulquappen jodhaltigen Substanzen gegenüber näher zu erforschen, wurden noch Versuche mit jodhaltigen Verbindungen angestellt. Es wurden dazu Substanzen gewählt, die das Jod sowohl in anorganischer (KJ), als auch in organischer, aber leicht abspaltbarer Bindung enthalten (Lipojodin). Weder die eine, noch die andere Reihe konnte die normale Metamorphose der Kaulquappen beschleunigen. Der Ausfall dieser Kontrollversuche ist so zu deuten, daß nur ganz spezifisch gebaute, jodhaltige organische Körper die charakteristischen Einflüsse auf die Kaulquappenmetamorphose auslösen können. Der Organismus der Larven scheint nicht imstande zu sein mit Hilfe von zugeführtem Jod die spezifisch wirksame Substanz aufzubauen. Letztere muß vielmehr in fertigem Zustande den Zellen zur Verfügung gestellt werden. Es wurde auch versucht, durch Zufuhr von KJ und Tyramin die evtl. Synthese des Dijodtyramins *intra vitam* sich abspielen zu lassen. Irgendwelcher Einfluß auf die Entwicklung der Kaulquappen konnte aber dabei nicht festgestellt werden. Dagegen hatte in einem Kontrollversuch die Zugabe von Dijodtyramin eine sich rasch vollziehende Metamorphose zur Folge.

Die Befunde über das Versagen der Wirkung von Jodkalium decken sich mit den experimentellen Ergebnissen anderer Autoren. Jodkalium wurde den Kaulquappen von B. Romeis<sup>1)</sup> und M. Morx<sup>2)</sup> verfüttert. Eine typische Wirkung war nicht zu sehen. Von organischen Jodpräparaten wurde jodiertes Eiweiß mehrfach untersucht. Morx<sup>2)</sup> behauptet von einem jodierten Bluteiweiß („Jodalbin“) eine Wirkung gesehen zu haben. C. H. Lenhart<sup>3)</sup> konnte Morx's Angaben nur teilweise bestätigen. Er faßt die geringe Jodalbinwirkung als Folge einer Jodvergiftung auf. Auch in den Versuchen von Rogoff und Marine<sup>4)</sup> hat Jodalbin nur in sehr hohen Dosen eine schwache Wirkung gezeigt. Romeis<sup>5)</sup> fand beim künstlich jodierten Serumalbumin „nur bei sehr starker Fütterung und durchaus nicht ausnahmslos eine geringe bis mittelstarke Wachstumshemmung und ganz mäßige Entwicklungsbeschleunigung“.

Eine typische Schilddrüsenwirkung löst also das jodierte Serumalbumin nicht aus. Ob es überhaupt irgendeinen charakteristischen Einfluß auf die Entwicklung der Kaulquappen hat, läßt sich nicht sagen, da die Angaben zu widersprechend sind. Es scheinen hier weitere Versuche notwendig zu sein. Die Rolle des Jods für die Kaulquappenmetamorphose muß an Hand zahlreicher, verschieden konstituierter Jod-

<sup>1)</sup> B. Romeis, Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organ. 40, 1915.

<sup>2)</sup> M. Morx, Journ. of Biolog. Chem. 19, 1914.

<sup>3)</sup> C. H. Lenhardt, Journ. f. experim. Med. 22, 1915.

<sup>4)</sup> Rogoff und Marine, l. c.

<sup>5)</sup> Romeis, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 6, 278.

verbindungen verfolgt werden. Erst dann kann seine Bedeutung aufgeklärt werden.

### Kontrollversuch mit KJ-Lösung.

#### Versuch 37.

Beginn: 29. VII. 1918.

Material: Temporariakaulquappen aus dem botanischen Garten. 2 Tiere haben kleine, aber ziemlich gut ausgebildete Hinterbeinchen, 3 Tiere haben keine Vorderbeine.

Durchschnittliche Rumpflänge 100 mm,  
" Schwanzlänge 120 "

200 ccm Wasser mit Zusatz von 1,5 ccm einer 1%igen Jodkaliumlösung, enthaltend 11,2 mg Jod.

31. VII. Keine Veränderung an den Tieren.

2. VIII. Desgleichen.

5. VIII. Desgleichen.

8. VIII. Wasserwechsel. Zusatz von 1,5 ccm KJ-Lösung, entsprechend 11,2 mg Jod. Die Tiere haben nicht abgemagert.

10. VIII. 3 Tiere sind tot, Metamorphose ist nicht eingetreten. Ein Tier lebt, es hat keine Hinterbeine.

13. VIII. Das letzte Tier ist tot, die Hinterbeinchen sind nicht zum Durchbruch gekommen.

Kontrollversuch mit Jodkalium + Tyramin, vgl. S. 86 (Tafelerklärung).

### Kontrollversuch mit Dijodbrassidinsäureäthylester

#### (Lipojodin).

Beginn des Versuches: 2. IX. 1919.

Rana-esculenta-Kaulquappen, gefangen im Weiher am Ufer der Aare.

Entwicklungsstadium: Ältere Kaulquappen, große Tiere mit sehr langem Schwanz. Die Hinterbeinchen sind gut ausgebildet, die Zehen deutlich differenziert. Vorderbeinchen sind keine vorhanden, aber Andeutungen von Extremitätenknospen sind bei einigen Tieren zu erkennen.

Durchschnittliche Körperlänge . . 20,2 mm  
" " breite . 13,0 "  
" Schwanzlänge . 31,5 "  
" Beinchen " . 9,5 "

Die Tiere werden in 2 Serien zu je 4 eingeteilt: Eine Serie dient zum Versuch, die andere Reihe als Kontrolle. Hunger. 200 ccm Wasser, Zusatz von 0,01 g Lipojodin (1 ccm einer 1%igen Suspension im Wasser).

3. IX. Wasserwechsel und erneuter Zusatz von 0,01 g Lipojodin.

Kontrolltiere: Wasserwechsel.

Am 4. und 5. IX. wird das Wasser wieder ausgewechselt, jedesmal wird 0,01 g Lipojodin zugegeben.

Am 5. IX. ist bei einem Versuchstier ein linkes Vorderbeinohren durchgebrochen. Bei 2 Kontrolltieren ist ebenfalls das linke Vorderbeinchen zum Vorschein gekommen.

6. IX. Versuchstiere: Wasserwechsel, Zugabe von 0,01 g Lipojodin. Das Tier bekommt auch das zweite Beinchen, noch ein Tier hat zwei Vorderbeinchen.

Kontrolltiere: Bei beiden Tieren ist das zweite Beinchen durchgebrochen.

8. IX. Wasserwechsel + 0,01 g Lipojodin: 3 Tiere haben nun Vorderbeine. die larvalen Freßwerkzeuge sind verschwunden, Ober- und Unterkiefer sind ausgebildet. Am Schwanz sind noch keine Rückbildungen zu sehen. Ein Tier ist noch auf dem Anfangsstadium.

Die Kontrolltiere lassen sich deutlich in 2 Gruppen trennen: Bei 2 Tieren sind beide Vorderbeinchen ausgebildet, die Tiere haben einen typischen Froschmund, bei einem Tier ist auch die Schwanzresorption sehr stark. Die beiden anderen Tiere haben nur je ein kleines Vorderbeinchen, die Umbildung in der Mundgegend hat begonnen.

9. IX. Zusatz von noch 0,02 g Lipojodin. Keine weitere Veränderung, der Schwanz ist noch bei allen Tieren sehr lang.

Kontrolltiere: 3 Tiere haben nun Vorderbeine, ein Tier hat nur ein linkes Vorderbeinchen. Bei den Tieren mit 4 Extremitäten beginnt die Resorption des Schwanzes.

10. IX. Wasserwechsel + 0,02 g Lipojodin. Bei 3 Tieren sind Faltungen und Resorptionsprozesse am Schwanz zu sehen.

Kontrolltiere: Sämtliche Tiere haben Metamorphose erlitten. Bei 2 Tieren ist der Schwanz auf ca.  $\frac{2}{3}$ , bei einem Tier auf ca. die Hälfte der ursprünglichen Länge zusammengesmolzen; bei einem Tier ist der Schwanz unverändert. Gegen Abend stirbt ein Tier.

12. IX. 3 metamorphosierte Tiere sind tot, ein Tier lebt, es hat keine Vorderbeine, aber große Extremitätenknospen.

Kontrolltiere: 2 metamorphosierte sind tot, das letzte Kontrolltier stirbt am 13. IX.

Die mit Dijodtyrosin angestellten Versuche ergaben bis jetzt kein eindeutiges Resultat. Sie müssen fortgesetzt werden.

In der Photographie Nr. 9 sind mehrere Tiere abgebildet, die zu verschiedenen Versuchen gehören. Es handelt sich um eine Serie von Experimenten an Esculentakaulquappen gleichen Alters und gleicher Entwicklungsstufe. Die durchschnittliche Körperlänge der Tiere beträgt zu Beginn der Versuche 90 bis 100 mm, die durchschnittliche Schwanzlänge 120 mm. Die Hinterbeinchen sind noch nicht entwickelt.

Nr. 1. Kontrolltiere (Versuch 28).

Nr. 2. (Versuch 32.) Mit Dijodtyramin behandelte Tiere.

Der Versuch begann am 25. VI. 1918, die photographische Aufnahme fand am 6. VII. statt. Da es sich um einen der ersten Versuche

mit Dijodtyramin handelte, so wurden äußerst geringe Mengen davon gegeben. Der Unterschied gegenüber den Kontrolltieren ist auf dem Bilde ganz deutlich. Die Dijodtyramintiere sind stark abgemagert, die Körperform ist zugespitzt, der Mund ist froschähnlich, die Schwanzresorption ist in vollem Gange und zwar in ganz auffallender Weise vor Durchbruch der Vorderbeinchen (ähnlich wie bei Schilddrüsenfütterung). Die Hinterbeinchen sind am 3. VII. durchgebrochen, während die Kontrolltiere noch am 6. VII. ohne Extremitäten sind (vgl. auch Nr. 5 dieser Photographie).

Nr. 3. (Versuch 19.) Mit 2 mg Phenyläthylamin, 26 mg Tyramin und 1,5 mg Histidin behandelt. Keine oder nur äußerst schwache Wirkung.

Nr. 4. (Versuch 22a.) Auszug aus Rinderschilddrüse enthält sehr geringe Spuren von Eiweiß. Mittelstarke Wirkung.

Nr. 5 und 6. Parallelversuche. Beginn am 27. VI. 1918. (Versuche 30 und 30a).

Nr. 6. 24stündiger Auszug aus 1 Tabloid Thyroid Gland Wellcome (0,324 g) mit 10 ccm Wasser. Der Extrakt ist eiweißhaltig. Einmaliger Zusatz von 1 ccm dieses Auszuges. Keine Wirkung.

Nr. 5. Trockenrückstand des eben erwähnten Tabloidauszuges. Einmaliger Zusatz von 0,07 g dieser Trockensubstanz. Sehr starke Wirkung, rapide Schwanzreduktion vor Durchbruch der vorderen Extremitäten, Froschmund, Körperzuspitzung.

Nr. 7. (Versuch 23.) Wäßriger Auszug einer kropfförmig degenerierten Schilddrüse vom Menschen. Beginn des Versuchs am 11. VI. 1918. Bis 6. VI. keine Wirkung.

Nr. 8. (Versuch 21b.) Beginn den 11. VI. 1918. Die Tiere kamen öfters in eine Lösung von 0,01 g Cholinbromid in 200 ccm Wasser. Die Larven sind plump, dick, wenig beweglich, erinnern an Thymustiere. Die Verfütterung von Cholin muß sehr vorsichtig geschehen, da die Tiere leicht vergiftet werden. Sie liegen dann auf dem Rücken, schwimmen in dieser Lage nur ganz kurze Zeit und kehren zur Ruhe zurück. Beim Hineinbringen in frisches Wasser tritt meistens Erholung ein.

Die Versuche mit Verfütterung von verschiedenen Schilddrüsen-substanzen und Schilddrüsenauszügen sollen an anderer Stelle näher beschrieben werden. Hier sei nur zum Vergleich ein Thyreoidea-fütterungsversuch angeführt, weil er den typischen Verlauf der Metamorphose unter dem Einfluß von hochwirksamer Thyreoidea wiedergibt.

#### Versuch 68.

Beginn: 29. VI. 1919.

Esculentakaulquappen, aus einem Laichballen im Frühjahr selbst gezüchtet. Die Tiere sind 45 Tage alt, das Futter besteht aus Piscidin, unter seltenerem Zusatz von Pflanzennahrung. Entwick-



lungsstadium: Hinterbeinchen ganz schwach entwickelt, es sind nur dunkel gefärbte Stummel vorhanden.

Durchschnittliche Körperlänge . . .	11 $\frac{1}{4}$ mm
"    Rumpfbreite . . .	7 $\frac{1}{4}$ "
"    Schwanzlänge . . .	20 $\frac{1}{2}$ "

2 Serien zu 8 gleich großen Tieren. 1 Serie wird mit Burroughs Wellcome Schilddrüsentabletten gefüttert, die andere Serie dient als Kontrolle.

Serie I. 200 ccm + 0,01 g Wellcome Thyreoidpulver. Von den Schilddrüsentabletten wurde eine 1%ige Suspension in Wasser hergestellt und nach kräftigem Schütteln 1 ccm abgemessen. Fütterung mit Piscidin.

1. und 2. VII. Zusatz von je 0,01 Schilddrüsensubstanz, außerdem Piscidinfutter. Die Tiere sind abgemagert, bei 2 Tieren sind die Hinterbeinchen größer geworden. Bei Serie II gar keine Veränderung.

3. VII. Zusatz von 0,01 g Wellcometabletten ohne Wasserwechsel. Ausbildung der charakteristischen nach unten spitzeren Körperform.

4. VII. Wasserwechsel, Piscidinfutter.

6. VII. Bei sämtlichen Tieren läßt sich feststellen: Schwanzreduktion auf ca. die Hälfte der ursprünglichen Länge, Verschwinden der Lippen, Hornkiefer und Ausbildung eines breiten Mundes. Die Hinterbeinchen sind meistens schlecht entwickelt, Vorderbeinchen hat kein einziges Tier. Die Tiere haben eine ganz auffallende Atmung: sie pendeln die ganze Zeit vom und zum Glasrand; sie bleiben zwar am gleichen Ort, aber machen fortwährende Bewegungen. Diese Haltung ist für die Schilddrüsenvergiftung ganz charakteristisch. Ich habe dieses Phänomen fast immer bei Schilddrüsenfütterung gesehen und möchte es als ein typisches Symptom bezeichnen („Schilddrüsenatmung“).

Serie II: keine Veränderung.

7. VII. Außerordentlich demonstrativ ist die Schwanzresorption, nur bei 3 Tieren sind Vorderbeinchen als dünne Fäden durchgebrochen, bei den andern 5 Tieren ist die Schwanzevolution beinahe vollendet, trotzdem, daß Vorderbeine nicht vorhanden sind. Es ist dies ebenfalls ein Symptom, das man bei einer normal verlaufenden Metamorphose nie sieht. Im Laufe des 7. und 8. VI. gehen die Tiere ein.

8. VI. Serie II. Die Kontrolltiere sind in der Entwicklung nicht weiter gekommen als zu Beginn des Versuches.

Aus den angeführten Versuchen ergeben sich einige Wechselbeziehungen zwischen der Wirkung der Schilddrüsenstoffe und des jodierten Tyramins auf die Metamorphose der Kaulquappen. Beide vermögen nicht nur Wachstumshemmung und Entwicklungsbeschleunigung hervorzurufen, sondern die Metamorphose verläuft auch in beiden Fällen unter sehr charakteristischen Symptomen. Betrachtet man näher die Metamorphose der Kaulquappen nach Schilddrüsenfütterung, so findet man viele

Erscheinungen, die bei einer normal verlaufenden Metamorphose nicht auftreten. Die wichtigsten Merkmale sind: 1. Die rapide Schwanzreduktion. Diese tritt sehr oft noch vor dem Durchbruch der Vorderbeine ein. 2. Die Ausbildung und Differenzierung der Vorderbeinchen ist unter Schilddrüseneinfluß ebenfalls eine mangelhafte. Es treten nur Extremitätenstummel auf. 3. Sehr charakteristisch ist auch die frühzeitige Veränderung am Kopf der Tiere. Es genügt die Verfütterung einer relativ geringen Menge wirksamer Schilddrüsensubstanz, um bei der Larve einen ganz breiten und typischen Froschmund zu erzeugen. An Stelle von kleinen Lippen treten breite Ober- und Unterkiefer auf. Diese Veränderungen am Munde scheinen sehr typisch zu sein. Sie treten oft ebenfalls noch vor Durchbruch der Vorderbeinchen auf und haben mir als gutes Kriterium einer Schilddrüsenwirkung gedient. 4. Die fortwährenden Hin- und Herbewegungen der Tiere. Es ist das ein ziemlich konstantes Symptom einer Schilddrüsenvergiftung. Unter den vielen von mir durchgeprüften Substanzen (Phenyläthylamin, Tyramin, Adrenalin, Cholin, Vitamine, Jodpräparate u. a.) hat nur das Dijodtyramin einige dieser Symptome gezeigt. Auch hier ist die voreilige Schwanzreduktion, die Ausbildung des Froschmundes, die oft mangelhafte stummelartige Extremitätenbildung besonders auffallend (vgl. Versuch 80 u. a.).

Neben diesen Übereinstimmungen besteht ein wichtiger prinzipieller Unterschied zwischen der Thyreoidea- und der Dijodtyraminwirkung. Es gehört vielleicht zu dem besonders auffallenden Merkmal der Schilddrüsenwirkung, daß man dabei die Metamorphose von Kaulquappen jedes beliebigen Alters künstlich hervorrufen kann. Ganz junge, nur wenig ausgewachsene Larven können durch Schilddrüsenfütterung innerhalb kurzer Zeit in kleine Frösche umgewandelt werden. Man muß sich deshalb fragen, ob die Thyreoidea in solchen Fällen wirklich eine normale Entwicklungsbeschleunigung hervorruft. Die Umwandlung der Larve in einen Frosch ist natürlich ein normaler Vorgang. Dürfen wir aber diese Erscheinung auch als normal ansehen, wenn sie sich zu einer anormalen Zeit abspielt? Würde man das Auftreten der Geschlechtsreife bei einem wachsenden Kind unter dem Einfluß irgendeiner Substanz als einen normalen oder pathologischen Vorgang ansehen? In Tat und Wahrheit ist die frühzeitige Metamorphose der Kaulquappen eine außergewöhnliche Erscheinung. Sie tut sich kund sowohl in dem oben geschilderten abweichenden Verlauf der einzelnen Vorgänge, sowie auch darin, daß sämtliche auf diese Weise zur Metamorphose gebrachten Tiere unfehlbar rasch zugrunde gehen.

Das Dijodtyramin unterscheidet sich von der Schilddrüsenwirkung dadurch, daß es nur bei Larven eines bestimmten Alters die Metamorphose hervorrufen kann. Wird das Dijodtyramin jungen Kaulquappen verfüttert, so bleiben sie im Wachsen zurück, eine Metamorphose fand aber in den bisherigen Versuchen nicht statt (vgl. Versuch 51). Dijodtyramin darf daher als eine Substanz betrachtet werden, welche einen

normalen, zu einer gewissen Zeit sich abspielenden Vorgang bedeutend abkürzt, also eine normale Entwicklungsbeschleunigung mit sich bringt. Die Schilddrüsenstoffe sind imstande, die Umwandlung der Kaulquappen hervorzurufen, das Dijodtyramin — nur zu beschleunigen.

### Zusammenfassung.

1. p-Oxyphenyläthylamin (Tyramin) ist oft imstande, die normale Metamorphose älterer Froschkaulquappen zu beschleunigen.

Diese Eigenschaft wird sehr bedeutend gesteigert, wenn in den Kern des Tyraminmoleküls Jod eingeführt wird. Dijod-p-oxyphenyläthylamin (Dijodtyramin) hat sich als eine Substanz erwiesen, die selbst in geringen Mengen den normalen Verlauf der Metamorphose von Froschlarven in ganz charakteristischer Weise beeinflusst und beschleunigt. Der Gang der Metamorphose weist dabei einige Symptome auf, die man auch bei der Schilddrüsenfütterung sieht.

2. In der Wirkung der Thyreoidea auf die Kaulquappen lassen sich neben der Dissimilationssteigerung noch zwei Momente besonders unterscheiden: eine Wachstumshemmung und eine Entwicklungsbeschleunigung. Beide Wirkungen treten an Larven jedes beliebigen Alters auf. Selbst ganz junge Kaulquappen können durch Schilddrüsenfütterung zur Metamorphose veranlaßt werden.

Dijodtyramin entfaltet diese Wirkungen nur an Larven, die sich auf einer bestimmten Entwicklungsstufe befinden. An jungen Kaulquappen trat bisher nur seine wachstumshemmende Wirkung in den Vordergrund.

3. Verfütterung von Jodkalium sowie von Lipojodin hatte weder bei jungen, noch bei älteren Froschlarven eine beschleunigte Metamorphose zur Folge.

4. Phenyläthylamin wirkt in schwacher Konzentration auf Froschkaulquappen narkotisch. Es hat sich auch als ein starkes Lokalanästheticum erwiesen.

---

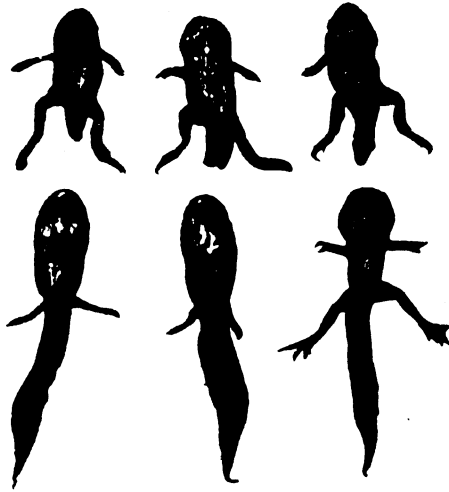


Fig. 1. Obere Reihe: behandelt mit Diiodtyramin (Versuch Nr. 83).  
Untere Reihe: Kontrolltiere (Versuch Nr. 85).

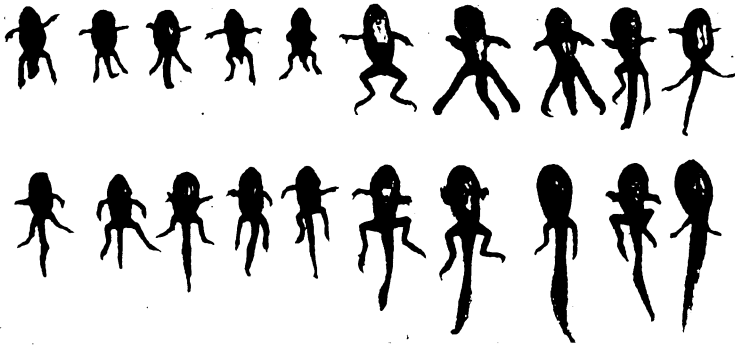


Fig. 2. Obere Reihe: behandelt mit Diiodtyramin (Versuch Nr. 79).  
Rechts Esculenta-, links Temporariakaulquappen. Untere Reihe:  
Kontrolltiere (Versuch Nr. 80). Rechts Esculenta-, links Temporaria-  
kaulquappen.

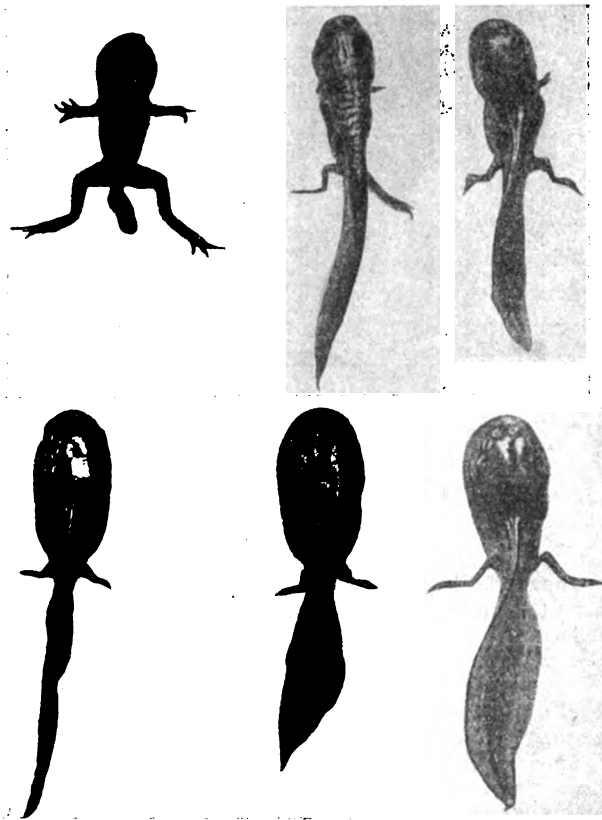


Fig. 3. Obere Reihe: behandelt mit sehr geringen Mengen von Dijodtyramin (Versuch 40). Untere Reihe: Kontrolltiere.

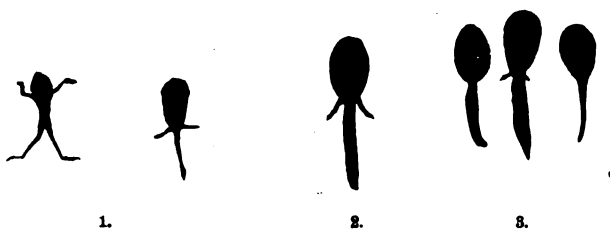


Fig. 4. 1. Behandelt mit Dijodtyramin. Außer den beiden abgebildeten Tieren hatten noch 2 Larven metamorphosiert. Sie kamen nicht zur Aufnahme, da sie bereits am 13. VIII. tot waren. Die Dijodtyramintiere sind im Wachstum zurückgeblieben, die Glieder sind sehr zart. 2. Tyramin + KJ. Vom Parallelversuch mit Tyramin + Kaliumjodid ist nur 1 Tier am Leben geblieben. 2 andere Tiere sind ohne Metamorphose vorher eingegangen. Der Versuch wurde am 29. VII. 18 begonnen. Die Tiere erhielten 0,02 g Tyramin-HCl + 1,5 ccm einer 1%igen Jodkaliumlösung, enthaltend 11,2 mg Jod. 3. Kontrolltiere.

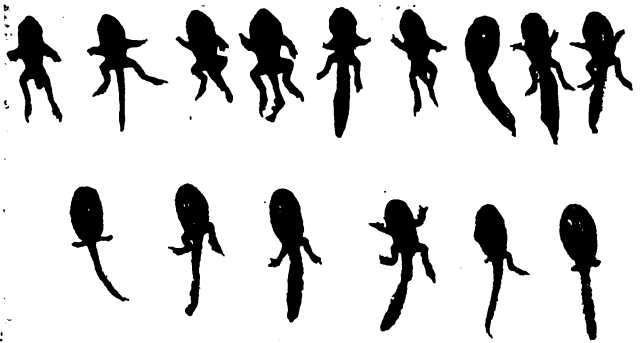


Fig. 5. Obere Reihe: mit Tyramin-HCl behandelte Tiere (Versuche 76 bis 77). Untere Reihe: Kontrolltiere (Versuch Nr. 78).

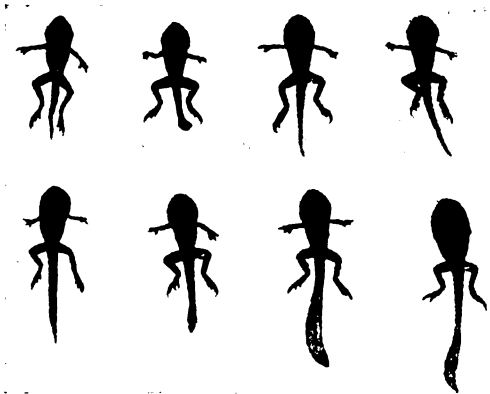


Fig. 6. Mit Tyramin-HCl behandelte Tiere (Versuch Nr. 54).

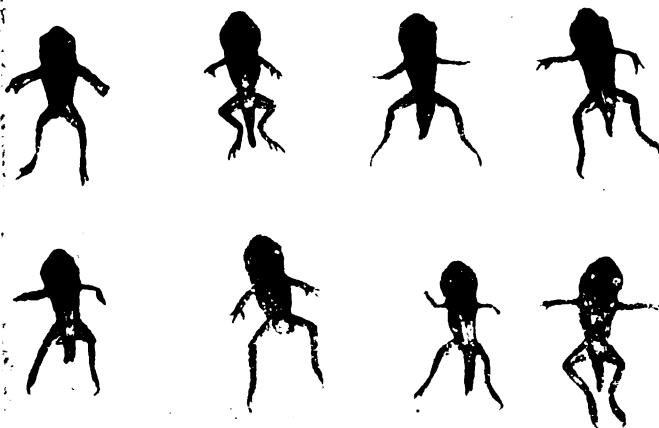


Fig. 7. Behandelt mit Tyramin-HCl (Versuch Nr. 56).

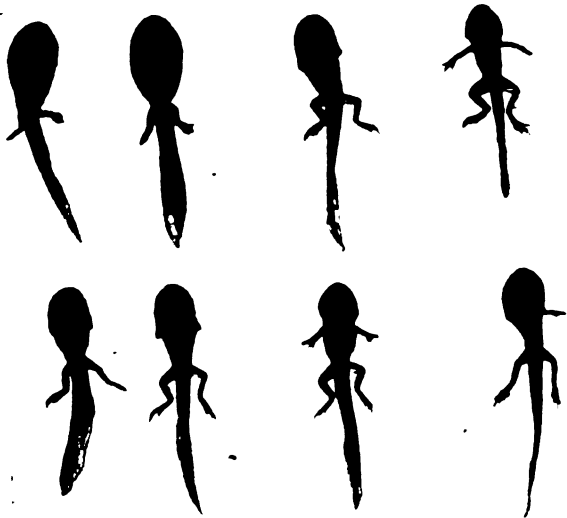


Fig. 8. Kontrolltiere (Versuch Nr. 56).

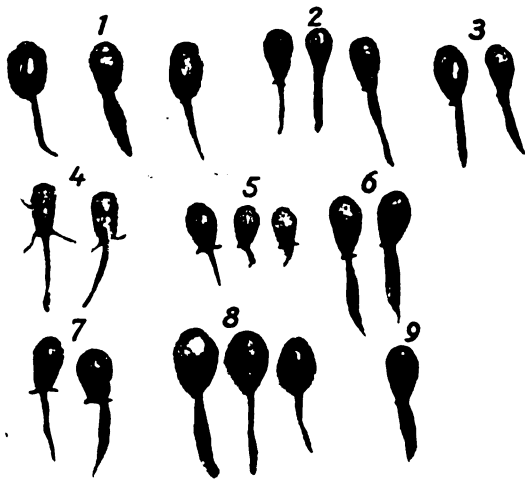


Fig. 9. Erklärung s. Seite 80.

# Beiträge zur Chemie der Eiweißkörper.

Von

**E. Herzfeld und R. Klinger.**

(Aus dem chemischen Laboratorium der Med. Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 6. November 1919.)

## A. Reindarstellung von Eiweißkörpern.

Die nach den üblichen Methoden aus pflanzlichem oder tierischem Ausgangsmaterial dargestellten „reinen“ Eiweißkörper können nicht als einheitliche Individuen angesehen werden, weil auf diese Weise eine große Menge anderer Stoffe (Eiweißabbauprodukte, Fette, Lipoide, gewisse Kohlenhydrate und Salze) am Eiweiß haften bleiben. Sowohl das Aussalzen wie die Fällungsmethoden mit Säuren führen zu Produkten, die trotz wiederholten Umfällungen und eventuell folgender Dialyse nicht frei von diesen Verunreinigungen sein können. Für die Darstellung wirklich reiner Körper, wie sie namentlich für genaue Analysen zu verlangen wären, muß daher nach solchen Methoden gesucht werden, denen diese Übelstände nicht anhaften.

Ausgehend von den Überlegungen, die wir in früheren Mitteilungen erörtert haben (Trennung kolloider Bestandteile von ihren Lösungsvermittlern) mußten wir erwarten, daß wir mit Hilfe von 90% Alkohol in der Hitze die Eiweißkörper koagulieren und zugleich von allen diesen teils wasser-, teils alkohollöslichen Verunreinigungen befreien könnten. Wir gelangten dadurch zu folgender Darstellungsweise, die sich allgemein für die Gewinnung völlig reiner Eiweißkörper empfehlen dürfte.

**Ausgangsmaterial:** Bei Darstellung von Organeiß usw.



muß beachtet werden, daß (namentlich im tierischen Organismus) zwischen den Organzellen Gerüstsubstanzen aus organfremden Eiweiß sich vorfinden können. Will man das für das betreffende Organ charakteristische Eiweiß möglichst rein erhalten, so muß das Ausgangsmaterial nach Möglichkeit von diesen Gerüstsubstanzen befreit werden. Bei tierischen Organen kann dies am ehesten in der Weise geschehen, daß das Organ (nach Auswaschen des Blutes und Entfernung fremder Gewebe) in der Hackmaschine zerkleinert und aus dem erhaltenen Brei eventuell unter Zugabe einer gemessenen Menge physiologischer Kochsalzlösung ein Preßsaft gewonnen wird. Durch scharfes Zentrifugieren dieses Saftes können die bloß suspendierten, gröberen Eiweißpartikelchen abgetrennt und eine Lösung der kolloid verteilten Bestandteile gewonnen werden, die im wesentlichen das Eiweiß des Protoplasmas der Organzellen enthält. Wird dagegen in der noch jetzt vielfach üblichen Weise verfahren, daß das fein zerteilte Organ einfach in Wasser wiederholt ausgekocht wird, so geht ein großer Teil des vorher kolloid gelösten Eiweißes in die wäßrigen Extrakte über und es bleibt für die weitere Verarbeitung hauptsächlich das Gerüsteiweiß des betreffenden Gewebes; wird vor dem Kochen durch Zusatz von Säure etwas überneutralisiert, so bekommen wir zwar einen geringeren Eiweißverlust, immerhin aber das Gerüst- und Zelleiweiß nebeneinander, somit ein wesentlich weniger reines Material.

Aus dem Preßsaft wird das darin enthaltene Eiweiß nun folgendermaßen von allen Beimengungen befreit dargestellt: Man versetzt den Saft mit dem 5- bis 6 fachen Volumen Alkohol in der Weise, daß man schließlich eine Konzentration von 90<sup>o</sup>/<sub>o</sub> Alkohol erhält. Es wird somit zuerst absoluter Alkohol, später 90<sup>o</sup>/<sub>o</sub>iger Alkohol zugesetzt, und zwar die ersten Alkoholportionen allmählich unter fortwährendem Umrühren des Saftes, um eine möglichst langsame und daher feinkörnige Fällung zu erzielen. Ist diese eingetreten, so kann der übrige Alkohol schnell unter Umrühren zugesetzt werden. Hierauf wird auf dem Wasserbade eine halbe Stunde unter lebhaftem Sieden erhitzt und dann heiß filtriert oder zentrifugiert. Letzteres Verfahren ist im allgemeinen und namentlich dann vorzuziehen, wenn nur relativ wenig Material vorhanden ist, weil sonst am Filter leicht ein Teil des Niederschlages verloren geht oder bei möglichst voll-

ständigem Abschaben Cellulosefasern als neuerliche Verunreinigung mitgenommen werden. Das Filter wird hierauf mit 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Alkohol nachgewaschen resp. der Zentrifugenbodensatz mit 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Alkohol aufgewirbelt und noch einmal zentrifugiert, hierauf wird der Rückstand wiederholt mit kochendem absoluten Alkohol digeriert, jeweils wieder filtriert resp. zentrifugiert und dann noch mit siedendem Äther behandelt. Letzterer entfernt aus fett- und lipoidreichem Ausgangsmaterial die letzten Reste dieser Verunreinigungen. Nach dem Abfiltrieren und Verdampfen des Äthers wird ein sehr feines, trockenes Eiweißpulver erhalten.

Dieses Pulver enthält noch die mit Alkohol fällbaren Polypeptide (Albumosen und Peptone), also die höheren Abbauprodukte mit eventuell daran gebundenen Salzen. Um auch diese zu entfernen ist es zweckmäßig, den zuletzt erhaltenen, noch alkoholfuchten Rückstand wiederholt mit nicht zu kleinen Mengen Wasser auszukochen und durch Zentrifugieren wiederzugewinnen, bis das Kochwasser keine mit Ninhydrin reagierenden Stoffe mehr enthält. Ist die Aufschwemmung, wie es nicht selten vorkommt, deutlich alkalisch, so entsteht beim Kochen leicht eine gelatinöse Masse. Um dies zu vermeiden, muß etwas verdünnte Essigsäure zugesetzt werden, bis die Reaktion nur noch schwach (bicarbonat-) alkalisch ist.

Was die anorganischen Bestandteile anbelangt (spez. Kalksalze und ähnl.), so verlangt ihre Entfernung meist eine besondere Modifikation des angegebenen Verfahrens. Über diesbezügliche Methoden werden wir in einer weiteren Mitteilung berichten.

Es sei noch betont, daß die auf diese Weise gewonnenen Eiweißkörper zwar von allen nicht eiweißartigen Bestandteilen gereinigt sind, aber noch immer Gemische verschiedener Eiweißkörper vorstellen [z. B. die Eiweißkörper der Zellkerne (Nucleoproteine) neben denjenigen des Protoplasmas (Globuline, Albumine usw.) enthalten]. Eine Isolierung dieser einzelnen Komponenten vor der Alkoholbehandlung ist gegenwärtig noch nicht in befriedigender Weise möglich. Es dürfte sich daher empfehlen, solche Präparate nicht als „Organ-Eiweiß“ zu bezeichnen (z. B. „Leber-Eiweiß“, „Schilddrüsen-eiweiß“ usw.), worunter chemisch ganz einheitliche Stoffe zu verstehen wären, sondern lieber den Ausdruck „Reines Eiweiß aus Organen“ (Eiweiß aus Leber, aus Schilddrüse usw.) zu wählen.

Es dürfte überflüssig sein, darauf hinzuweisen, daß derartige Eiweißpulver natürlich ganz wasserunlöslich sind, da den

Oberflächen dieser Eiweißteilchen alle Lösungsvermittler fehlen. Es kann daher, auch wenn die Pulver noch so fein zerrieben werden, keine kolloide Lösung erhalten werden. Solche Präparate haben in erster Linie den Zweck, zu chemischen Analysen der Eiweißkörper (Gehalt an verschiedenen Bausteinen, Salzgehalt, Einbau von Jod, Brom usw.) zu dienen. Will man aus ihnen wieder Eiweißlösungen herstellen, so muß durch Digerieren mit Alkali oder Säure eine teilweise Aufspaltung des Eiweißes vorhergehen.

### **B. Über den Nachweis und die Bestimmung höherer (alkoholfällbarer) Polypeptide in Eiweißlösungen.**

Nach der seit mehreren Jahren von uns vertretenen Auffassung besteht jede kolloide Eiweißlösung nicht nur aus den eigentlichen und an sich wasserunlöslichen Eiweißteilchen, sondern enthält stets noch eine gewisse Menge höherer und tieferer wasserlöslicher Spaltprodukte, die als Lösungsvermittler für die kolloide Verteilung der Eiweißpartikelchen dienen. Während der Nachweis der niedersten unter diesen Spaltstücken, der Aminosäuren, schon seit lange geglückt ist und auch Methoden für die quantitative Bestimmung dieser Aminosäuregemische sich eingebürgert haben, fehlte bisher eine Methode, die das gleiche auch für die höheren Polypeptide ermöglicht hätte. Es wurde sogar vielfach angenommen, daß höhere Polypeptide (wir verstehen darunter hier und im folgenden stets die alkoholfällbaren Albumosen und Peptone) in den physiologischen Eiweißlösungen nur spurenweise oder gar nicht vorkommen. Der Grund hierfür liegt in den bisher für den Nachweis dieser Stoffe verwendeten Verfahren. Kochen wir nämlich eine Eiweißlösung bei neutraler Reaktion, so koagulieren die Eiweißteilchen, die in heißem Wasser löslichen höheren Polypeptide werden aber gleichzeitig mit den anderen tieferen Spaltprodukten von den Oberflächen abgelöst und durch die intensive hydrolytische Wirkung, die das siedende Wasser unter diesen Bedingungen entfalten kann, weitgehend aufgespalten; wir finden deshalb im Filtrat nur niedere Peptide und Aminosäuren.

Nur eine Methode, die diese hydrolytische Aufspaltung vermeidet, kann deshalb für die uns interessierende Frage herangezogen werden. Hierzu schien uns die Alkoholfällung am

geeignetsten, wobei die betreffenden Eiweißlösungen mit dem Vielfachen an 90%igem Alkohol versetzt und einige Zeit zum Sieden erhitzt werden. Der heiße, schwach wasserhaltige Alkohol löst unter diesen Umständen die niederen Peptide und Aminosäuren ab, ebenso den größten Teil der Fette und Lipoiden, sowie die wasserlöslichen Kohlenhydrate (Zuckerarten) und viele Salze. Dagegen fallen die alkoholunlöslichen höheren Polypeptide mit dem Eiweiß aus. Es handelt sich nun darum, diese letzteren vom eigentlichen Eiweiß zu trennen und dadurch einer quantitativen Bestimmung zuzuführen. Für diesen Zweck erwies sich das wiederholte gründliche Auskochen des alkoholunlöslichen Teiles mit Wasser als das geeignetste Verfahren. Denn jetzt vermag das kochende Wasser diesen höheren Polypeptiden nur noch wenig anzuhaben, die Aufspaltung derselben ist bei Abwesenheit der niederen Peptide wesentlich eingeschränkt. Die letzteren dienen nämlich (worauf wir in früheren Mitteilungen schon wiederholt hingewiesen haben) den höheren Peptiden ganz allgemein als Lösungsvermittler (wie diese ihrerseits für die kolloide Verteilung der eigentlichen Eiweißteilchen wichtig sind); sie sind es daher, die für die höheren Peptide eine innigere Beziehung zum Wasser herstellen. Haben wir sie durch die vorhergehende Behandlung mit Alkohol entfernt, so besitzen die höheren Polypeptide eine relativ unbedeutende Wasserbindung, sie werden daher (bei neutraler Reaktion) auch vom heißen Wasser nur langsam und schlecht aufgespalten. Die Wasserbindung reicht ja für Albumosen eben aus, um sie im heißen Wasser löslich zu machen. Dieser Umstand kommt uns aber andererseits für ihre Abtrennung vom Koagulum zugute. Das nach solcher Vorbehandlung durch Auskochen erhaltene Waschwasser ist in der Tat, wie sich leicht zeigen läßt, durch einen nicht unbeträchtlichen Gehalt an Albumosen und Peptonen ausgezeichnet (wogegen es unter den unten erwähnten Bedingungen frei von Eiweiß ist). Mit Sulfosalicylsäure und etwas Essigsäure versetzt, tritt eine Trübung oder Fällung ein, die beim Erhitzen wieder verschwindet. Die Biuretreaktion ist deutlich positiv. Wird so lange mit Wasser kurz aufgeköcht bis das Filtrat keine mit Ninhydrin reagierenden Stoffe mehr enthält und werden die einzelnen Filtrate vereinigt, so ermöglicht uns die Stickstoffbestimmung in denselben, die in den betreffenden Eiweißlösungen vorhandenen höheren Poly-

peptide mit einer ziemlich weit gehenden Genauigkeit zu bestimmen.

Bei manchen eiweißhaltigen Flüssigkeiten wird auf die eben beschriebene Weise sofort ein eiweißfreier Wasserextrakt erhalten. In der Regel geht aber in das Kochwasser eine mehr oder weniger große Menge von Eiweiß mit in Lösung, die um so beträchtlicher zu sein pflegt, je ausgesprochener alkalisch die Eiweißaufschwemmung reagiert. Wird z. B. Rinderserum oder Hühnereiweiß nach der Alkoholbehandlung in Wasser gekocht, so quillt es infolge der deutlich alkalischen Reaktion auf und das Filtrat enthält relativ große Mengen von Eiweiß. Es ist deshalb notwendig, bei quantitativen Untersuchungen das Filtrat stets auf ev. Eiweißgehalt zu kontrollieren (durch Erhitzen und Zusatz von etwas Essigsäure). Ergibt sich eine Trübung durch Eiweiß, so werden die vereinigten Filtrate nochmals erhitzt, mit Essigsäure bis zu eintretender Ausflockung versetzt und neuerlich (unter Vermeidung jeglichen Verlustes) filtriert.

Wir geben im folgenden eine eingehendere Beschreibung dieser Methode, wie sie sich nach längeren Versuchen als am besten geeignet erwiesen hat.

Eine genau gemessene Menge der zu prüfenden Eiweißlösung (meist haben wir z. B. vom Serum 1,0 ccm verwendet) wird mit dem ca. 20 fachen Volumen 90% igen Alkohols in der Weise versetzt, daß der Alkohol zuerst unter fortwährendem Umschütteln langsam und tropfenweise, nach Eintritt der Fällung (2- bis 3 faches Volumen) schnell zufließen gelassen wird (am besten geschieht dies in einem weiten Reagensglas). Hierauf wird im kochenden Wasserbad so lange erhitzt, bis der Alkohol zu deutlichem Sieden gebracht ist und dieser Zustand  $\frac{1}{2}$  bis 1 Minute unterhalten. Man filtriert hierauf heiß durch ein kleines Papierfilter; im Röhrechen werden mit Hilfe eines Glasstabes (mit Gummiende) unter Zusatz von kleinen Alkoholportionen (bis zu etwa 15 ccm) die anhaftenden Eiweißteilchen losgelöst und heiß auf das Filter gewaschen. Das Filtrat kann für die Bestimmung der niederen Peptide und Aminosäuren (nach der von E. Herzfeld angegebenen Ninhydrinmethode oder nach Kjeldahl) verwendet werden. Nach dem Abtropfen des Alkohols wird das Filter zusammengefaltet und mit sauberem Finger durch leichtes Pressen an die Glaswand des Trichters von den noch capillar festgehaltenen Alkoholresten nach Möglichkeit befreit. Das ganze Filter wird hierauf in eine Porzellanschale gebracht, mit ca. 15 ccm Wasser auf einem Asbestdrahtnetz nicht zu schnell zum Sieden erhitzt. Die Flamme darf hierbei nicht zu hoch sein, nur ihre Spitze soll das Drahtnetz berühren. Man sorgt mit einem Glasstab dafür, daß das Wasser mit dem Koagulum gut

in Berührung kommt, trachtet aber beim ersten Kochen die Hauptmenge der bröckeligen Eiweißmasse noch im Filter zurückzubehalten. Nachdem durch einige Minuten lebhaftes Kochen stattgefunden hat, wird heiß auf ein angefeuchtetes Papierfilter gegossen. Dieses Auskochen des Koagulums wird noch zweimal wiederholt (mit je ca. 12 ccm Wasser). Ist die Hauptmasse des Kochwassers durch das Filter geflossen (was je nach der Feinheit, mit der sich das Eiweiß beim Kochen emulgiert, verschieden lange dauert), so wird das Filter vorsichtig vom Trichter genommen und mit seinem ganzen Inhalt in die Porzellanschale zurückgebracht. Hier wird es unter Wasserzusatz noch zweimal gekocht (zusammen mit dem ersten Filter) und dieses Kochwasser durch ein zweites Filter in denselben Glaskolben filtriert. Ein sechstes Waschwasser pflegt in der Regel nur noch Spuren von mit Ninhydrin reagierenden Stoffen zu enthalten. Die Polypeptide sind jetzt quantitativ abgelöst und können in dem Filtrat nach Kjeldahl bestimmt werden, vorausgesetzt, daß die Eiweißprobe negativ ausfällt. Ist letzteres nicht der Fall, so muß das Filtrat, wie schon erwähnt, noch einmal zum Kochen erhitzt und tropfenweise mit  $\frac{1}{2}\%$  Essigsäure so lange versetzt werden, bis eine flockige Fällung eingetreten ist. Nunmehr ist alles Eiweiß ausgefallen, die hier von nochmaliges Filtrieren getrennte Lösung darf, mit Sulfosalicylsäure erhitzt, keine Flockung mehr geben.

Anfangs haben wir die quantitative Bestimmung der Polypeptide gleichfalls nach der Ninhydrinmethode ausgeführt, wobei uns eine Wittepeptonlösung von bekanntem Gehalt zum Vergleich diente. Es zeigte sich aber, daß die Polypeptide je nach ihrer Herkunft sich beim Auskochen verschieden stark aufspalten. Die Anzahl der schließlich vorhandenen  $-\text{NH}_2\text{-COOH}$ -Gruppen geht daher der Menge der anwesenden Polypeptide nicht streng parallel, weshalb wir später nur noch die N-Bestimmung gemacht haben. Will man sich aber über den Gehalt an Aminogruppen orientieren, so werden am besten beide Methoden nebeneinander ausgeführt.

Mit dieser Methode haben wir bereits eine große Anzahl von Versuchen ausgeführt, über deren Ergebnisse in späteren Mitteilungen berichtet werden wird<sup>1)</sup>. Wir möchten nur erwähnen, daß sich in allen kolloiden Eiweißlösungen derartige Albumosen in relativ beträchtlicher Menge nachweisen ließen. So finden sich im gewöhnlichen Blutserum im Kubikzentimeter höhere Polypeptide durchschnittlich in einer Menge, die im Kjeldahl-Versuch einem Verbrauch von 3 bis 4 ccm  $\frac{1}{100}\text{-H}_2\text{SO}_4$  entspricht. Daraus ergibt sich auf 100 ccm Serum umgerechnet ein Gehalt an Polypeptid-N von 0,05<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Wenn

---

<sup>1)</sup> Wir verweisen speziell auf eine im Druck befindliche Arbeit von J. Knüsel, Diss. Zürich, 1920.

wir eine 0,4% ige Witte-Peptonlösung in gleicher Weise verarbeiten, so finden sich darin ebenfalls 0,048 g Polypeptid-N in 100 ccm. Wir sehen somit, daß das menschliche Serum bei einem mittleren Gehalt von 8% Eiweiß so viel Albumosen und peptonartige Polypeptide enthält, als einem Gehalt von 0,4 g Witte-Pepton auf 100 ccm Serum entsprechen würde. Ähnliche Werte ergaben sich auch für die Sera verschiedener Tiere, wogegen für Kuhmilch, Hühner-eiweiß usw. etwas höhere Werte gefunden wurden.

Wir möchten hier ferner noch erwähnen, daß es auf die angegebene Weise gelingt, Albumosenpräparate herzustellen, die im Gegensatz zu den bisherigen noch artspezifischen Charakter haben, so daß sie, wie wir in einer folgenden Mitteilung zeigen werden, sich in ihren serologischen Eigenschaften (als Antigene) noch ähnlich wie die eigentlichen Eiweißkörper verhalten.

Für die Darstellung solcher Präparate in einigermaßen größerer Menge fällt man ein entsprechend größeres Quantum des betreffenden Eiweißes mit Alkohol, kocht mehrmals mit reinem Alkohol, schließlich mit Äther aus, worauf mit einer größeren Menge Wasser 2 bis 3 mal ausgekocht wird; hierbei wird so viel Essigsäure zugesetzt, daß die Reaktion annähernd gegen Lackmus neutral bleibt (eher etwas gegen die alkalische Seite verschoben). Hierauf wird filtriert und die meist noch eiweißhaltige Lösung im kochenden Zustand mit 2% Essigsäure tropfenweise versetzt, bis das Eiweiß flockig ausfällt. Das neuerliche Filtrat wird auf dem Wasserbade bis zu größerer Konzentration eingedickt; hierbei treten häufig geringe, flockige Trübungen auf, von denen nochmals abfiltriert wird. Die Polypeptide lassen sich auch durch völliges Eindampfen der Lösung im festen Zustand gewinnen, was allerdings nicht ohne gewisse Veränderungen ihrer Löslichkeit und damit zusammenhängend ihrer biologischen Eigenschaften geschieht, worauf wir in einer folgenden Mitteilung näher eingehen werden.

Überblickt man die Methoden, die bisher zur Reindarstellung der Eiweißkörper und der höheren Polypeptide verwendet wurden, so muß man dieselben fast durchgehend als unzulänglich bezeichnen. Die Verfahren waren weder schonend genug, um stärkere Hydrolysen zu vermeiden, noch führten sie zu wirklich reinen Präparaten. Bei den groben Fällungsmethoden werden vom Koagulum fast stets Lipide usw. eingeschlossen, die später nur schwer entfernt werden können. Auf eine exakte Trennung

der Eiweißabbauprodukte (und damit eines guten Teiles der Salze) wurde in der Regel nicht geachtet usw. Obwohl die Verwendung von Alkohol zur Eiweißfällung schon lange bekannt war, so wurde dieselbe doch kaum für die Isolierung derselben (noch diejenige der Polypeptide) in konsequenter Weise herangezogen. Wir möchten deshalb hier der Erwartung Ausdruck geben, daß die im Vorhergehenden beschriebene Methode für die Reindarstellung dieser Körpergruppen und damit für die ganze Eiweißchemie einen nicht unwesentlichen Fortschritt bringen dürfte.

---



# Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Gerinnungsvorgänge der Milch.

Von  
Erich Aschenheim und Georg Stern.

(Aus der akademischen Kinderklinik in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 6. November 1919.)

Es ist sowohl bei einem großen Teil der Bevölkerung wie in vielen Kinderkliniken und Säuglingsheimen üblich, den gebräuchlichen Milch-Zuckerwassermischungen ein zweites Kohlenhydrat in Form von Schleim- und Mehlabkochungen zuzusetzen. Dabei ist, wie kürzlich noch u. a. Langstein betonte, die Wirkungsweise der Polysaccharide durchaus noch nicht völlig geklärt, trotzdem mannigfaltige Untersuchungen zur Klärung dieser Frage angestellt worden sind (Klotz, Bratke, Noeggerath, Smeliansky, Silberschmid, Sidler, Bardach u. a.).

Bei der Bedeutung, die auch auf diesem Gebiete der kolloidchemischen Betrachtungsweise zukommt, erschienen uns die hierauf bezüglichen Untersuchungen und Gedankengänge Smelianskys und Noeggeraths von besonderem Interesse und erneuter Nachprüfung mit erweiterter Methode bedürftig. Wir sind uns dabei vollkommen klar, daß — zunächst ganz allgemein — bei dem Einfluß der Kohlenhydrate auf die Zusammensetzung der künstlichen Nahrungsmische sehr komplizierte Vorgänge vorliegen, und daß alle Laboratoriumsversuche nur immer einen Zipfel des Schleiers lüften können. Immerhin erschien uns als Gegengewicht gegen die chemische bzw. bakteriologische Betrachtungsweise Untersuchungen kolloidchemischer Art berechtigt.

Von diesbezüglichen Arbeiten sind eigentlich nur die von Smeliansky und Noeggerath zu erwähnen.

Smeliansky fand im Verlaufe sehr ausgedehnter Untersuchungen, daß Schleimzusätze der bei Wasserverdünnung der Milch entstehenden Verzögerung der Gerinnung entgegenwirkten.

Die Beschaffenheit des Labgerinnsels wird durch Schleimzusätze feinflockiger und weicher. Von den vier geprüften Schleimsorten (Reis, Hafer, Gerste, Weizen) hat in bezug auf Veränderung der Konsistenz des Gerinnsels der rohen Milch der Gerstenschleim, in bezug auf Verkürzung der Gerinnungszeit der Reisschleim die besten Resultate ergeben.

Die Versuche mit verschiedenen Zuckerarten: Milchzucker, Traubenzucker, Rohrzucker und Mannit haben keine Beeinflussung der Gerinnung gezeigt<sup>1)</sup>.

Noeggerath richtete sein Augenmerk vor allem auf den zeitlichen Ablauf der Labgerinnung. Kurz zusammengefaßt fand er, daß Schleimzusätze — im allgemeinen — gerinnungsfördernd, Zuckerzusätze, besonders in höheren Prozentsätzen, eher gerinnungshemmend wirkten. Eine Ausnahme von letzterem macht Soxhlets Nährzucker.

Bezüglich der Konsistenzverschiedenheit des ausfallenden Käses gibt er folgendes an: „Verdünnen und Erhitzen lassen feinflockige Kuchen entstehen, im Gegensatz hierzu ist der Magermilchkäse fest. Die Schleimzusätze lassen die Gerinnsel noch weicher erscheinen, während die Zuckerarten — mit Ausnahme des etwas verhärtenden Soxhletschen Nährzuckers — ohne sichtlichen Einfluß waren.“

In Anlehnung an die Noeggerathschen Untersuchungen haben wir uns zunächst die Aufgabe gestellt, festzustellen, ob ultramikroskopisch sich Differenzen im Gerinnungsvorgange der verschiedenen Milchemischungen feststellen lassen. Die ultramikroskopische Untersuchung hat, abgesehen von allen anderen Vorteilen, den großen Vorzug, daß die Bilder durch den Gegensatz von weiß auf schwarz eine außerordentliche Prägnanz der Untersuchung gestatten. Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen wurde dann der Beschaffenheit des Gerinnsels besondere Beachtung geschenkt, da sich eine gute Analogie zwischen den ultramikroskopischen, relativ langwierigen Beobachtungen und den jedermann sichtbaren makroskopischen Gerinnungsvorgängen ergab. Auch die gewonnenen Molken wurden in den Kreis unserer Betrachtung gezogen und hinsichtlich ihrer Oberflächenspannung stalagmometrisch untersucht.

---

<sup>1)</sup> Zum Teil wörtlich zitiert.

Untersuchungen mit dem Ultrafiltrationsapparat mußten aus äußeren Gründen unterbleiben, wie denn unsere Untersuchungen überhaupt infolge der Ungunst der Verhältnisse (Gasmangel usw.) nicht ganz in der geplanten Weise durchgeführt werden konnten. Immerhin erscheinen uns unsere bisher gefundenen Resultate der Veröffentlichung wert.

Unsere Versuchstechnik war die folgende, wobei wir bei den ultramikroskopischen Untersuchungen im ganzen den Vorschriften von Kreidl und Neumann folgten.

In einer ersten Versuchsreihe wurden Milchwischungen mit Wasser, Haferschleim- und Hafermehlabkochungen in den gebräuchlichen Mengenverhältnissen, aber ohne Zuckerzusatz in der Milchküche der Kinderklinik hergestellt und 5 Minuten sterilisiert. Je 10 ccm einer solchen Mischung wurden in einem Reagensglase mit 0,05 ccm Simons Labessenz und 0,05 ccm  $\frac{1}{10}$ -Salzsäure versetzt und kurz umgeschüttelt. Wir wendeten die Salzsäure an, um die im Magen herrschenden Verhältnisse in unserem Reagensglasversuchen möglichst nachzuahmen. Die Mischungen wurden sodann in den Brutofen gestellt, und der Verlauf der Gerinnung unter dem Ultramikroskop verfolgt. Nach Abschluß der Gerinnung wurde die Gesamtmasse 10 Minuten in der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Danach wurde die Menge des entstandenen Gerinnsels festgestellt und seine Konsistenz durch Ausstreichen auf eine schwarze Glasplatte bestimmt. In allen Fällen wurde auch die Gerinnungszeit festgestellt, doch möchten wir auf dieselbe weniger Wert legen, da wir, wohl infolge äußerer Verhältnisse, in einigen Fällen abnorme Abweichungen erhielten.

In einer zweiten Versuchsreihe, die technisch sich analog gestaltete, wurde der Einfluß von Zuckerzusätzen in verschiedenen Prozenten zu den oben erwähnten Mischungen untersucht. Es wurden von Zuckern geprüft: Soxhlets Nährzucker, Rohrzucker und Milchzucker. In einzelnen Fällen wurden zu Vergleichszwecken Gerinnungsversuche mit Frauenmilch gemacht, die übrigens sowohl ultramikroskopisch wie makroskopisch nichts Neues ergaben. In weiteren Versuchen wurden aus größeren Mengen derselben Mischungen durch einfache Filtration die entsprechenden Molken gewonnen und ihre Oberflächenspannung mit dem Stalagmometer von Prof. J. Traube, Nr. 2, Tropfenzahl 55,3 bei 20° gemessen. Die Molken wurden stets sofort nach der Gerinnung untersucht, da nach Burri und Nußbaumer sich die Oberflächenspannung der Milch bei längerem Stehen verändern soll<sup>1)</sup>.

---

<sup>1)</sup> Wegen des Prinzips der Stalagmometrie sei auf Bechhold, die Kolloide in der Medizin und Biologie, und Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden verwiesen.

**A. Untersuchungen der Milchwasser-, Milchhafererschleim- und Milchhafermehlmischungen bei steigender Konzentration der Milch<sup>1)</sup>.**

Tabelle I.

Versuch vom 7. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit 3% Hafererschleim + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 2 $\frac{1}{2}$ % Mehl + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 10 Min. mittlere und kleine Fetttropfen und kleine Teilchen ungeordnet durcheinanderliegend.	Nach 10 Min. dichte gequollene Masse (Koagulation), in der noch Fetttropfchen deutlich sichtbar sind.	Nach 10 Min. Flocken von weißen Massen, die bedeckt sind von Fetttropfen und zwischen denen sich Fetttropfen befinden.
Nach 40 Min. helle, weiße, homogene Masse (geronnen).	Nach 40 Min. zerfaserte und zerflockte Wölkchen mit ein- und aufgelagerten Fetttropfchen. Bild der Gerinnung.	Nach 40 Min. zerklumpte, zerfaserte u. geflockte weißgraue Grüppchen mit eingelagerten Fetttropfen. Bild der Gerinnung.
Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven Zentrifugierung:		
etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm, sehr konsistent, nicht ausschüttelbar.	ca. 2 ccm weiche Gallerte.	ca. 1 $\frac{3}{4}$ ccm zähe Gallerte, bedeutend gröber als II.

Versuch vom 3. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit 3% Hafererschleim + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit 2 $\frac{1}{2}$ % Hafermehl + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 2 $\frac{1}{2}$ Min. zahlreiche mittlere und feinste Fetttropfchen u. Teile.	Nach 2 $\frac{1}{2}$ Min. zusammenfließende mittlere und kleine Fetttropfchen und Schleimmassen.	Nach 2 $\frac{1}{2}$ Min. sehr eng zusammenliegende mittlere und feine Fetttropfchen.

<sup>1)</sup> Mit Rücksicht auf die Papierknappheit werden von jedem Mischungsverhältnis nur 1 bis 2 typische Versuche angeführt, da Abweichungen bei demselben Mischungsverhältnis und derselben Konzentration bei zahlreichen Versuchen nicht vorhanden waren.

Tabelle I (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 16 Min. sehr viele mittlere kleine und eng zusammen- liegende Fetttropfen.	Nach 16 Min. Massen von Wölkchen in und zwischen denen Fett- tröpfchen sichtbar sind.	Nach 16 Min. zerfaserte dichte Wol- ken, in denen Fett- tröpfchen liegen. Bild der Gerinnung.
Nach 120 Min. wie vorher; nur sind dazu noch einzelne Klumpen zusammenge- ballt. Fetttropfen sicht- bar.	Nach 120 Min. Massen von dichten, am Rande gefaserten Wölk- chen, in denen u. zwischen denen noch Fetttropfen sichtbar sind.	Nach 120 Min. Massen von noch weit dichteren Wolken, am Rande zerflokt, in denen und zwischen denen Fetttropfen sichtbar sind.
Nach 5 $\frac{1}{2}$ Std. massenhafte kleinflock. gerinnseartige Gebilde mit kleinen Fetttropf- chen.	Nach 5 $\frac{1}{2}$ Std. dichte Wölkchen, am Rande zerfasert, mit Fetttropfen.	Nach 5 $\frac{1}{2}$ Std. sehr dichte Wolken am Rande zerflokt; im übrigen nur wenige Fett- tröpfchen und kleine Teile.

Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven Zentrifugierung:

- I. und III. an Quantität gleich, II. unwesentlich mehr. III. gröber als II.  
II. fein verstreichbar.

## Versuch vom 1. VII. 19.

	I.	II.	III.
	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser +0,05 Simons Lab +0,05 $\frac{2}{10}$ -Salz- säure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit 3% Haferschleim +0,05 Simons Lab +0,05 $\frac{2}{10}$ -Salz- säure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit 2 $\frac{1}{2}$ % Hafermehl +0,05 Simons Lab +0,05 $\frac{2}{10}$ -Salz- säure.
Nach 10 Min. sehr große Fett- tropfen, sehr zahl- reich u. beweglich.	Nach 10 Min. mittelgroße Fett- tropfen, sehr zahlreich.	Nach 10 Min. mittlere u. kleine Fetttropfen.	Nach 10 Min. Fetttropfen in ko- gulierte schleimig detritusartige Massen eingebettet
Nach 23 Min. massenhaft sehr große und mittel- große Fetttropfen in lebhafter Be- wegung.	Nach 23 Min. mittl. Fetttropf. in schleimigem Medium v. träger Beweglichkeit.	Nach 23 Min. Fetttropfen in allen Größen.	Nach 23 Min. sehr eng zusam- menliegende Fett- tröpfchenmassen.
Nach 38 Min. zahlr. Fetttropfen aller Größen und in lebhafter Be- wegung.	Nach 38 Min. wie vorher.	Nach 38 Min. sehr gleichmäßig, dicht und eng an- einanderliegende feine Fetttropfch.	Nach 38 Min. sehr viele dicht und eng aneinander- liegende etwas größere Fetttropf- chen (sehr ähnlich II.).

Tabelle I (Fortsetzung).

	I.	II.	III.
Nach 58 Min. sehr fein verteilte, fast homogene Masse. Einzelheiten nicht sichtbar.	Nach 58 Min. ganz homogene zusammengeballte Masse.	Nach 58 Min. zahlreiche eng und fein aneinanderliegende Fetttropfchenmassen.	Nach 58 Min. sehr viele eng und dicht aneinanderliegende Fetttropfchenklumpen, in denen Einzelheiten nicht erkennbar sind.
Nach 180 Min. ziemlich homogene Masse aus ganz feinen Teilchen bestehend.	Nach 180 Min. festzusammengeballte Massen, ohne erkennbare Einzelheiten.	Nach 180 Min. zusammengeballte unregelmäßige Masse, zum Teil zerflokt.	Nach 180 Min. sehr viele eng zusammenliegende Fetttropfchen von fein zerfloctem Aussehen.
Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven Zentrifugierung:			
ganz feines weich. Gerinnsel.	ca. 1 $\frac{1}{2}$ cm ziemlich konsistent.	ca. 2 $\frac{1}{4}$ ccm gallertartig (fast breiig).	ca. 2 cm weichbreiig.

Die Untersuchungen mit Milchwasser-, Milchhaferschleim- und Milchhafermehlmischungen ergeben also folgendes:

1. Die Milchwassermischung koaguliert, wie dies auch ganz besonders deutlich im ultramikroskopischen Bild ersichtlich ist, kompakter als die Milchhaferschleim- und Milchhafermehlmischung.

2. Im Ultramikroskop sehen wir bei der ersteren eine fest zusammenhängende flächenhafte Masse, während Schleim- und Mehlmischungen mehr aufgelockerte, zum Teil zerfaserte, locker wolkenartige Gebilde bilden. Die Unterschiede zwischen den beiden letzteren prägen sich nicht deutlich aus, doch scheint uns die Haferschleimmischung etwas lockerer zu sein als die Hafermehlabkochung.

3. Dem entspricht, daß die Menge des Zentrifugats der Milchwassermischung stets am geringsten ist, die der Milchschleimmischung am größten.

4. Die Konsistenz der Milchwassermischung ist entsprechend am größten, die der beiden anderen Mischungen bedeutend geringer und ungefähr gleich.

5. Ein Einfluß der stärkeren Konzentration der Mischungen ( $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{2}{3}$  Milch) tritt nicht sehr auffällig in Erscheinung.

6. Die Milchwassermischung gerinnt, wie dies auch Noeggerath gefunden hat, stets bei weitem langsamer als die anderen Mischungen.

**B. Untersuchungen derselben Mischungen unter Zusatz verschiedener Zuckerarten in steigenden Prozenten.**

**I. Nährzucker.**

**Tabelle II.**

Versuch vom 9. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit 3% Haferschleim + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit $2\frac{1}{2}$ % Hafermehl + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 6 Min. zahlreiche mittlere und kleine Fetttropfchen u. kleine Teile.	Nach 6 Min. zahlreiche mittlere und kleine Fetttropfchen. Zusammenfließen von hellen Schleimteilen zu weißen Wölkchen.	Nach 6 Min. zahlreiche Fetttropfchen. Einzelne heller schimmernde massige Gebilde.
Nach 20 Min. dasselbe Bild, nur Fetttropfchen viel enger aneinanderliegend.	Nach 20 Min. weiße Wölkchen, nehmen an Größe zu.	Nach 20 Min. Bild wie vorher.
Nach 65 Min. Fetttropfchen lagern sich z. T. dicht aneinander.	Nach 65 Min. dichte weiße, zerfaserte Wölkchen m. Fetttropfchen-einlagerungen.	Nach 65 Min. kleinere „krümelige“ weiße zerflockte Wölkchen m. Fetttropfchen-einlagerungen.
Nach 95 Min. dasselbe Bild wie vorher.	Nach 95 Min. dichte weiße, zerflockte Wölkchen mit Fetttropfchen.	Nach 95 Min. weiße kleinere „krümelige“ Klümpchenwölkchen mit Fetttropfchen.
Nach 12stündigem Aufenthalt im Autoklaven zentrifugiert:		
etwa $1\frac{1}{2}$ ccm sehr konsistent.	etwa $\frac{3}{4}$ ccm zähbreiig.	etwa $2\frac{1}{4}$ ccm sehr weichbreiig.

Versuch vom 16. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. große mittlere u. kleine Fetttropfchen (auch kleinste Teilchen).	Nach 5 Min. große und mittlere Fetttropfen u. teilweise helle (Schleim-)Massen.	Nach 5 Min. viele große u. mittlere Fetttropfen, sich zusammenballend und helle Mehlmassen.

Tabelle II (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 20 Min. wie vorher, aber zum Teil schon zu kleineren weißen Massen geballte Fetttropfen.	Nach 20 Min. sehr zerflockte weiße umfangreiche Massen, mit zahlreichen Fetttropfen.	Nach 20 Min. sehr gefaserte zerflockte umfangreiche Massen mit zahlreichen Fetttropfen.
Nach 60 Min. zahlreiche weiße Häufchen von zusammengeballt. Fetttropfchen.	Nach 60 Min. weiße zusammengeballte, geflockte und zerfaserte Massen mit mittleren und kleinen Fetttropfen.	Nach 60 Min. zerfaserte zusammengeballte helle Massen mit reichlichen Fetttropfen in allen Größen. Nicht ganz so umfangreich wie II.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren:		
etwa $\frac{1}{2}$ cm sehr konsistent.	etwa $\frac{3}{4}$ cm weichbreiig.	etwa $3\frac{1}{2}$ cm weichbreiig, etwas größer verstreichbar.

Versuch vom 25. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreiche große und mittlere Fetttropfen.	Nach 5 Min. zahlreiche große u. mittlere Fetttropfen, jedoch nicht auf dunklem, sondern auf hell durchscheinendem Schleimuntergrund.	Nach 5 Min. sich zusammenballende Fetttropfen und helle (Mehl?) Massen.
Nach 25 Min. deutliches Zusammenintern der Fetttropfen in Klümpchen. Oszillierende kleine Teilchen.	Nach 25 Min. sehr stark zerflockte grobe weiße Wölkchen. Zahlreiche große und mittlere Fetttropfen und helle Massen.	Nach 25 Min. helle Massen (Mehl), kleine zerflockte grobe Wölkchen, Fetttropfen in allen Größen. Verschwommenes Bild.
Nach 60 Min. in kleinen Klümpchen locker geronnene hellgraue Massen.	Nach 60 Min. Bild wie vorher, nur undeutlicher und verschwommener.	Nach 60 Min. Bild wie vorher, nur noch verschwommener, so daß die Flockung der Wölkchen schwer zu erkennen ist.



Tabelle II (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 120 Min. zu kleinen Bündeln geronnene hellgraue Massen.	Nach 120 Min. grobe weiße Wölkchen, sehr zerflokt, mit undeutlichen Rändern.	Nach 120 Min. sehr verschwommenes Bild von hellen Mehl- massen und zerflochten groben Wölkchen mit Fetttröpfchen- einlagerungen.
Nach 12stündigem etwa $\frac{1}{2}$ ccm konsistent.	Brutschrankaufenthalt und Zentrifugierung: etwa $2\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa $2\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber.

## Versuch vom 11. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 20 Min. Fettropfen in starker Bewegung, sich zusam- menlegend, teilweise schon zusammenliegend.	Nach 20 Min. in Haufen fest aneinander- liegende Fettropfen, am Rande leicht zerfasert.	Nach 20 Min. aneinanderliegende Massen, am Rande zer- fasert m. Fetttröpfchen. Einige kleine Wölkchen.
Nach 30 Min. zusammengesinterte Fettropfen u. Schleim- massen.	Nach 30 Min. dick zusammengesinterte Schleim- und Fettropfen- massen.	Nach 30 Min. fest zusammengesinterte Schleim- u. Fettropfen- massen.
Nach 45 Min. wie vorher.	Nach 45 Min. sehr dick zusamme- gesinterte Massen.	Nach 45 Min. noch festere Zusamme- sinterung, sonst wie vor- her.
Nach 65 Min. dichte homogene ge- ronnene Masse.	Nach 65 Min. sehr dicht, in großen ho- mogenen Massen geronnen.	Nach 65 Min. in dichten Massen ge- ronnen.
Nach 12stündigem Aufenthalt im Brutschrank: etwa $\frac{3}{4}$ ccm sehr konsistent.	etwa $2\frac{1}{4}$ ccm weichbreiig.	etwa 2 ccm weichbreiig, aber gröber verstreichbar.

## Versuch vom 18. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.

Tabelle II (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 8 Min. sehrvielmittlere, kleine und kleinste Teilchen.	Nach 8 Min. viele mittlere und kleine Fettropfen und helle (Schleim?) Massen.	Nach 8 Min. vielfältig zerflockte helle Massen mit reichlichen Fetttröpfcheneinlage- rungen in allen Größen.
Nach 20 Min. weißliche zusammenge- ballte, zerfaserte Klümp- chen mit mittleren und kleinen Fettropfen.	Nach 20 Min. weiße zusammengesinterte zerfaserte Massen mit mittleren und feinen Fett- tropfen.	Nach 20 Min. ganz ausgedehnte, in Klümpchen zusammen- geballte Massen; sehr zerklüftet mit zahlreich. mittleren Fettropfen.
Nach 60 Min. zahlreiche weiße komp- akte Klümpchen mit mittleren und kleinen Fetttröpfchen.	Nach 60 Min. massenhafte geflockte Wölkchen, mit sehr wenigen Fetttröpfchen.	Nach 60 Min. geflockte Wölkchen mit einzelnen Fettropfen, ähnlich II.
Nach 12stündigem etwa $\frac{3}{4}$ ccm sehr konsistent.	Brutschrankaufenthalt und etwa $2\frac{1}{4}$ ccm weichbreiig, fein verstreich- bar.	Zentrifugierung: etwa 2 ccm weichbreiig, gröber ver- streichbar.

Versuch vom 26. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreiche große und kleine Fettropfen, die sich zusammenzulagen beginnen.	Nach 5 Min. sehr eng zusammen- liegende große und mittlere Fettropfen.	Nach 5 Min. dicht zusammenliegende Fettropfen und einzelne helle Massen.
Nach 25 Min. große und kleine Fett- tropfen, die sich zum Teil in Bündeln anein- anderlegen.	Nach 25 Min. in zerklüfteten weißen Wölkchen geronnene ver- schwommene weiße Massen und Fettropfen.	Nach 25 Min. umfangreiche zerklüf- tete u. verschwommene weißliche und helle (Mehl?) Massen u. große Fettropfen.
Nach 60 Min. große und kleine Fett- tropfen, teilweise zu kleinen Bündeln zusam- mengesintert.	Nach 60 Min. zerklüftete weiße Wolken, a. Rande verschwommen. Einzelne große Fett- tropfen.	Nach 60 Min. zerklüftete weiße Wol- ken, am Rande zerflockt, m. einzelnen Fetttropf., ähnlich II.

Tabelle II (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 80 Min. kleine weiße Flöckchen und vereinzelt Fetttropfen.	Nach 80 Min. Bild wie vorher. Ge- ronnene Massen etwas kompakter.	Nach 80 Min. Bild wie vorher. Ge- ronnene Massen etwas kompakter. Ähnlich II.

Nach 12stündigem Aufenthalt im Brutschrank und Zentrifugieren:

etwa 1 cm  
sehr konsistent.

etwa 3 cm  
weichbreiig.

etwa 2 cm  
grobbreiig.

Versuch vom 15. VII. 19.

I.	II.	III.
10 cm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 cm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 cm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 1% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 20 Min. große, mittlere u. kleine Fetttröpfchen, dicht zu- sammenliegend.	Nach 20 Min. zerfaserte durchschei- nende helle dünne Massen m. zahlreichen Fetttropfen.	Nach 20 Min. viele große und mittlere Fettropfen und geringe schleimartige Massen, die sich aneinanderzu- legen beginnen.
Nach 40 Min. große, mittlere u. kleine Fetttröpfchen, die sich zusammenlegen.	Nach 40 Min. dicht gefaserte kompaktere weiße Massen u. Fett- tröpfchen. Dazwischen fließende Schleimmassen mit ganz feinen Teilchen.	Nach 40 Min. helle Schleimmassen, etwas kompakter als vorher und viele Fett- tropfen.
Nach 65 Min. teils schon in zerflochten kleinen weißlich. Wölk- chen, zusammenliegend., teils noch umherschwin- nende Fettkügelchen.	Nach 65 Min. dicke weiße kompakte Massen. Mittlere u. kleine Fettropfen.	Nach 65 Min. kompakte zerfaserte Massen, ähnlich wie bei II.
Nach 85 Min. weiße Wölkchen wie vor- her, aber kompakter.	Nach 85 Min. dicke weiße kompakte Massen.	Nach 85 Min. nicht ganz so kompakt wie II. Mittlere Fett- tropfen.

Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren:

etwa  $1\frac{1}{2}$  cm  
ziemlich konsistent.

etwa 2 cm  
weichbreiig, fein ver-  
streichbar.

etwa  $1\frac{1}{4}$  cm  
weichbreiig, gröber ver-  
streichbar.

Tabelle II (Fortsetzung).  
Versuch vom 21. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreiche kleinere weiße lockere Klümpchen mit Einschluß von zahlreichen mittleren u. feinen Fetttropfen.	Nach 5 Min. einzelne kleine flockige Gerinnsel, zerfasert mit Fetttropfen aller Größen.	Nach 5 Min. einzelne unregelmäßig geformte dicke helle Massen. Strömende schleimige Massen und Fetttropfen.
Nach 20 Min. homogen aussehende weiße Massen. Fetttropfen nicht sichtbar.	Nach 20 Min. sehr viel zusammenhängende, sehr zerfaserte weiße Massen. Keine Fetttropfen.	Nach 20 Min. helle cirruswolkenartig zerflockte Massen. Keine Fetttropfen.
Nach 60 Min. wie vorher.	Nach 60 Min. sehr zerfaserte Massen.	Nach 60 Min. helle dünne Wölkchen.
Nach 12stündigem Stehen im Brutechrank und Zentrifugieren:		
etwa $1\frac{1}{2}$ ccm ziemlich konsistent.	etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, fein verstreichbar.	etwa 2 ccm grob verstreichbar.

Versuch vom 30. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 5% Nährzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. große, mittlere, kleine und kleinste Fetttropfen und oszillierende Teilchen.	Nach 5 Min. mittlere und kleine Fetttropfen, d. sich zusammenlegen u. hell schleimig verschwommenem Untergrund.	Nach 5 Min. mittlere und kleine Fetttropfen auf schleimig verschwommenem Untergrund (ähnlich II).
Nach 20 Min. große und mittlere Fetttropfen, sehr eng zusammenliegend.	Nach 20 Min. zum Teil sehr eng zusammenliegend, z.T. schon zusammengesinterte Fetttropfenmassen auf schleimig verschwommenem Untergrund.	Nach 20 Min. sehr eng zusammenliegende Fetttropfen auf hell verschwommenem Untergrund (ähnlich II).
Nach 60 Min. zusammengeballte Fetttropfenhaufen auf verschwommenem Untergrund.	Nach 60 Min. zerflockte weißgraue Wolken mit einzelnen Fetttropfen und verschwommenen Rändern.	Nach 60 Min. sehr flächenhafte graue Masse (etwas grobkörniger als II) mit einzelnen Fetttropfen.

Tabelle II (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 80 Min. in kleinen Bündeln ge- ronnene Flocken. Um- hertreibende Flöckchen und Fetttropfchen.	Nach 80 Min. massige weißgraue zer- flockte Massen, am Rande undeutlich. Einzelne Fetttropfen.	Nach 80 Min. massenhaft graue, stark zerflockte, undeutlich konturierte Massen mit einzelnen Fetttropfen.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren: etwa 2 ccm weichbreiig.	etwa 2 ccm weichbreiig.	etwa 2 ccm weichbreiig.

## Ergebnis.

1. Unterschiede gegen die zuckerlosen Mischungen treten ultramikroskopisch erst deutlich bei höheren Zuckerprozenten hervor. Bei diesen heben sich die gerinnenden Massen nicht mehr so scharf gegen den schwarzen Untergrund ab, da dieser leicht dunstig grau erscheint. Die Ränder der Koagulationen sind zerfasert.

2. Bei höheren Zuckerprozentzahlen wird die Menge des Zentrifugats bei allen drei untersuchten Mischungen allmählich einander angenähert, doch bleibt auch

3. bei reichlichem Zuckerzusatz die Konsistenzvermehrung der Milchwassermischung deutlich. (Bei geringem Zuckergehalt der Mischung verhält sich Menge und Konsistenz der Milchwassermischung fast ganz wie unter A). Auch hier tritt die Stärke der Mischungsverhältnisse ( $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{2}{3}$  Milch) im Gegensatz zum Einfluß der Zuckerprocente nicht auffällig in Erscheinung. Dies gilt für alle Zuckerarten.

## II. Rohrzucker.

Tabelle III.

Versuch vom 8. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch + 3% Haferschleim + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch + 2 $\frac{1}{2}$ % Hafermehl + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 6 Min. große, mittlere u. kleine Fetttropfchen u. feinste oszillierende Teilchen.	Nach 6 Min. Fetttropfchen und feine faserartige Teilchen (Schleim) in lebhafter Durcheinanderbewegung.	Nach 6 Min. zahlreiche Fetttropfen und Faserteilchen in dichtem Nebeneinander.

Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 23 Min. dasselbe Bild wie vorher, nur Teilchen enger zusammenliegend.	Nach 23 Min. dichtes Aneinanderliegen von Fetttropfchen und Schleimmassen. An einzelnen Stellen Aneinandersintern zu weißen Wölkchen.	Nach 23 Min. zerfaserte dünne weiße Wölkchen, in und zwischen denen Fetttropfchen liegen.
Nach 46 Min. dasselbe Bild wie nach 23 Min.	Nach 46 Min. viele weiße zerfaserte kleine Wölkchen mit Fetttropfen.	Nach 46 Min. ganz grobe zusammenliegende aneinandergelagerte Fettkügelchen und wie Harndetritus aussehende Massen.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank:		
einzelne dicht geballte weiße Flocken mit einigen Fetttropfen.	viele weiße zerfaserte kleine Wölkchen m. Fetttropfen.	gröbere und dichtere weiße geballte Wölkchen, am Rande zerflokt und ganz zerfasertekleine Wölkchen.
Nach 15 Minuten langem Zentrifugieren:		
etwa 1 $\frac{1}{3}$ ccm sehr konsistent, nicht ausschüttelbar.	etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm sehr weichbreiig, gut verstreichbar.	etwa die Menge von II. Weichbreiig, aber etwas grobkörniger als II.

Versuch vom 15. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. viele große u. mittlere Fetttropfen.	Nach 5 Min. sehr eng zusammenliegende große u. mittlere Fetttropfen und geringfügige schleimige Teile.	Nach 5 Min. massenhafte Wolken von großen u. mittleren Fetttropfen u. schleimig mehligten Teilen.
Nach 20 Min. sehr eng zusammenliegende Fetttropfen (große und mittlere) auf dunklem Untergrund.	Nach 20 Min. große und mittlere Fetttropfen, eng zusammenliegend, auf grauer Schleimgrundlage.	Nach 20 Min. eng zusammenliegende Fetttropfen, z. T. in kleinen Flocken zusammenliegend, mit mehlig - schleimigen Massen.
Nach 60 Min. Massen von sehr eng zusammenliegenden großen und mittleren Fetttropfen.	Nach 60 Min. massenhafte Fetttropfen in homogener schleimiger Grundlage suspendiert.	Nach 60 Min. sehr zerflokte und am Rande zerfaserte weiße Massen mit zahlreichen Fetttropfen.

Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 80 Min. wie vorher, nur noch enger zusammenliegend.	Nach 80 Min. zusammengelagerte Fett- tropfen und Schleim- massen auf schleimiger Grundlage.	Nach 80 Min. sehr zerflockte, weiße zerfaserte Massen, mit eingelagerten Fett- tropfen.
Nach 12stündigem etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Stehen im Autoklaven und Zentrifugierung: etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber.

## Versuch vom 21. VIII. 19.

I.	II.	III.
$\frac{1}{2}$ Milch + $\frac{2}{3}$ Wasser + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	$\frac{1}{2}$ Milch + $\frac{2}{3}$ Haferschleim + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	$\frac{1}{2}$ Milch + $\frac{2}{3}$ Hafer- mehl + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreich große, mittlere und kleine Fetttropfen u. kleinste oscillierende Teilchen.	Nach 5 Min. sehr eng zusammen- liegende große u. mittlere Fetttropfen und Schleim- massen.	Nach 5 Min. zu weißen, faserigen Flocken, z. T. schon zu- sammengesinterte Massen (mehlig-schlei- mig), mit Fetttropfen- einlagerungen.
Nach 20 Min. dasselbe Bild wie vor- her, nur Fetttropfen enger zusammenliegend.	Nach 20 Min. Bild wie vorher. Fett- tropfen z. T. schon zu Flocken zusammen- gesintert.	Nach 20 Min. z. T. schon in dicken mehlig-weißen Massen zusammenliegende Fetttropfensuspension.
Nach 70 Min. große Massen sehr eng (mosaikartig) zusam- menliegender Fett- tropfen.	Nach 70 Min. weiße zerfaserte und zer- flockte Massen mit Fett- tropfen.	Nach 70 Min. mehlig-schleimige Mas- sen, in denen Fett- tropfen suspendiert sind.
Nach 12stündigem etwa $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Stehen im Brutschrank und Zentrifugierung: etwa $\frac{3}{4}$ ccm weichbreiig.	2 ccm weichbreiig, etwas gröb.

## Versuch vom 10. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 1% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.

Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 5 Min. mittlere u. kleine Fetttröpfchen, eng zusammenliegend.	Nach 5 Min. dichte weiße Wölkchen, am Rande zerfloekt, mit einzelnen Fetttröpfchen.	Nach 5 Min. weiße Wölkchen, ziem- lich zerfloekt mit reichl. Fetttröpfchen.
Nach 25 Min. mittlere und kleinere Fetttröpfchen eng zu- sammenliegend, an ein- zelnen Stellen zusam- mensinternd.	Nach 25 Min. weiße Wölkchen, am Rande zerfloekt m. Fetttröpfchen	Nach 25 Min. dichte weiße Wölkchen, ziemlich zerfloekt mit Fettropfen
sehr ähnlich.		
Nach 65 Min. helle, schleimig-wolkige Massen mit vielen Fett- tropfen.	Nach 65 Min. dicke, faserige, weiße Wolken mit Fetttropfen.	Nach 65 Min. zerfaserte weiße Wolken mit reichl. Fetttropfen.
Nach 90 Min. zusammenliegende Fett- tröpfchen in kleinen Bündeln.	Nach 90 Min. dicke, faserige, weiße Wolken mit Fetttropfen	Nach 90 Min. zerfaserte weiße Wolken mit reichl. Fetttropfen
sehr ähnlich.		
Nach 120 Min. die Bündel bzw. weißen Häufchen sind etwas größer geworden.	Nach 120 Min. zerfaserte weiße Wölkchen mit Fetttropfen.	Nach 120 Min. zerfaserte weiße Wolken mit reichl. Fetttropfen, die sich weiterhin ver- dichten.
Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven und Zentrifugierung:		
etwa $\frac{3}{4}$ ccm ziemlich konsistent.	etwa $2\frac{1}{4}$ ccm ziemlich weichbreiig.	etwa 2 ccm etwas grobkörnig und zähbreiiger als II.

Versuch vom 18. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{7}{10}$ Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{7}{10}$ Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{7}{10}$ Salzsäure.
Nach 5 Min. viele große u. mittlere Fettropfen.	Nach 5 Min. mittlere Fettropfen auf schleimiger Grundlage.	Nach 5 Min. sehr viele sehr eng zu- sammenliegende Fett- tropfen auf schleimig- mehliger Grundlage.
Nach 20 Min. teilweise schon in Bünd- eln zusammenliegende teilweise noch locker durcheinanderliegende Fettropf. aller Größen.	Nach 20 Min. zusammenliegende Fett- tropfen auf schleimiger Grundlage.	Nach 20 Min. teilweise schon zu weißen Bündeln grup- pierte, teilweise noch umherflutende Fett- tropfen (mittlere und große).



Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 60 Min. teilweise in kleinen weißen Bündeln noch gesammelte, teilweise noch umherschwimmende Fetttropf. (große und mittlere). Klares Bild.	Nach 60 Min. zerflockte Wolken auf trüber mehligter Grundlage mit spärlichen Fetttropfen.	Nach 60 Min. dicke weißgraue, massenhafte Gerinnseel, sehr zerflockt mit mittleren Fetttropfeneinlagerungen. Klares Bild.
Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven etwa 1 ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven etwa 1 ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven und Zentrifugieren: etwa 2 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber verstreichbar.

## Versuch vom 22. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 5 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 5 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 5 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. große und mittlere Fetttropfen.	Nach 5 Min. in Bündeln zusammenliegende große u. mittlere Fetttropfen in schleimige Massen gebettet.	Nach 5 Min. eng aneinanderliegende Fetttropfenbündel und schleimig-mehlige Massen.
Nach 20 Min. große und mittlere Fetttropfen, eng zusammenliegend.	Nach 20 Min. z. T. faserig weiße Flocken m. umherschwimmenden Fetttropfen u. schleimigen Massen.	Nach 20 Min. sehr eng aneinanderliegende Fetttropfen, z. T. zu mehlig. Flocken geballt.
Nach 60 Min. teilweise schon klein-flockig geronnene graue Massen, in denen Fetttropf. suspendiert sind.	Nach 60 Min. in kleine gefaserte und zerflockte Wölkchen geronnene grau-weiße Massen mit Fetttropfen.	Nach 60 Min. in kompakte grauweiße Massen geronnene Flocken m. Fetttropfeneinlagerungen.
Nach 12stündigem Stehen im Autoklaven etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugierung: etwa 1 $\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber.

## Versuch vom 14. VII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 1 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 1 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 1 $\frac{0}{10}$ Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.

Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 20 Min. große, mittlere u. kleine Fetttropfen dicht zusammenliegend.	Nach 20 Min. zerfaserte durchscheinend. helle dünne Massen mit zahlreichen Fetttropfen.	Nach 20 Min. viele große u. mittlere Fetttropfen und geringe schleimartige Massen, die sich aneinanderzuliegen beginnen.
Nach 40 Min. große, mittlere u. kleine Fetttropfen wie vorher, die sich zusammenlegen.	Nach 40 Min. dicht zerfaserte kompaktere weiße Massen und Fetttropfen. Dazwischen fließende Schleimmassen mit ganz feinen Teilchen.	Nach 40 Min. helle Schleimmassen, etwas kompakter als vorher und viele Fetttropfen.
Nach 65 Min. teils schon in zerflocht. kleinen weißlichen Wölkchen zusammenliegende, teils noch umherschwimmende Fettkügelchen.	Nach 65 Min. dicke weiße kompakte Massen. Mittlere u. kleine Fetttropfen.	Nach 65 Min. kompakte zerfaserte Massen, ganz ähnlich wie bei II.
Nach 85 Min. weiße Wölkchen wie vorher, aber kompakter.	Nach 85 Min. dicke weiße kompakte Massen. Mittlere Fetttropfen.	Nach 85 Min. nicht ganz so kompakt wie II. Mittlere Fetttropfen.
Nach 12stündigem etwa $1\frac{1}{3}$ ccm konsistent.	Stehen im Brutschrank etwa 2 ccm weichbreiig, weich verstreichbar.	und Zentrifugieren: etwa $1\frac{1}{4}$ ccm weichbreiig, größer verstreichbar.

Versuch vom 20. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreiche mittlere und große Fetttropfen und kleinste Teile. Eng zusammenliegend.	Nach 5 Min. mittlere und kleine Fetttropfen auf homogen schleimiger Grundlage.	Nach 5 Min. teilweise schon zu weißen Flocken geronnene Massen, teilweise noch umherflutende mehlig-schleimige Massen mit Fetttropfen.
Nach 20 Min. Fetttropfen, die sich zu feinen Flocken zusammengelegt haben u. Fetttropfen wie vorher.	Nach 20 Min. zerfaserte und zerflockte grauweiße Wolken auf schleimiger Grundlage.	Nach 20 Min. ganz eng zusammenliegende Fettkugeln aller Größen auf mehlig-schleimigen Massen.

Tabelle III (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 60 Min. weiße Flocken, am Rande verschwommen, in denen Fetttropfen suspendiert sind.	Nach 60 Min. dicke weiße Flocken, am Rande zerfasert und schleimige Massen mit Fetttropfchen.	Nach 60 Min. grauweiße Flockenmassen (gröb. Struktur als II.), am Rande zerfloct mit Fetttropfen.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren: etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber.

## Versuch vom 23. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 5% Rohrzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. zahlreiche große, mittlere und kleine Fetttropfen und kleine oscillierende Teile.	Nach 5 Min. große und mittlere Fetttropfen und schleimige Massen.	Nach 5 Min. große u. mittlere Fetttropfen. Vereinzelt weiße Wölkchen.
Nach 20 Min. mittlere u. kleine Fetttropfen und kleinste oscillierende Teilchen.	Nach 20 Min. große und mittlere Fetttropfen, z. T. mit Schleimmassen zu faserigen Flocken geballt.	Nach 20 Min. zusammenliegende Fetttropfen, z. T. mit Schleimmassen zu Flocken geballt.
Nach 65 Min. Fetttropfen und kleine Ballen und Flocken, die am Rande fein gefasert sind.	Nach 65 Min. dichte weiße Wolken mit Fetttropfeneinlagerungen.	Nach 65 Min. weißgraue zerfaserte Wölkchen (mehligschleimig) m. Fetttropfeneinlagerungen.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugierung: etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugierung: etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig, etw. gröber.

## Ergebnis:

1. Im ultramikroskopischen Bild zeigen sich gegenüber den zuckerfreien Mischungen relativ die geringsten Veränderungen. Vor allem erscheint der Untergrund auch hier rein schwarz. Die gerinnende Masse bildet aber dickgeballte, am Rande ganz leicht zerfetzte weiße Massen. (Vergleichsweise erinnern sie an die dickgeballten Wolken eines aufziehenden Gewitters.)

2. Die Menge des Zentrifugats zeigt Unterschiede derart, daß auch hier die Milchzuckerwassermischung die geringste Menge Zentrifugat liefert.

3. Die Konsistenz aller Zentrifugate ist relativ weichbreiig, doch hat auch hier die Milchzuckerwassermischung noch immer die größte Konsistenz.

III. Milchzucker.

Tabelle IV.

Versuch vom 1. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. mittlere, kleine und kleinste Fetttropfen und Teile.	Nach 5 Min. Fetttropfen aller Größen sehr zusammenliegend, auf schleimig verschwommener Unterlage.	Nach 5 Min. sehr dicht zusammenliegende Fetttropfen auf schleimig verschwommenem Untergrund.
Nach 20 Min. Bild wie vorher, auf leicht trübem Untergrund.	Nach 20 Min. in Bündel zusammengeballte Fetttropfen aller Größen, auf trüb schleimigem Untergrund.	Nach 20 Min. zusammengeballte Fetttropfen aller Größen u. einzelne verschwommene helle mehlig Wolken.
Nach 60 Min. dicht zusammenliegende Fetttropfen auf sehr verschwommener trüber Grundlage.	Nach 60 Min. an den Rändern zerflockte, aber verwaschene wolkige Massen und einzelne Fetttropfen.	Nach 60 Min. sehr umfangreiche graue nebelartige verwaschene Massen mit zahlreichen mittleren und großen Fetttropfen.
Nach 120 Min. sehr eng zusammenliegende Fetttropfen auf verschwommenem Untergrund.	Nach 120 Min. gefaserte, zerflockte und verschwommene Wolken und große und mittlere Fetttropfen.	Nach 120 Min. gefaserte, zerflockte und verschwommene weiße Massen mit vielen Fetttropfen. Am Rande zerflockt und undeutlich.
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren:		
etwa $\frac{1}{3}$ ccm weichbreiig.	etwa 2 ccm weichbreiig.	etwa 2 ccm weichbreiig.

Tabelle IV (Fortsetzung).  
Versuch vom 11. VIII. 18.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Haferschleim + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Hafermehl + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. ganz trüb verschwommenes Bild, keine deutlichen Einzelheiten.	Nach 5 Min. eng zusammenliegende große und mittlere Fetttropfen auf sehr trübem nebelartigem Untergrund.	Nach 5 Min. äußerst eng zusammenliegende große und mittlere Fetttropfen auf verschwommener trüber Grundlage.
Nach 20 Min. sehr trübes Bild großer und mittlerer umhertreibender Fetttropfen auf verschwommener Grundlage.	Nach 20 Min. sehr trübes Bild aneinanderliegender mittlerer und großer Fetttropfen (grau in grau).	Nach 20 Min. dicht aneinanderliegende Fetttropfenmassen auf sehr verschwommener grauer Grundlage. Sehr trüb.
Nach 95 Min. vereinzelte große und mittlere, kaum sichtbare trübe Fetttropfen auf sehr verschwommener Grundlage.	Nach 95 Min. zusammengeballte große und mittlere Fetttropfen auf ganz trüber Grundlage.	Nach 95 Min. ganz trübe, wolkig-flockige Massen, in denen Fetttropfen suspendiert sind, auf sehr verschwommener, kaum zu erkennender Grundlage.
Nach 12stündigem Aufenthalt im Brutschrank und Zentrifugieren:		
etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.

Versuch vom 4. VIII. 19.  
Brutschranktemperatur 33°.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.
Nach 7 Min. große, mittlere u. kleine Fetttropfen u. kleinste Teilchen.	Nach 7 Min. eng zusammenliegende Fetttropfen (mittlere) auf verschwommen schleimigem Grunde.	Nach 7 Min. auf mehlig-verschwommenem Untergrund zahlreiche große und mittlere Fetttropfen u. einzelne grau verschwommene flockige Gerinnsel.

Tabelle IV (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 20 Min. Bild wie vorher, nur Fettropfen noch enger zusammenliegend.	Nach 20 Min. wolkig zerklüftete weiße Massen, am Rande zer- flockt, aber stark ver- schwommen m. einzelnen Fettropfen.	Nach 20 Min. weißgraue stark ver- schwommene Wolken von diffus mehligem Massen mit zahlreichen Fettropfen.
Nach 60 Min. sehr eng zusammen- liegende Fettropfen auf sehr verschwom- mener Unterlage.	Nach 60 Min. kompakte weiße Massen, zerflockt und so ver- schwommen, daß Einzel- heiten nicht zu erkennen sind.	Nach 60 Min. kompakte weißgraue Wolken m. einzelnen Fettropfen. Ganz ver- schwommenes Bild.
Nach 12stündigem etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren: etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.

## Versuch vom 13. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Wasser + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Haferschleim + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{1}{2}$ Milch mit Hafermehl + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. sehr undeutliche, ganz trübe, kaum sichtbare eng aneinanderliegende Fettropfen auf milchig- trüber Grundlage.	Nach 5 Min. weiße flockige Massen, sehr verschwommen auf ganz trüber Grundlage, mit Fettropfen.	Nach 5 Min. große und mittlere Fett- tropfen, z. T. zu grauen Massen verdaut auf ver- schwommener Grund- lage.
Nach 20 Min. große homogene weiße Massen, am Rande zer- flockt auf trüb schleim- igem Untergrund.	Nach 20 Min. weißgraue Massen auf ganz trüber Grundlage, so daß Einzelheiten nicht mehr zu erkennen sind.	Nach 20 Min. massige dicke, weiß- graue Massen auf trüb verschwommenem Untergrund.
Nach 12stündigem etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren: etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.	etwa $1\frac{1}{2}$ ccm weichbreiig.

## Versuch vom 5. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 3% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{2}{10}$ -Salzsäure.

Tabelle IV (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 5 Min. zahlreiche Fetttropfen in allen Größen.	Nach 5 Min. zahlreiche große u. mittlere Fetttropfen, eng zusam- menliegend auf schlei- migem, sehr verschwom- menem Untergrund.	Nach 5 Min. zu kleinen Klümpchen verbackene Fetttropfen und Mehlmassen auf verschwommen. Unter- grund.
Nach 20 Min. aneinanderliegende große u. mittlere Fett- tropfen, wie in trüben Nebel eingehüllt.	Nach 20 Min. sehr eng zusammen- liegende Fetttropfen auf sehr schleimig ver- schwommener Unterlage.	Nach 20 Min. graue flockig und faserig zusammengesinterte Massen. Sehr trübes Bild. Einzelheiten un- deutlich.
Nach 75 Min. zahlreiche zusammen- liegende Fetttropfen auf milchig-trübem Untergrund.	Nach 75 Min. weißlich-graue, homogen verschwommene Massen mit einzelnen Fetttropfen. Undeutlich verschwom- menes Bild.	Nach 75 Min. kompakte weißgraue, am Rande zerfaserte Massen m. einigen Fett- tropfen. Sehr „mehlige“ Unterlage. Trüb ver- schwommenes Bild.

Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und Zentrifugieren:

etwa  $1\frac{1}{2}$  ccm  
weichbreiig.etwa  $1\frac{1}{2}$  ccm  
weichbreiig.etwa  $1\frac{1}{2}$  ccm  
weichbreiig.

## Versuch vom 14. VIII. 19.

I.	II.	III.
10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.	10 ccm $\frac{2}{3}$ Milch mit Hafermehl + 5% Milchzucker + 0,05 Simons Lab + 0,05 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure.
Nach 5 Min. kaum zu erkennende, auf ganz trüb ver- schwommener Grund- lage befindliche Fett- tropfen.	Nach 5 Min. auf ganz trüberschleimig- grauer Grundlage ver- schwommene aneinander- liegende Fetttropfen.	Nach 5 Min. zu dichten Bündeln aneinandergelagerte Fetttropfen und schlei- mige Massen. Ganz verschwommenes Bild.
Nach 20 Min. homogene, weißgraue und deutlich ver- schwommene Masse, in der eng zusammen- liegende große u. mitt- lere Fetttropfen liegen.	Nach 20 Min. diffuse weiße Wölkchen, am Rande stark zer- flockt, mit vielen ein- gelagerten Fetttropfen auf verschwommener Grundlage.	Nach 20 Min. verschwommen wolkige diffuse graue Massen, mit Fetttropfeneinlage- rungen auf ganz ver- schwommener Grund- lage.

Tabelle IV (Fortsetzung).

I.	II.	III.
Nach 60 Min. zusammenliegende Fetttropfenmassen auf verschwommenem grau-trübem Grunde.	Nach 60 Min. zerfaserte wolkige Gerinnsel mit eingelagerten Fetttropfen auf trüber Grundlage.	Nach 60 Min. weißgraue zerfaserte Wolken m. Fetttropfen auf trübem Untergrund (ähnlich II).
Nach 12stündigem Stehen im Brutschrank und etwa 1 $\frac{1}{3}$ ccm weichbreiig.	Stehen im Brutschrank und etwa 1 $\frac{1}{3}$ ccm weichbreiig.	Zentrifugierung: etwa 1 $\frac{1}{3}$ ccm weichbreiig.

Ergebnis:

Bei Milchzucker zeigt sich am auffälligsten ein Einfluß auf den Verlauf der Koagulation.

1. Das, was bei Nährzucker im ultramikroskopischen Bilde nur angedeutet ist, tritt hier deutlich in die Erscheinung. Die Bilder sind äußerst verschwommen, das Gesichtsfeld ist wie von dicken Nebelschwaden erfüllt, aus denen sich die Koagulationsmassen nur unscharf abheben, so daß der Vorgang der Gerinnung relativ schwierig zu verfolgen ist.

2. Die Menge des Zentrifugats ist relativ groß und bei allen drei Mischungen fast gleich, wenn auch die Milchzuckerwassermischung noch immer die geringste Menge Zentrifugat liefert.

3. Die Konsistenz sämtlicher Koagulationen ist weichbreiig, wenn auch hier die früheren Unterschiede (siehe A) noch leise angedeutet sind. Je konzentrierter der Zuckerzusatz, desto mehr verwischen sich im übrigen alle Unterschiede.

Die Untersuchung der Molke obengenannter Mischungen mit dem Stalagmometer ergaben recht einheitliche Resultate, wie aus der folgenden Untersuchungsreihe zu ersehen ist.

Tabelle V.

	Filterte Molke Tropfenzahl	Spez. Gewicht + 1 $\frac{0}{10}$ Tropfenzahl	Spez. Gewicht + 3 $\frac{0}{10}$ Tropfenzahl	Spez. Gewicht + 5 $\frac{0}{10}$ Tropfenzahl				
1 $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Nährzucker . . . . .	67,5	1006	69,5	1008	69,6	1015	96,0	1021
1 $\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Rohrzucker . . . . .	68,0	1005	71,0	1010	71,3	1020	72,6	1025



Tabelle V (Fortsetzung).

	Filterte Milch Tropfenzahl	Spez. Gewicht	+ 1 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> Tropfenzahl	Spez. Gewicht	+ 3 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> Tropfenzahl	Spez. Gewicht	+ 5 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> Tropfenzahl	Spez. Gewicht
$\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Milchzucker . . . . .	68,0	1005	68,0	1008	68,3	1015	69,3	1023
$\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Nährzucker . . . . .	70,2	1011	71,2	1015	71,3	1019	71,0	1030
$\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Rohrzucker . . . . .	73,0	1012	74,2	1015	73,0	1020	73,5	1029
$\frac{1}{3}$ Milch mit Wasser + Milchzucker . . . . .	69,0	1012	67,0	1016	69,8	1021	74,0	1025
$\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + Nährzucker . . . . .	72,0	1010	73,0	1010	73,0	1019	74,3	1024
$\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + Rohrzucker . . . . .	72,3	1008	73,4	1017	75,2	1023	76,0	1033
$\frac{2}{3}$ Milch mit Wasser + Milchzucker . . . . .	72,3	1012	73,6	1012	74,0	1020	73,8	1029
$\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + Nährzucker . . . . .	73,9	1013	77,0	1016	79,0	1023	83,0	1030
$\frac{2}{3}$ Milch mit Haferschleim + Milchzucker . . . . .	72,0	1015	76,3	1015	76,0	1023	79,3	1131
$\frac{1}{3}$ Milch mit Hafermehl + Nährzucker . . . . .	73,0	1007	75,5	1011	78,0	1018	78,0	1021

Wir haben also gefunden, daß mit steigender Zuckerkonzentration die Tropfenzahl und das spezifische Gewicht der Molken zunimmt, d. h. also die Oberflächenspannung abnimmt. Naturgemäß findet sich dasselbe Resultat auch bei Vermehrung der Molke und der damit verbundenen Vermehrung des natürlichen Zuckergehaltes, wie eine solche mit einer Steigerung des Milchgehaltes der Mischungen verknüpft ist. Ob der Zusatz von Schleimen und Mehlen auch auf die Tropfenzahl einen Einfluß hat, können wir auf Grund unserer wenigen Untersuchungen nicht sagen, indessen schien es uns so<sup>1)</sup>.

Fassen wir zum Schluß die Gesamtergebnisse unserer Arbeit noch einmal zusammen, so sind wir uns von vornherein

<sup>1)</sup> Um genügendes Untersuchungsmaterial zu erhalten, gingen wir bei diesen Untersuchungen stets von der 10fachen Menge aus. Verwendet wurden nur vollkommen klare Molken, die, wie oben erwähnt, sofort nach der Gerinnung durch Filtration gewonnen wurden.

bewußt, daß unsere Untersuchung auf diesem ausgedehnten Gebiete nur zu beschränkten Teilresultaten führen konnte. Wir glauben aber doch, folgendes sagen zu können: Sowohl die ultramikroskopische Untersuchung, wie die Feststellung der Menge und der Beschaffenheit des Zentrifugats ergeben:

Die reinen Milchwassermischungen zeigen auch nach der üblichen Sterilisation eine bedeutend konsistentere Gerinnung als die Milchmehlabbkochen und die Milchsleimmischungen, worauf übrigens schon Schloßmann vor Jahrzehnten aufmerksam gemacht hat. Wenn zwischen diesen letzteren ein Unterschied besteht, so weist die Milchsleimmischung die lockerste Gerinnung auf und ähnelt somit am meisten der Frauenmilchgerinnung. Durch Zuckerzusätze werden diese Gegensätze gemildert, und zwar um so deutlicher, je stärker der Zuckerzusatz ist. Geringeren Einfluß haben anscheinend Rohr- und Nährzucker gegenüber dem Milchzucker, der die Gerinnungsvorgänge am stärksten im Sinne der Frauenmilchgerinnung beeinflußt. Die Unterschiede zwischen der Einwirkung von Rohrzucker und Nährzucker sind nicht erheblich.

#### Literatur.

- Bardach, Zeitschr. f. Kinderheilk. 18, 1918.  
Bratke, Monatschr. f. Kinderheilk. 14, 1916.  
Burri und Nußbaumer, diese Zeitschr. 22.  
Klotz, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 8, 1911.  
Derselbe, Jahrb. f. Kinderheilk. 73, 1911.  
Kreidl und Neumann, Arch. f. d. ges. Physiol. 123.  
Langstein, Versamml. d. Ges. f. Kinderheilk. Königsberg 1910.  
Derselbe, Med. Klinik 1919.  
Noeggerath, Versamml. d. Ges. f. Kinderheilk. Münster 1912.  
Sidler, Arch. f. Hygiene 47.  
Silberschmidt, Deutsche med. Wochenschr. 1903, 473.  
Smeliansky, Arch. f. Hygiene 59.

# Zur Kenntnis der Katalasewirkung der Erythrocyten.

Von

H. v. Euler und E. Borgenstam.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 11. November 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

In zwei vorhergehenden Mitteilungen<sup>1) 2)</sup> ist nachgewiesen worden, daß die natürliche Katalasewirkung frischer Hefezellen wesentlich gesteigert werden kann.

Es handelt sich hierbei nicht um Neubildung von Enzym, sondern um eine noch nicht näher erforschte Änderung in dessen Zustand.

So trat bei unserer Oberhefe SB II und bei der Hefe *Saccharomyces Thermantitonus* durch Einwirkung von Protoplasmagiften eine Verstärkung der Katalasewirkung um 600<sup>0</sup>/<sub>0</sub> bzw. 300<sup>0</sup>/<sub>0</sub> des ursprünglichen Wertes ein. Bei Oberhefe SB II wurde durch Erwärmen auf Temperaturen zwischen 55<sup>0</sup> und 63<sup>0</sup> das 20- bis 30fache des Ausgangswertes der Katalasewirkung erreicht. Schließlich wurde bei Oberhefe SB II die Enzymwirkung auch noch durch Trocknen bedeutend vergrößert.

Die Ursache dieser Aktivierungen, für die einige Analogien bereits früher angegeben wurden<sup>3) 4)</sup>, dürfte in einer Änderung

---

<sup>1)</sup> Euler u. Blix, Arrhenius-Festschrift 1919, Nr. 23. — Zeitschr. f. physiol. Chem. 105, 83, 1919.

<sup>2)</sup> Euler u. Laurin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 106, 312, 1919.

<sup>3)</sup> Euler u. Löwenhamm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 97, 279, 1916. — Euler u. Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 175, 1912. — Cesana, Archivio di Fisiol. 11, 130, 1913.

<sup>4)</sup> Diese Aktivitätsänderungen auf die hypothetische Philokatalase von Batelli u. Stern (Journ. de Physiol. et Pathol. 7, 957, 1905) zurückzuführen, dürfte auf Widersprüche stoßen.

des Lösungszustandes bzw. des Dispersitätsgrades der Katalase zu suchen sein.

Für die Beurteilung des Katalasegehaltes von Zellen ist die erwähnte Erscheinung außerordentlich störend, da ja eine Proportionalität zwischen Enzymgehalt und Enzymwirkung nicht angenommen werden kann, wenn es durch einfache kurze Erwärmung, durch Entwässerung oder minimalen Giftzusatz möglich ist, die Enzymwirkung auf das Vielfache ihres Wertes zu steigern. Wir haben dann nämlich keine Garantie dafür, daß die von den frischen Zellen unter normalen Umständen geäußerte Katalasewirkung nicht schon von Aktivatoren oder sonst irgendwie in hohem und ganz unbekanntem Grade beeinflußt ist.

Die Verhältnisse liegen also hier bedeutend verwickelter als bei der Saccharase, wo wir wenigstens bis auf weiteres Enzymgehalt und Enzymwirkung proportional setzen können<sup>1)</sup>.

Wir haben uns nun durch die hier mitzuteilenden Versuche darüber orientieren wollen, ob auch in roten Blutkörperchen ähnliche Aktivierungen der Katalasewirkung vorkommen, oder ob es hier vielleicht möglich ist, festere Anhaltspunkte über den wirklichen Katalasegehalt der Zellen zu finden.

Eine Bestimmung des Katalasegehaltes der Erythrocyten war für uns insofern besonders wünschenswert, als die Katalase einen wichtigen Bestandteil im System der Oxydationsenzyme bildet. Wir hatten gehofft, Veränderungen an den roten Blutkörperchen, die unter dem Einfluß von intravenösen Injektionen eintreten, durch Messung der Katalasewirkung leicht verfolgen zu können. Diese Erwartung hat sich — wie gleich vorausgeschickt sei — nicht bestätigt. Indessen wollen wir unsere Versuche in der erwähnten Richtung nicht aufgeben, um insbesondere die Enzymbildung in roten Blutkörperchen bei der Proteintherapie, besonders in Rücksicht auf die interessanten Ergebnisse von Weichardt<sup>2)</sup>, weiter zu verfolgen<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Vgl. Euler u. Svanberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 106, 201, 1919.

<sup>2)</sup> Weichardt u. Schrader, Münch. med. Wochenschr. 1919, 239.

<sup>3)</sup> Gerade die Blutkatalase hat sich ja bei Krankheiten und bei Organexstirpationen sehr empfindlich erwiesen. Vgl. J. Winternitz, Henry und Mc. Phedran, Arch. Int. Med. 7, 624, 1911. — Winternitz, Bull. Johns Hopkins Hosp. 22, 109, 1911. — Winternitz u.

### Methodisches.

Es wurde von frischem Pferdeblut ausgegangen, das nach dem Defibrinieren und Verdünnen mit physiologischer Kochsalzlösung zentrifugiert wurde. Die Blutkörperchen wurden vom Serum getrennt und dann weiterhin mit frischer 1<sup>0</sup>/<sub>10</sub>iger Kochsalzlösung viermal gewaschen und vom Waschwasser abzentrifugiert.

Die schließliche Suspension der Erythrocyten in physiologischer Kochsalzlösung enthielt  $8,2 \cdot 10^9$  Zellen per Kubikzentimeter.

Die Katalasewirkung wurde diesmal nicht, wie bei der Hefe, durch Titration mit Permanganat verfolgt, sondern sie wurde volumetrisch gemessen, und zwar wurde der Sauerstoff über Quecksilber in Glasbüretten bei geringem Unterdruck aufgefangen. Wir haben diese Methode derjenigen von Jolles<sup>1)</sup> vorgezogen<sup>2)</sup>.

Sämtliche Reaktionsversuche beziehen sich auf die Temperatur 25<sup>0</sup>. Die Wasserstoffsuperoxyd-Lösungen waren bei allen Versuchen 0,0087 normal; eine Schädigung der Katalase durch das so verdünnte Superoxyd konnte also hier nicht eintreten.

Die Acidität der Lösungen wurde während der Versuche durch Phosphat-Pufferwirkung zwischen  $p_H = 6$  und  $p_H = 7$ , also in der Nähe der Optimalacidität gehalten.

### Versuche.

#### 1. Einfluß der Erwärmung.

Es wurde festgestellt, wie sich die Katalasewirkung der Blutkörperchen ändert bei 30 Minuten dauernder Erwärmung auf verschiedene Temperaturen zwischen 50<sup>0</sup> und 65<sup>0</sup>.

Vor der Erwärmung wurden 2 ccm Blutkörperchen-Sus-

Pratt, Journ. Exp. Med. 12, 115, 1910. — Juschtschenko, Zeitschr. f. Neur. Psych. 152, 1912. — Batelli u. Stern, Compt. rend. Soc. Biol. 57, 405, 1904. — v. Dalmady u. v. Torday, Wiener klin. Wochenschr. 1907, 457. — Jolles, Virchows Archiv 180, 185, 1905.

<sup>1)</sup> Jolles, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 47.

<sup>2)</sup> Vgl. auch Weichardt u. Apitsch, diese Zeitschr. 90, 337, 1918.

pension mit 100 ccm 1%iger NaCl-Lösung gemischt. Die Erwärmung dieser Mischung geschah unter möglicher Verkürzung der Erwärmungszeit und Bewegung der Lösung in einem Wasserbad, dessen Temperatur die in der Blutlösung zu erreichende um  $10^{\circ}$  überstieg, wobei durch eingesetzte Thermometer kontrolliert wurde, daß keine störende lokale Überhitzung an den äußeren Schichten der Lösung eintrat. Die Acidität während der Erhitzung schwankte zwischen  $p_{\text{H}} = 6,7$  und  $7,0$ . Unmittelbar nach der Erhitzung wurde möglichst rasch auf  $25^{\circ}$  abgekühlt. Hierauf wurden diese 102 ccm mit 100 ccm der 0,0175 n- $\text{H}_2\text{O}_2$  Lösung versetzt und die Mischung im Reaktionskolben sofort mit den Gasbüretten in Verbindung gesetzt, in denen das Gasvolumen bei  $15^{\circ}$  abgelesen wurde.

Wir beschränken uns darauf, die Ablesungen ausführlich für einen Versuch mit nicht erwärmtem Blut wiederzugeben.

Minuten	Ablesung ccm $\text{O}_2$	$a-x$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
—	—	20,0	—
5	6,0	14,0	0,031
10	9,6	10,4	0,028
15	13,4	6,6	0,032
20	14,4	5,6	0,027
25	17,0	3,0	0,033
30	18,0	2,0	—
$\infty$	20,0	—	—

Als Mittelwert der Konstanten ergibt sich für das nicht erhitzte Blut der Wert  $k = 0,030$ .

In analoger Weise wurden die Konstanten ermittelt, nachdem die Blutkörperchen, wie oben angegeben, 30 Minuten auf die Temperaturen  $50^{\circ}$ ,  $51^{\circ}$ ,  $54^{\circ}$ ,  $56^{\circ}$ ,  $58^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$  erhitzt worden waren.

Die Ergebnisse stellen wir in der folgenden Tabelle zusammen:

Erhitzungstemp.:	Nicht erwärmt	$40^{\circ}$	$51^{\circ}$	$52,5^{\circ}$	$54^{\circ}$	$56^{\circ}$	$58^{\circ}$	$60^{\circ}$
$k \cdot 10^2$ . . . . .	3,0	3,15	6,0	6,5	7,0	8,1	7,0	0,4

Wie aus der Tabelle und umstehender Figur ersichtlich, ergibt sich ein Maximum der Aktivierung bei ungefähr  $57^{\circ}$ . Die beiden Versuchsreihen, in denen die Zahlen gewonnen sind, gestatten keine genauere Festlegung des Maximums, als auf etwa  $\pm 1,5^{\circ}$ .

Innerhalb dieser Grenzen stimmt das hier für Erythrocyten ermittelte Maximum der Hitzeaktivierung mit dem viel genauer gemessenen Aktivierungsmaximum der Hefenkatalase überein. Dasselbe liegt nach den Versuchen von Euler und Blix bei etwa  $58^{\circ}$ .

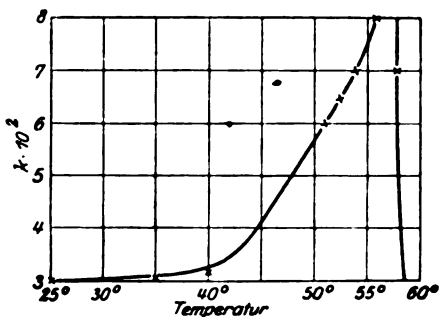


Fig. 1.

Merkwürdig erscheint, daß die hier beschriebene Wärmeaktivierung bei den recht zahlreichen Arbeiten über Blutkatalase den verschiedenen Forschern entgangen ist, sogar bei Untersuchungen über den Einfluß der Erwärmung.

Van Italie<sup>1)</sup> gibt in einer bemerkenswerten Mitteilung richtig an, daß Menschenblut durch 30 Minuten langes Erhitzen auf  $63^{\circ}$  den größten Teil des Spaltungsvermögens gegenüber Wasserstoffsperoxyd verliert, und daß Pferdeblut unter diesen Umständen seine Katalasewirkung vollständig verliert.

Auch an Hefen- und Bakterienkatalasen sind übrigens wiederholt Erhitzungsversuche angestellt worden, ohne daß die dort zuweilen sehr starke Aktivierung zutage gekommen wäre. So gibt z. B. Neumann-Wender an, daß die Katalase der Hefe zwischen  $10^{\circ}$  und  $50^{\circ}$  gleichbleibt und erst bei  $60^{\circ}$  geschwächt wird<sup>2)</sup>.

Nach Jorns wird Katalase in *Bacterium prodigiosum* bei  $55^{\circ}$  geschwächt. Vermutlich beruht diese etwas niedrigere

<sup>1)</sup> Van Italie, Compt. rend. Soc. Biol. 60, 148, 1906. — Jolles, Virchows Archiv 180, 185, 1905.

<sup>2)</sup> Das kritische Aktivierungsgebiet fanden Euler u. Blix bei  $58^{\circ}$ .

Schwächungstemperatur darauf, daß in der Bakterienemulsion nicht die für Katalase optimale Acidität geherrscht hat<sup>1)</sup>.

## 2. Einfluß von Chloroform.

Wie eingangs erwähnt, wurde bei Hefezellen durch Protoplasmagifte eine starke Erhöhung der Katalasewirkung hervorgerufen.

Ähnliche Versuche wurden auch mit roten Blutkörperchen angestellt und zwar mit Toluol und Chloroform.

Wir verzichten darauf, unsere Versuchszahlen hier ausführlich wiederzugeben, da der Effekt bei Anwendung von Toluol innerhalb der Versuchsfehlergrenzen lag und bei Chloroform die Aktivierung nicht mehr als 10 bis 15% betrug. Da in beiden Fällen auch eine erhebliche Beeinflussung der Plasmolyse bemerkbar war, so ist die erwähnte Chloroformaktivierung der roten Blutkörperchen keine reine Erscheinung, und wurde einstweilen nicht weiter verfolgt.

## 3. Katalasewirkung per Zelle.

Wir haben bereits Seite 125 erwähnt, daß die Katalasewirkung per Zelle wegen der eben behandelten Aktivierungserscheinungen bei weitem nicht mit dem gleichen Grad der Sicherheit bestimmt werden kann, wie die Saccharasewirkung. Immerhin wollten wir unsere Messungen an roten Blutkörperchen auch dazu benutzen, die Katalasewirkung per Zelle annähernd mit derjenigen zu vergleichen, die sich bei der Hefe ergibt.

Der Versuch mit unerhitzten Blutkörperchen, der Seite 127 angegeben ist, wurde mit  $16,4 \cdot 10^9$  Blutkörperchen angestellt. Es ergaben also  $1 \cdot 10^{10}$  Blutzellen eine Katalasewirkung entsprechend  $k = 0,019$  (25°).

Zum Vergleich wurde in ganz analoger Weise — insbesondere bei gleichen NaCl- und Phosphatzusätzen — einige Versuche mit unserer Oberhefe SB II angestellt. Es wurden 0,2 g frische Hefe verwendet, und die Zellenzählung ergab in jedem Versuchskolben  $1,7 \cdot 10^9$  Zellen. Mit dieser Hefenemulsion

<sup>1)</sup> Der Temperatureinfluß ist hier, wie bei allen Enzymen, wohl eine Funktion der Acidität. Jorns, Arch. f. Hygiene 67, 134, 1908.



wurde bei 3 Versuchen im Mittel die Konstante der Wasserstoffsperoxydspaltung zu  $k = 0,0028$  gefunden. Dies ergibt für  $1 \cdot 10^{10}$  Hefezellen  $k = 0,015$  (25°).

Wir kommen also zum Ergebnis, daß die von uns untersuchten Erythrocyten des Pferdeblutes und die Zellen unserer Hefe per Zellenzahl annähernd die gleiche Katalasewirkung ausüben.

Die Durchmesser der untersuchten Erythrocyten und unserer Hefezellen waren auch ungefähr die gleichen. Für erstere findet man den Wert  $7 \mu$  bzw.  $2 \mu$  angegeben; die Zellen der Oberhefe SB II haben den Durchmesser  $7,5$  bis  $6,5 \mu$ .

#### Zusammenfassung.

Die Aktivierung der Katalase, die früher von Euler und Blix sowie Euler und Laurin in Hefezellen gefunden worden ist, tritt auch in roten Blutkörperchen ein.

In Erythrocyten aus Pferdeblut wird durch Erwärmen auf etwa  $57^{\circ}$  eine Aktivierung von rund  $170\%$  erreicht.

Durch Protoplasmagifte wurde nur geringe Aktivierung erzielt; der Einfluß der Entwässerung ist noch nicht endgültig festgestellt.

Die Wirkung der Katalase in den roten Blutkörperchen ist also vom Zustand des Enzyms stark abhängig, und von der wasserstoffsperoxyd-spaltenden Wirkung darf nicht ohne weiteres auf den Katalasegehalt geschlossen werden.

## Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blute. X.

Die Nephelometrie der Phosphorsäure als Grundlage der P-Verteilung, speziell der Lecithinämie, im Analysengange von der Größenordnung des Bangschen Systems.

Von  
Joh. Feigl.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 13. November 1919.)

Die in Rede stehenden Mengenverhältnisse der maßgebenden Reaktionen, die der quantitativen Nephelometrie des Phosphations zugrunde liegen, gestatten es, den Maßstab der Analyse auf das Bangsche System herabzudrücken<sup>1)</sup>. Sowohl die Empfindlichkeit des Reagenses, wie auch der Modus der Extraktion, endlich die technische Handhabung des Instrumentes haben sich dafür als geeignet erwiesen, wenschon die Herab-

---

<sup>1)</sup> Vorläufige Mitteilung dieser Angelegenheit nach (derzeit schon befriedigenden) Vorversuchen siehe bei Joh. Feigl (Phosphate VII), diese Zeitschr. 92, 1, 1918. Noch an anderer Stelle vom Verf. verwendet, ist dieses Verfahren, auch ohne die jetzt gegebenen Detailvorschriften, gegenüber der schönen Bangschen Analyse, die erste extreme Mikrochemie der Blutlipide (Phosphatide) im technischen Sinne Bangs (Wägung und Extraktion von rd. 150, durch Blut usw.). Bang bestimmt (fraktionierend) indes nur „Gesamtphosphatid“; darüber erhebt sich diese Übertragung des Greenwaldschen Prinzipes und der Greenwald-Feiglischen Fraktionierung, indem sie die „P-Verteilung“ vollständig darbietet, und indem sie unabhängig von den Phosphatiden den säurelöslichen P erfaßt, mithin zur ersten anorganischen Analyse Bangs (Cl-Ion) die zweite (O-Phosphation) hinzufügt.

setzung der Ausführungsform naturgemäß ein Ansteigen der Fehlerquellen mit sich bringt. Sie können für das Gesamtverfahren auf  $\pm 5\%$  im Extrem geschätzt werden. Dadurch nehmen die Mikroanalyse der P-Verteilung im Serum und ähnliche Aufgaben eine Gestalt an, in der sie keiner der jetzt bestehenden, von Bang angebahnten und verbesserten Methoden nachsteht. Die Bedeutung dieser extrem mikroanalytischen Ausführung der biologischen P-Aufgaben ist einmal darin zu erblicken, daß sie nun alle Vorzüge erlangt, die uns für Trockensubstanz, Zucker, N-Krystalloide, Fette und Lipide, Cl-Ion bereits zur Hand sind, daß sie andererseits auf gleichen Grundlagen durch abgewandelte (Beihalt der einleitenden) Prinzipien der Bangschen Mikrochemie der Blutlipide an die Seite tritt. Damit ist die Möglichkeit zu Gegenkontrollen gegeben, was für viele der derzeit noch sehr verwickelten Fragen sich als segensreich erwiesen hat.

Für die zu beschreibende Durchbildung der Mikroanalyse des P sind ursächlich geworden: 1. Das Feigl-Kleinmannsche Nephelometer (Schmidt & Haensch 1919) durch seine großen theoretischen und technischen Vorzüge. 2. Die Revision und schrittweise Verbesserung des Strychninpolydatreagenses und seiner Handhabung durch Kober, Bloor, Meigs, Kleinmann. 3. Die Erfahrungen über andere (als die älteren) Extraktionsmöglichkeiten nach Bang (1918).

Zum Vergleich sei vorher der Sinn der Bangschen Mikromethodik der Blutlipide dargelegt; wir bedürfen der einschlägigen Vergleichsgesichtspunkte.

Bestimmung durch Reduktion einer Chromatlösung. Empirische Feststellung der Reduktionsquoten für Fettsäuren, Neutralfett, Cholesterin. „Gesamtlipoid“ und durch Alkoholextraktion isoliert. Die Aufteilung ist gegründet auf zwei Fraktionen: I. Petrolätherextrakt mit [Neutralfett + Cholesterin], die a) zusammen bestimmt werden, b) nach getrennter Analyse des Cholesterins durch die Digitoninfällung rechnerisch auf Neutralfett hin aufgelöst werden. — II. Alkoholextrakt, dem obigen folgend mit [Estercholesterin + Phosphatiden], die a) gemeinsam bestimmt, b) fraktioniert werden, wobei rechnerisch die Fettsäuren des Phosphatidgemenges resultieren. Die Blutproben gelangen trocken zur Extraktion. Freie Fettsäuren (als Seifen) sind unter IIa zu finden, aber nicht speziell zugänglich. Blindversuche sind vonnöten. Die Technik siehe in der Originalarbeit.

Wir fanden also folgende Gesichtspunkte vor, die mit den

von Bloor, Feigl, Greenwald entwickelten in Einklang zu setzen sein können. „Gesamtphosphatid“ ist entweder im „Gesamtextrakt“ zugänglich und nähert sich diese Isolierung dem Bloor'schen Verfahren. Andererseits kann nach Beseitigung der Fraktion I in der Fraktion II die gesuchte Größe bestimmt werden. Es fragt sich, worin evtl. Unterschiede liegen können. Bei näherer Prüfung haben sich nur rein technische herausgestellt, keine prinzipiellen.

Das Vorgehen unterwirft sich — wir handeln nur noch von der Isolierung, also den Bedingungen, wie sie bei Bloor vorwalten, — gewisser Abschattierung. Die reine Alkoholextraktion hat sich — in der Rückübertragung auf den mittleren Maßstab (Bloor) als günstiger erwiesen in Hinsicht auf Gewinnung von „Gesamt-P“. Bloor und Feigl haben die verschiedenen Fragen beurteilt, die in der ersteren Methode die Erfassung von „Lecithin“ erstreben und desgleichen den Ausschluß von „Nichtphosphatid-P“. Hier ist der Ausschluß nicht gewährleistet, leider auch nicht die völlige Gewinnung des „Gesamt-P“ („Phosphatid-P“ + Anorganischer P + krystalloider Rest-P), so daß wir unkonstante Verhältnisse antreffen, die unter Umständen ungünstige Wirkungen nach sich ziehen. Feigl hat das Übergreifen der zwei Fraktionen dargetan in den derzeitigen maßgebenden Gedankengängen der Extraktion (Bloor) der sauren Enteiweißung (Greenwald).

In dieser Hinsicht steht also an sich die Originalvorschrift Bangs, wenn man mit ihr auf die strenge P-Verteilung zielen will, nicht günstig da, da es viele Anlässe gibt, in denen Grenzüberschreitungen mit fälschlicher Erhöhung des lipoiden P möglich ist. Wohlgermerkt, es gelten diese Gesichtspunkte nur für den Fall, der die „Phosphatide“ aus dem direkt bestimm- baren P zu errechnen trachtet. Bang geht ja anders vor, zieht aber Seifen mit ein; der Fehler ist dann gering. Und soweit ich bisher fand, ist zu sagen, daß seine analytische Grundlage, die empirische Phosphatidbestimmung durch den Reduktionswert der Fettsäuren unter Verrechnung, frei von den obigen Bedenken.

Wir müssen also für genäherte Bestimmungen [deren Grenzen siehe in essentieller Hinsicht a. a. O.<sup>1)</sup>] mit Bangs

<sup>1)</sup> Joh. Feigl, l. c. 1918 (Phosphate VIIa), S. 50 ff.

Extraktion auskommen. Genauere, und, soweit bisher bekannt, auch mit Bloors und Feigls Zahlen sich weitgehend deckende Werte erhält man, wenn die Alkoholextraktion II (Fraktionierungssystem) oder die geänderte Alkoholextraktion (Gesamtextrakt) durch Bloors „Gemisch“ ersetzt (Alkoholäther, 3 + 1 ist. Das ist bei unseren Methoden gut zugänglich, ähnlich auch bei Bangs mikrochemischer Isolierung des Ur-N (Fraktionierung des Gesamt-R.-N). Dabei gelangt man zu wesentlich besseren Werten, indem der „Nichtphosphatid-P“ erheblich eingeschränkt wird.

Bang extrahiert Trockenblut. Die frisch entnommene und gewogene Menge läßt man an der Luft trocknen. In größeren Verhältnissen ist bekannt, daß das Verfahren zu Phosphatiddefizits disponiert, indem lipoidgebundener P zur Ab Sprengung kommen kann. Anwendung höherer Temperatur ist nach meinen Versuchen gleichfalls nicht rätlich<sup>1)</sup>. Wir bringen die Papiere in einen geeigneten kleinen Exsiccator über CaCl<sub>2</sub> und<sup>2)</sup> entleeren langsam bis zum Vakuum von 12 mm. Frist ca. 1<sup>h</sup>. Auch das Einbringen halbtrockenen Blutes ist nicht ohne Erfolg versucht worden; richtig gehandhabt (leider nicht schematisch zu definieren) erhält man Extrakte, die brauchbar sind. Für Serum oder Plasma, auf die oben erwähnte P-Verteilung bezogen ist, ist die Sache cet. par. gleich, soweit technische Gesichtspunkte in Rede stehen.

Ganz anders und ungleich komplizierter wird die Sache, wenn wir von Serum, wo die (oben geschilderten) Verhältnisse

<sup>1)</sup> I. Bang (l. c.) widerriert diese bereits.

<sup>2)</sup> Bisher sind wir am besten gefahren mit zwei Anordnungen. Ein 20-cm-„Porzellanexsiccator“ mit glattem Boden wird mit CaCl<sub>2</sub> in geschmolzenen staubfreien Stücken beschickt, so daß der Boden bedeckt ist. Hierüber breitet man ein am Rande abwärts geknittertes Hartfilter. Die Papierblätter kommen an den Querbalken eines dreibeinigen Gerüsts, das 4 Roste enthält, die ihrerseits in richtigen Abständen kleine Glassäckchen tragen. Zur Kennzeichnung der Papiere in fortlaufenden Nummern beschneidet man deren Ecken und trägt die Form der Stücke, z. B. □ □ □ □ □ □ usw. als Kontrollzeichen in das Analysenbuch ein. Auch rechteckig trogförmige Exsiccatoren, die wir uns bauen ließen, haben sich sehr gut bewährt. Endlich haben wir für Vakuumtrocknung in der Wärme (a. a. O.) den Kempfschen Siedemantelapparat mit einer entsprechenden Ausstattung versehen.

relativ einfach sind, auf Vollblut übergehen. Bloor sowie Feigl sind hier gleichzeitig zu Ergebnissen über die Verteilung des P gelangt. „Nichtphosphatid-P“ verschiedener Bindung und Charakters interferiert hier gegenüber dem „Phosphatid-P“ ganz erheblich. Wollte man die Analyse nach der Bangschen Extraktion auf die Bloor-Kleinmannsche Nephelometrie gründen, würde man, wovon ich mich an vielen Aufgaben überzeugte, fast stets zu falschen, gelegentlich zu ganz unbrauchbaren Zahlen kommen. Hier kann nur nach Bloor mit befriedigendem Erfolge extrahiert werden. Bangs Bestimmunggrundlage ist frei von der einschlägigen Interferenz. Benzol gibt nach meinen Versuchen mit Trockenblut gute Isolierung des „Phosphatid-P“. Auch die sauren Salzextraktionen Bloors und Feigls (später) kommen mutatis mutandis zu guter Anwendung.

Die Frage, weshalb wir neben der Bangschen Oxydationsbestimmung von mir die P-Mo.-Strychninnephelometrie ausgebildet wird, ist gleichfalls besprochen.

Bei der Analyse von Serum läßt sich auf trockenes oder halbtrockenes Blut das Pikrinessigsäureverfahren Greenwalds mit Erfolg anwenden. Man gelangt durch Fraktionierung zum säurelöslichen P, kann aber den lipoidischen schwer, dieser ersten Erschöpfung folgend, herausholen. Man findet aus „Gesamt-P“ (s. später) und säuerlichem P den lipoiden durch Rechnung. Auch mit Trichloressigsäure gelingt bei richtiger Handhabung (Sjöllema und Hesserschy bei der R.-N-Isolierung) diese Aufteilung.

Die Grundlagen für die Maßstäbe dieser Übertragung der Greenwald-Feiglschen Prinzipien auf das System von Bang mögen aus folgenden Mengenverhältnissen der Originalmethode, die mit 1,0 ccm Serum arbeitet, hergeleitet werden. Im Groben handelt es sich nur um Reduktion auf 20<sup>0</sup>/<sub>100</sub> der Ausgangsmenge. Die Originalmethode durchläuft folgende Stadien.

1,0 ccm Serum wird mit Pikrinessigsäure zu 10,0 ccm aufgefüllt. Die durch Neumannsche Mischung gewonnene Aschenlösung wird auf ein Volum von 50,0 ccm gebracht. Von diesem Ansatz gelangen im Gange der Bestimmung 20,0 oder 10,0 ccm zur Messung. Lipoid-P bzw. Säure-P figurieren mit rd. (der Größenordnung nach)  $\frac{1}{100}$  bis  $\frac{1}{250}$  ccm Serum. Erkenntnisschwelle (Fehlergrenze) rd.  $\frac{1}{5000}$  ccm Serum. Das Kleinmannsche Reagens hebt die technische Sicherheit bedeutend.

Bei der Vergleichslösung Greenwalds von 0,03 mg  $P_2O_5$  (= 0,0131 mg P) in 5,0 ccm kann man bleiben, andererseits auf 0,01 mg P herabgehen.

Wir müssen allen säurelöslichen P durch Pikrinessigsäure extrahieren, desgleichen allen lipoiden durch Alkohol, Alkoholäther oder durch Benzol und das Gewicht in bekannter Weise einsetzen. Gehen wir von Blutmengen an und um 100,0 mg aus, so ist die Übertragung recht einfach, desgl. für rd. 200,0 mg. Wir arbeiteten später ausdrücklich nach Kleinmanns Angaben, die der Methode erst den richtigen Untergrund gebaut haben. Desgleichen lag das Feigl-Kleinmannsche Instrument vor; mit den anderen Apparaten kamen wir nicht zum Ziele. Gesamtfehler unter  $\pm 5\%$ .

Mit dem Pipettieren der geringen Blutmengen, auch mit dem Kapillarverfahren von M. Ljungdahl sind wir nach vielen Versuchen nicht zu schlüssigen Anwendungen gelangt; mit der Übernahme der Grundlagen des Systems von Amos Peters (1919) kann man sich ev. befreunden. Über Variationen dieser Art ist noch zu berichten. Das Ziel war, die Bloorsche Extraktionsweise, die sich technisch und dem Wesen nach (s. auch Ph. Muller, 1916) so bewährt hat, ohne Umformung einfach in Gestalt kleinerer Maßstäbe zu betätigen. Für die Bestimmung des Gesamt-P in Tropfenmengen Bluts oder Serums, die wir als sehr nützlich kennzeichnen, muß man vom Adsorptionsverfahren sich freimachen. Bei diesem ist uns auf Grundlage des Pikrinsäurereagenses eine schrittweise Extraktion nicht gelungen. Naturgemäß müssen die von Bloor, Feigl, Kleinmann betonten und begründeten Gesichtspunkte über sorgfältige Kenntnis des P-Gehaltes der Reagenzien, über die Gefäße, genau eingehalten werden. Eine Veraschung des Kartonnepapieres — nach Erschöpfung mit deren wäßrigem Pikrinsäurereagens — in toto, um den lipoidischen usw. P zu fassen, ist untunlich geblieben.

Die Verarbeitung der Extrakte nach Neumanns Säuregemischveraschung stößt, wenn man sich an Greenwalds, Bangs, Feigls Vorschriften bindet, nicht auf Schwierigkeiten. Nichtwäßrige Lösungsmittel sind vorher peinlich zu entfernen, die dann folgende Verseifung und Verteilung durch Lauge nach Bang ist auch hier hochwillkommen, da somit Veraschungstechnik bedeutend erleichtert wird.

An Vergleichsuntersuchungen liegen je 30 Bestimmungen vor.

I. Greenwald-Feigl (mit 1,0 ccm Serum) gegen Greenwald-Feigl-Bang (Technik auf 100,0 mg Blut übersetzt) praktisch durchaus zutreffend. Die Versuche lagen in Mengen zwischen 2,2 mg bis 20,2 mg säurelöslichem P für 100 ccm Blut.

II. Bloor (mit 2,0 ccm Blut bzw. Serum) gegen Bloor Feigl (Extraktion, s. o.), Übereinstimmung gut bis befriedigend-Versuche zwischen 100,0 mg „Lecithin“ und 300,0 mg Lecithin für 100 ccm.

III. Bloor-Bang-Feigl (Fraktionierung, Stufe II Bang) gegen Bloor-Feigl (Gesamtextrakt) praktisch zureichende Werte bei Serum, bei Blut weniger günstig.

Mit den im Auszug gegebenen Versuchsergebnissen ist m. E. der Nachweis geliefert, daß bei Einhaltung gewisser Vorarbeiten der Extraktion usw. die Bestimmungsmethode genau so zureichend und technisch einwandfrei ist, wenn man mit ihr auf 100 mg bis 200 mg Blut oder Serum herabgeht<sup>1)</sup>. Entsprechend dem Vorkommen (schematisch für 100 ccm Serum gegeben) von 2 mg P bis 10 mg P (lipoider oder säurelöslicher) hat man es mit rd. 0,002 mg P bis 0,01 mg P zu tun, den Fußpunkt sehr selten, praktisch noch 0,005 mg P berührend<sup>2)</sup>.

Wir müssen uns, wie oben angedeutet, nun über den Wert dieser Übertragung auseinandersetzen. Vorteile sind einmal gegeben durch die „echte Mikrochemie“ im Sinne Bangs (prinzipiell), ferner durch die Detailanalyse der P-Verteilung einerseits, durch die Bestimmung des nichtlipoiden (anorganischen) P andererseits (im einzelnen). Das sind große und nach meiner Auffassung praktisch brauchbare Auswirkungen der Bangschen Mikromethodik. Damit ist aber der Sinn dieser Methodik nicht abgetan. Wir haben uns die Frage vorzulegen, ob Bangs Reduktionssystem technisch einfacher oder besser ist (a) als die P-Bestimmung, ob ferner die Parallelstellung (wenn a nicht zugegeben würde) zu gewissem Nutzen führen kann (b). Über a kann nur der urteilen, der sich auf die Basis des Feigl-Kleinmannschen Instrumentes und der ver-

<sup>1)</sup> Nähere Angaben folgen in einer Vergleichsstudie der Prinzipien: P einerseits, Fettsäuren andererseits im Dienste des Lecithinproblems.

<sup>2)</sup> S. hierzu die Studien über Fehlergrenzen und Empfindlichkeit bei H. Kleinmann, diese Zeitschr. 99, 19 bis 189, 1919.



besserten P-Mo.-Strychninreaktion (Kober-Bloor-Kleinmann) stellt<sup>1)</sup>. Die Analyse selbst — abgesehen von den Detailproblemen der Extraktion — steht in Handlichkeit und Annehmlichkeit der Bangschen keinesfalls nach, übertrifft sie aber bedeutend in der Genauigkeit, was bei den Grundlagen beider nicht verwunderlich ist. Dagegen tritt für die Kombination die Frage auf, wie man sich persönlich und theoretisch zur Nephelometrie überhaupt zu stellen gedenkt. Abgesehen von den instrumentellen Kosten<sup>2)</sup>, die aber keine Rolle spielen, da man jetzt unmöglich ohne gutes Nephelometer biochemische Analyse treiben kann, ist das Verfahren keineswegs teurer. Will man das Instrument umgehen, — was aber für Institute, die sich mit den derzeitigen Aufgaben eins wissen, nicht möglich ist<sup>3)</sup>, — so ist Bangs empirisch fundierte Reduktionsmethodik allein möglich. Man haftet dann lediglich an deren jetzt doch noch recht wenig ausgeweiteten Grenzen und Möglichkeiten.

Nach obigem muß die Überlegenheit, mindestens die Gleichberechtigung der Bestimmungsform (a) anerkannt werden. Den größten Fortschritt aber erblicken wir in der Gleichstellung mit dem Bangschen Verfahren. Letzteres ist ideell von solchem Werte, daß man jetzt die Folgerungen nicht übersehen kann, die in die analytische Kenntnis der Lecithinämie einmünden werden. Es bestimmt „Phosphatid“ nicht von P aus (was auch übrigens analytisch-technisch zweifellos der exaktere Weg wäre, sondern mit empirischen Eichungen vom Flügel der durch Verseifung

<sup>1)</sup> Geschichte der Nephelometrie und ihrer Ausführungen mit Ein-schluß des neuen Instrumentes s. H. Kleinmann. E. Steinitz lehnte (1914, Zeitschr. f. physiol. Chem., colorim. Ur-Bestimmung) die billigen Ausführungen deutscher Dubosq-Apparate ab. Besonders in der nephelometrischen Umformung kommen die Nachteile erdrückend zum Vorschein, so daß auf diesem Wege den schönen Methoden (s. u.) von vorn herein das Wasser abgegraben wird.

<sup>2)</sup> Das Instrument wird von Schmidt & Haensch gebaut.

<sup>3)</sup> Nephelometrie der Fette und Lipide (Bloor-Csonka, des N Graves), des Purin (Kober u. Graves), des Acetons (Scott-Wilson-Mariott-Folin), des P (s. u.), des Ca (Lyman), des Cl (ältere Methode), des Ag (dgl.) u. a. m. Die Purinmethode (s. o.) leistete dem Verf. wichtige Dienste (Purinverteilung mikromethodisch) im Uricämieproblem.

erhaltenen Fettsäuren her. Es eliminiert die schematischen Voraussetzungen der Rechnung von P zu mittlerem „Phosphatid“, die unter Umständen als bedenklich ablenkend zu gelten hat. Daß es sich dagegen selbst in formale Annahmen begeben muß, ist zuzugeben<sup>1)</sup>. Diese sind aber gänzlich andere als die im P-Schema liegenden. Die Parallelstellung zutreffender Werte wird dagegen zu Erfolgen führen, da beide von der gemeinsamen Basis der Extraktionsmöglichkeiten nicht abstrahierbar zu machen sind. Die Mikrochemie der P-Analyse weitet den engen Kreis der Bangschen Lipoidbestimmung auf eigener Grundlage zur Erfassung der P-Verteilung. Den Vergleich zwischen der P-Bestimmung (Bloors Prinzip und Technik, Feigl) einerseits und der Reduktionsmethode für die Fettsäuren (Bang) andererseits kann man verwirklichen durch Senkung und Übersetzung ersterer, durch Hebung letzterer Analyse auf die jeweils angemessenen Maßstäbe. Wir stehen vor der Beendigung von Versuchen, die der Präzisierung des „Lecithinämie-“ (P-Verteilungs-) Problems auf Grund des zweiten Weges gewidmet sind. Hierüber ist demnächst zu berichten. Auf einem anderen Blatte steht das Problem, das zu so großen praktischen Leistungen (Bloor und seine Schule, Feigl, Lipämiegebiet) gediehene und befähigte, von Csonka technisch näher studierte Prinzip der „Nephelometrie“ von Fetten, Fettsäuren und Lipoiden in die Größenordnung der Bangschen Systems zu übertragen<sup>2)</sup>. Auch hierüber ist auf Grund des neuen Nephelometers, das allein bisher zum Ziele führen kann, vorbereitende Arbeit im Gange<sup>3)</sup>.

### Literatur.

I. Bang (Tit. Mikrobest. der Lipoidstoffe), diese Zeitschr. 1918, 91, 86; Mikrobestimmung der Blutlipide 235 ebenda; Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden 1916; (Lipämie Studien), diese Zeitschr. I. c.

<sup>1)</sup> I. Bang, I. c. (1918) dieser Zeitschr. S. 225 und folgende Mitt. (Lecithinämie) des Verf. (Feigl).

<sup>2)</sup> Es ist wichtig, die Oxydationswerte Bangs mit der Jodzahl und der Analysenmethodik Csonkas (s. u.) zu vergleichen. Die Natur- und Mischungsverhältnisse der Fettsäurefraktion des Blutes bilden das nächste wichtige Problem im Lipämiegebiet.

<sup>3)</sup> Man darf andererseits die Möglichkeiten der Sedimetrie nicht unterschätzen (Hamburger-Kleinmann) s. o.

1918, 91; (Cholesterinämie) ebenda. Auf ein neues Werk über das Gesamtthema ist hinzuweisen, desgleichen auf die bevorstehende Ausgabe des Abschnittes im neuen Handbuch von E. Abderhalden, *Biolog. Arbeitsmethoden; (Neues zur mikr. Zuckerbestimmung) mit Hatlehoel u. a.)* dgl. zum R.-N), diese Zeitschr. 1918, 87ff.

W. R. Bloor (Lec.-Best.) *Journ. Biol. Chem.* 22, 133, 1915, sowie ebd. 25, 577, 1916 (System) (Fettbestimmung u. a.) l. c. (1916) und ebd. 17, 377, 1914. (P-Verteilung im Blute usw.) *Journ. Biol. Chem.* 1918. Weiteres bei J. Feigl.

F. A. Csonka (Nephelometrie der Fette und Lipoide) *Journ. Biol. Chem.* 34, 577, 1918. Ders. (Fettsäuren im Blute) *Journ. Biol. Chem.* 33, 301, 1918, das. Lit. ferner bei Joh. Feigl.

Joh. Feigl (Phosphatide VII, VIII, IX) diese Zeitschr. 92, 1 f. 1918. Das. Lit. sowie ebd. 94, 293, 304, 1919. Ältere Arb. s. in diesen Mitt. ders. (Lecithinämie) 90, 381, 1919. (Ders. Lipämie II u. folgende) diese Zeitschr. 85 und nächste Bände, 1918. Darin System Bloor. Ders. (Lipämie VI) ebd. 93, 257, 1919. Ders. (Lipämie VII) ebd. 1920 Lit. über P-Verteilung, P-Bestimmung usw. s. in (Phosphate VII) 92, 1 ff., 1918. Ders. (Mikromethodik) *Centralbl. Chem. Med.* 1920.

J. Greenwald, *Journ. Biolog. Chem.* 21, 29, 1915. Ders. ebd. 25. 431, 1916, u. ältere Lit. ebd. Ferner *Journ. Biolog. Chem.* (Übersicht wichtiger Arbeiten des Autors).

H. Kleinmann (P-Bestimmungen) diese Zeitschr. 1919. Ders. (Nephelometrie) ebd. 1919. Ders. (P-Mo.-Strychninmethode) ebd. Lit. Kober, Meigs, Bloor, Pouget-Chouchak usw. l. c.). Rest-P-Frage (mit Lit. über Feigl-Arbeiten) ebd.

M. Ljungdahl (Acetonbestimmung, Capillarverfahren) diese Zeitschr. 96, 325, 345, 1919.

A. Peters (Mikrobestimmung von Blutsstoffen) *Journ. Biolog. Chem.* 39, 285, 1919. Prüfung und Anwendung des Verfahrens hat Verf. (Feigl) unter den Händen.

# Über das Puffersystem primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure an Stelle des Puffersystems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat.

Von

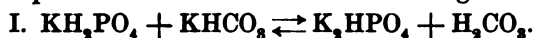
Wilhelm Windisch und Walther Dietrich.

(Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe, Berlin.)

(Eingegangen am 13. November 1919.)

In der vorhergehenden Arbeit „Untersuchungen an Carbonaten und Phosphat-Carbonatgemischen unter Verwendung oberflächenaktiver Indicatoren saurer und alkalischer Natur“<sup>1)</sup> hatten wir unter anderem eingehend die Umsetzungen des primären Kaliumphosphats mit den Bicarbonaten des Kaliums, Calciums und Magnesiums in der Kälte und beim Kochen studiert.

Es sei noch einmal die Formel der Umsetzung des primären Phosphats mit dem Alkalibicarbonat angeführt:



Während sich in der Kälte die Umsetzung je nach den angewandten Mengenverhältnissen bis zu einem gewissen Gleichgewichtszustand im Sinne des oberen Pfeils einstellt, so daß alle vier Komponenten der obigen Gleichung auch in dem Spezialfalle äquimolekularer Mengen von primärem Kaliumphosphat und Kaliumbicarbonat in der Lösung vorhanden sind, erfolgt die Umsetzung beim Kochen infolge Austreibens der flüchtigen Kohlensäure aus der Flüssigkeit quantitativ im Sinne des oberen Pfeils, d. h. es ist bei der Verwendung äquimolekularer Mengen nur noch sekundäres Kaliumphosphat in der Lösung; bei der Verwendung nicht äquimolekularer Mengen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 101, 82, 1919/1920.

ist außer dem sekundären Kaliumphosphat noch Kaliumbicarbonat oder primäres Kaliumphosphat in der Lösung vorhanden, also auf jeden Fall nur zwei Komponenten der Gleichung I.

Da es sich nach dieser Gleichung bei der Umsetzung um eine typische umkehrbare Reaktion handelt, so muß sich, wenn man die Gleichungskomponente, die durch das Kochen entfernt worden ist und deren Entfernung erst den Verlauf der Gleichung quantitativ im Sinne des oberen Pfeils ermöglicht hat, wieder der Lösung, die, wie eben gesagt, bei äquimolekularen Mengen nur sekundäres Kaliumphosphat enthält, hinzufügt, die Reaktion wieder im Sinne des unteren Pfeils verlaufen und um so weiter in dieser Richtung, je mehr Kohlensäure zur Verfügung steht.

Man kann also die Umsetzung zwischen sekundärem Kaliumphosphat und freier Kohlensäure in der folgenden Weise schreiben, wenn man annimmt, daß die Kohlensäure gegenüber dem sekundären Phosphat in bedeutendem Überschuß vorhanden ist.



Die Gleichung würde also aussagen: Es ist nicht möglich, daß sekundäres Phosphat in einer Lösung vorhanden ist, die freie Kohlensäure im Überschuß enthält.

Ehe wir auf die physiologischen Folgerungen dieser Umsetzung eingehen, soll der experimentelle Beweis dieser theoretisch notwendigen Reaktion erbracht werden.

Von den vier Komponenten der Gleichung I reagieren sekundäres Kaliumphosphat und Kaliumbicarbonat alkalisch; sie machen also aus Eucupinbichlorhydrat oberflächenaktives Eucupin frei. Es seien noch einmal die Tabellen der Einwirkung von sekundärem Kaliumphosphat und Kaliumbicarbonat auf Eucupinbichlorhydrat angeführt.

#### Einwirkung von $\frac{1}{10}$ -sekundärem Kaliumphosphat.

50 ccm Wasser + 2,5 ccm Eucupinbichlorhydrat.

$\frac{1}{10}$ -sek. Phosphat in ccm	0,00	0,05	0,10	0,15	0,20	0,30	0,50
Oberflächenspannung	112,0	100,0	95,0	90,0	88,0	85,0	78,0
$\frac{1}{10}$ -sek. Phosphat in ccm	1,00	2,00					
Oberflächenspannung	74,0	71,0					

Einwirkung von  $\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat.

50 ccm Wasser + 2,5 ccm Eucupinbichlorhydrat.

$\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat in ccm	0,0	0,2	0,4	0,6	1,0	2,0	3,0
Oberflächenspannung	111,0	96,0	88,0	86,0	85,0	79,0	75,0

Die Tabellen zeigen, daß sekundäres Phosphat stärker alkalisch wirkt als Bicarbonat; denn äquivalente Mengen rufen bei ersterem Salz eine größere Veränderung der Oberflächenspannung hervor als bei dem zweiten.

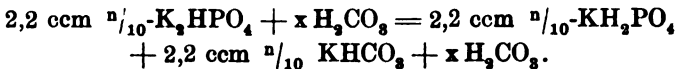
Primäres Kaliumphosphat wirkt als saurer Körper auf Eucupinbichlorhydrat nicht ein. Die Oberflächenspannungsausschläge beginnen aber, sobald man Kaliumbicarbonat zu dem primären Salz hinzufügt. Es sei auch diese Tabelle aus früheren Arbeiten angeführt.

Einwirkung von  $\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat auf primäres Kaliumphosphat in der Kälte.

2,5 ccm Eucupinbichlorhydrat + 2,2 ccm  $\frac{n}{10}$ -primäres Phosphat + 50 ccm Wasser.

$\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat in ccm	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Oberflächenspannung	109,0	104,0	102,0	101,0	99,0	99,0
$\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat in ccm	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2
Oberflächenspannung	98,0	98,0	97,0	96,0	95,0	94,0

Nach obiger Tabelle erniedrigen 2,0 ccm sekundäres Kaliumphosphat die Oberflächenspannung auf 71,0. Läßt man auf dieses sekundäre Kaliumphosphat freie Kohlensäure einwirken und findet eine Umsetzung nach Gleichung Ia statt, so ergibt sich



Die obige Tabelle zeigt, daß 2,2 ccm  $\frac{n}{10}$ -primäres Kaliumphosphat und 2,2 ccm  $\frac{n}{10}$ -Kaliumbicarbonat, wenn keine freie Kohlensäure vorhanden ist, eine Oberflächenspannung von 94,0 zeigen. Es müßte also, wenn man in eine Lösung von 2,2 ccm  $\frac{n}{10}$ -sekundärem Kaliumphosphat längere Zeit freie Kohlensäure einleitet, die Spannung der Lösung auf den Zusatz der Indicatorbase nicht tiefer als 94,0 sein, sogar infolge der Anwesenheit von überschüssiger freier Kohlensäure etwas höher, im Gegen-

satz zu der ursprünglichen Lösung von 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundärem Phosphat mit einem Ausschlag von 71,0.

Um das eben Ausgeführte zu bestätigen, wurde folgender Versuch angestellt.

50 ccm Wasser + 2,2  $\frac{2}{10}$ -sekundäres Phosphat + 2,5 ccm Eucupinbichlorhydrat zeigten die Oberflächenspannung 76,0.

In 50 ccm Wasser + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundäres Kaliumphosphat wurde 30 Minuten lang ein langsamer Kohlensäurestrom eingeleitet. Darauf wurde das Eucupinbichlorhydrat hinzugefügt. Die Oberflächenspannung der Lösung betrug jetzt 103,5. Das erwartete Ansteigen der Oberflächenspannung ist also erfolgt, und zwar wie erwartet durch die freie Kohlensäure noch über den Wert 97,5, den 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -primäres Kaliumphosphat + 2,2 ccm Kaliumbicarbonat in 50 ccm Lösung mit Eucupinbichlorhydrat ergaben, hinaus.

Es zeigt sich im allgemeinen, daß zwischen den Versuchen der vorliegenden Arbeit und den entsprechenden Versuchen in den Tabellen, z. B. Einwirkung von  $\frac{2}{10}$ -sekundärem Phosphat auf Eucupinbichlorhydrat hier und in der Tabelle, kleine Unterschiede in den Oberflächenspannungsausschlägen bestehen. Es sei dazu bemerkt, daß man absolut einwandfrei immer nur Versuche vergleichen kann, die mit ein und derselben Indicatorlösung von Eucupinbichlorhydrat angestellt wurden, da bei jeder neu hergestellten Lösung sich die Verhältnisse verschieben; denn beim Einstellen der Indicatorlösung auf den Wasserwert ist häufig nicht der absolute Neutralpunkt erreicht, und so treten bei der Empfindlichkeit der Methode geringe Differenzen auf. Diese spielen bei Vergleichen und Versuchen mit derselben Lösung keine Rolle, können sich aber bei zeitlich auseinanderliegenden Versuchen, die man vergleichen will, unangenehm bemerkbar machen.

Um die oberflächenspannungserhöhende Wirkung der freien Kohlensäure auf eine Lösung von primärem Kaliumphosphat und Kaliumbicarbonat festzustellen, um also ganz dieselben Verhältnisse zu schaffen wie sie in der Lösung von 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundärem Kaliumphosphat nach dem Einleiten der freien Kohlensäure nach unseren theoretischen Überlegungen vorliegen müssen, wurde in 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -primäres Phosphat + 2,2 ccm

$\frac{2}{10}$ -Kaliumbicarbonat + 45 ccm Wasser 30 Minuten ein Kohlen- säurestrom eingeleitet und dann das Indicatorsalz zugegeben. Die Oberflächenspannung betrug jetzt 104,0. Es ergibt sich also ganz derselbe Oberflächenspannungswert wie bei 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundärem Kaliumphosphat nach dem Einleiten von Kohlen- säure (103,5). Die theoretisch zu erwartende Umsetzung der Gleichung Ia ist damit experimentell bewiesen.

Dieselben Verhältnisse wurden noch einmal mit dem Natriumundecylat als Indicator, der bekanntlich auf saure Eigenschaften der Lösung reagiert, verfolgt.

Sekundäres Phosphat und Bicarbonat als alkalisch wirkende Körper reagieren nicht auf das Undecylat; primäres Phosphat dagegen und Gemische von primärem Phosphat und Kalium- bicarbonat bei bestimmten Mischungsverhältnissen und auch freie Kohlen- säure setzen oberflächenaktive Undecylsäure aus dem Undecylat in Freiheit.

Die Tabelle der Einwirkung von Kaliumbicarbonat auf primäres Kaliumphosphat mit Natriumundecylat als Indicator sei noch einmal angeführt.

5 ccm Na-Undecylat + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -primäres Phosphat  
+ 48 ccm Wasser.

$\frac{2}{10}$ -Kaliumbicarbonat in ccm	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Oberflächenspannung	71,0	88,0	97,0	102,0	105,0	107,0
$\frac{2}{10}$ -Kaliumbicarbonat in ccm	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,3
Oberflächenspannung	108,0	109,0	110,0	111,0	112,0	112,0

Die folgenden Versuche wurden genau so angestellt, wie die auf Seite 142 und 143, nur daß statt Eucupinbichlorhydrat Natriumundecylat als Indicator verwandt wurde.

48 ccm Wasser + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundäres Kaliumphosphat + 5 ccm Natriumundecylat ergaben die Spannung 115,0.

48 ccm Wasser + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -sekundäres Kaliumphosphat ergaben nach 30 minutigem Einleiten von Kohlen- säure mit 5 ccm Natriumundecylat den Ausschlag 93,0.

45 ccm Wasser + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -primäres Kaliumphosphat + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$ -Kaliumbicarbonat + 5 ccm Natriumundecylat zeigten die Oberflächenspannung 112,0.

45 ccm Wasser + 2,2 ccm  $\frac{2}{10}$  primäres Kaliumphosphat  
Biochemische Zeitschrift Band 102. 10



+ 2,2 ccm  $\frac{1}{10}$ -Kaliumbicarbonat ergaben nach 30 minutigem Einleiten von Kohlensäure mit 5 ccm Natriumdecylat den Ausschlag 93,0.

Man sieht auch hier die Übereinstimmung zwischen den analogen Versuchen wie bei dem alkalischen Indicator.

Zu gleicher Zeit zeigt sich wieder die amphotere Reaktion von Phosphat-Carbonatgemischen auch bei Anwesenheit freier Kohlensäure.

Dem Auge sichtbar kann man eine analoge Reaktion wie oben zwischen sekundärem Phosphat und freier Kohlensäure auch ausführen. Wenn man primäres Kaliumphosphat mit Calcium- oder Magnesiumbicarbonat kocht, so bildet sich ein Niederschlag von unlöslichen Calcium- bzw. Magnesiumphosphaten wechselnder Zusammensetzung. Leitet man in die Lösung nach der Fällung Kohlensäure ein, so löst sich der Niederschlag wieder auf, d. h. es ist der Zustand wieder hergestellt worden, der vor dem Kochen geherrscht hat.

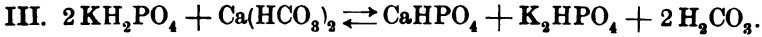
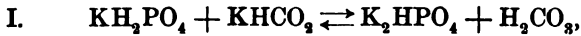
In der vorhergehenden Arbeit hatten wir umfangreiche Untersuchungen an Carbonat-Phosphatgemischen ausgeführt deren amphotere Eigenschaften dargelegt und ihre außerordentliche Geeignetheit, als Puffer zu wirken in ähnlicher Weise wie Gemische von primärem und sekundärem Phosphat, festgestellt.

Nach den vorhergehenden Versuchen und Darlegungen würde sich ergeben, daß in der Natur Gemische von primärem und sekundärem Phosphat als Puffer eine untergeordnete Rolle spielen dürften gegenüber den Phosphat-Carbonatgemischen.

In allen lebenden Organismen ist die verbreitetste Säure die Kohlensäure, da sie bei allen lebenden Zellen als Produkt der Atmung auftritt. Sie ist bei Zellen, die in intensiver Lebenstätigkeit sind und damit auch kräftig atmen, in stetem Überschuß und in stets neu zur Verfügung stehender Menge vorhanden. Man kann demnach annehmen, daß die Zelle mit Kohlensäure gesättigt ist.

In der Einleitung der vorigen Arbeit hatten wir darauf hingewiesen, daß dem Pflanzenorganismus in den Gefäßbündeln stets bicarbonathaltiges Wasser aus dem Erdboden zugeführt wird, da alle natürlichen Wässer mehr oder weniger Alkali- oder Erdalkalibicarbonat enthalten. Wir hatten in der vorigen Arbeit die Umsetzungen der einzelnen Bicarbonate mit dem

primären Kaliumphosphat entsprechend den folgenden Gleichgewichtsformeln mit der neuen Titrationsmethode verfolgt:



Sollte in einem lebenden Gewebe primäres Phosphat vorhanden sein und dieses mit den Bicarbonaten des Wassers in Berührung kommen, so würde infolge des Überschusses an freier Kohlensäure keine Umsetzung der Gleichungen I bis III im Sinne des oberen Pfeils erfolgen, sondern es würde sich nur primäres Phosphat und Bicarbonat neben freier Kohlensäure in dem Gewebe befinden und kein sekundäres Salz. In einem lebenden, atmendem Gewebe würde also stets, wenn anorganisches Phosphat vorhanden ist, das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure und nicht das System primäres Phosphat—sekundäres Phosphat auftreten. Je intensiver ein Gewebe oder eine Zelle atmet, um so weniger ist die Gelegenheit zur Bildung sekundären Phosphats gegeben.

Anders werden die Verhältnisse, wenn die Lebensfunktionen eingestellt werden und keine Kohlensäure mehr neu gebildet wird. In diesem Falle wird das Zellgewebe bzw. die einzelne Zelle immer ärmer infolge Diffusion der Kohlensäure an dieser werden, und allmählich wird der Verlauf der Gleichungen I bis III im Sinne des oberen Pfeils beginnen, so daß in einem absterbenden Gewebe automatisch die sauren Eigenschaften schwächer werden.

Ein gleiches würde schon eintreten bei einem Nachlassen der Atmungsintensität.

Zusammenfassend können wir schließen, daß an allen Vegetationspunkten, also an allen Punkten, wo die Enzyme hauptsächlich in aufbauender Richtung wirken, das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure herrscht, das bei zurückgehender Lebensintensität in das System primäres Phosphat—Bicarbonat—sekundäres Phosphat—freie Kohlensäure übergeht, um beim Absterben infolge allmählichen Entweichens aller freien Kohlensäure aus dem nicht mehr lebenden Gewebe das System primäres Phosphat—sekundäres Phosphat zu bilden. Die letzte Stufe kann nur erreicht werden, wenn überhaupt keine

Kohlensäure mehr, weder durch richtige Atmung noch durch eventl. eintretende intramolekulare Atmung, gebildet wird. Bei diesem Übergang des einen Systems in das andere ist natürlich vorausgesetzt, daß stets genügend Vegetationswasser vorhanden ist und kein vollkommenes Eintrocknen erfolgt.

Die intramolekulare Atmung würde das Bestehen des Systems primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure oder primäres Phosphat—Bicarbonat—sekundäres Phosphat—freie Kohlensäure infolge der allerdings nur in geringen Mengen dabei gebildeten Kohlensäure länger ermöglichen, es würde also das System der lebenden Zelle länger erhalten bleiben. Die intramolekulare Atmung hält also noch notdürftig das Auftreten des Systems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat, das System der toten Zelle, zurück. Auch in diesem Sinne stellt also die intramolekulare Atmung ein Kampfmittel gegen das einsetzende Absterben dar.

In dem System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure steht der Pflanze ein System von einer Regulierfähigkeit der sauren und alkalischen Eigenschaften, wie man es sich nicht besser denken kann, zur Verfügung, ein System, das in gewisser Weise automatisch mit der Lebensfähigkeit sich reguliert.

Auch bei der alkoholischen Gärung in Bierwürzen tritt, wie die folgenden Ausführungen zeigen werden, das eben ausführlich besprochene Salzsystem auf.

Wenn man Malz (gekeimte Gerste) mit kaltem Wasser auszieht oder auch maischt, d. h. durch diastatische und proteolytische Enzyme eine Verzuckerung der Malzstärke und einen Eiweißabbau herbeiführt, so läßt sich in den Auszügen stets durch Magnesiamixtur fällbares anorganisches Phosphat in bedeutenden Mengen nachweisen. Wir konnten in einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> nachweisen, daß zum größten Teil dieses anorganische Phosphat als primäres Salz vorhanden ist. Wird das Maischen des Malzes mit einem natürlichen Wasser, das ja stets carbonathaltig ist, und nicht mit destilliertem vorgenommen, so müssen, da die Maischen bzw. Würzen gekocht werden, die Umsetzungen

---

<sup>1)</sup> W. Windisch und W. Dietrich, Wochenschrift für Brauerei 1918, Nr. 25 bis 30.

zwischen primären Phosphaten und Bicarbonaten stattfinden, die in der vorigen Mitteilung eingehend behandelt worden sind, und die rein formell ihren Ausdruck in den drei oben angeführten Gleichungen I bis III finden, wenn man sie sich quantitativ infolge Austreibung der Kohlensäure aus der Flüssigkeit im Sinne des oberen Pfeils verlaufend denkt.

In der Würze liegt demnach das System primäres Phosphat—sekundäres Phosphat vor, und die Hefe sieht sich, wenn sie in einer Brauereiwürze ausgesät wird, diesem System zunächst gegenüber. Sobald die Gärung einsetzt, also freie Kohlensäure entwickelt wird, geht das System genau wie in einem atmenden Gewebe in das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure über. In einer gärenden Flüssigkeit ist demnach die Anwesenheit von sekundären Phosphaten ausgeschlossen. Es stellt sich demnach das System ein, das wir als charakteristisch ansehen für alle Fälle, bei denen Lebenserscheinungen auftreten: Das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure.

Als Schlußbetrachtung möchten wir noch eine Erscheinung in analoger Weise wie die intramolekulare Atmung mit dem Lebenssystem, wie wir es nennen mögen, in Verbindung setzen, nämlich die Glykogenbildung in der Hefe bei eintretendem Nahrungsmangel. Die Hefe speichert bekanntlich, wenn das Nährsubstrat an gärfähigen Stoffen ärmer wird, Glykogen in ihrem Innern auf.

Dieses Glykogen verschwindet dann allmählich bei längerer Lagerung, es wird vergoren, um das Leben noch einige Zeit aufrecht zu erhalten und die bei der Vergärung desselben auftretende Kohlensäure im Innern der Zelle verhindert, genau wie bei der intramolekularen Atmung, das Auftreten des Systems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat und ermöglicht das Bestehen des Systems primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure oder hier wahrscheinlich nur wegen der geringen Menge der gebildeten Kohlensäure das Bestehen des Übergangsystems primäres Phosphat—Bicarbonat—sekundäres Phosphat—freie Kohlensäure.

### Zusammenfassung.

1. Ein System primäres Phosphat—sekundäres Phosphat geht bei der Einwirkung eines Überschusses von freier Kohlensäure in ein System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure über.

2. Ist in einem atmenden, lebenden Gewebe oder einer Zelle anorganisches Phosphat vorhanden, so kann es nur als primäres Phosphat vorliegen, entweder als solches allein, oder im System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure.

3. Mit nachlassenden Lebensfunktionen, d. h. mit jedem Nachlassen von Kohlensäureentwicklung neigt das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure über das System primäres Phosphat—Bicarbonat—sekundäres Phosphat—freie Kohlensäure immer mehr dem System primäres Phosphat—sekundäres Phosphat zu.

4. In einer gärenden Flüssigkeit kann nur primäres Phosphat allein, oder das System primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure vorliegen.

## **Der Ersatz des Nahrungseiweißes durch Harnstoff beim wachsenden Wiederkäuer.**

## **Der Futterwert des nach dem Beckmannschen Verfahren aufgeschlossenen Strohs und der Spreu.**

Von  
**Wilhelm Völtz.**

(Aus der ernährungsphysiologischen Abteilung des Institutes für Gärungsgewerbe der landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

*(Eingegangen am 13. November 1919.)*

Nachdem zuerst Weiske und seine Schüler in mehreren Arbeiten, deren erste im Jahre 1879 veröffentlicht wurde<sup>1)</sup>, gefunden hatten, daß das Amid der Aminobernsteinsäure, das Asparagin, in einem gewissen Umfange als stickstoffhaltige Nährstoffquelle für den Wiederkäuer in Betracht kommt, haben sich viele Forscher mit der Frage des Nährwerts einzelner Aminosäuren, Säureamide und verschiedener Gemische solcher Stoffe beschäftigt.

Die Weiskeschen Befunde wurden bestätigt und erweitert<sup>2)</sup>. Selbst der Stickstoff so einfach konstituierter Stoffe wie der Ammoniaksalze organischer Säuren wird nach Untersuchungen Kellners und Morgens von wachsenden und milchproduzierenden Wiederkäuern ausgenutzt, wengleich sich die Ammoniaksalze unter den gewählten Versuchsbedingungen als wesentlich minderwertiger erwiesen, als die gleiche Stickstoffmenge in Form von verdaulichem Eiweiß.

---

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biol. 15, 261, 1879.

<sup>2)</sup> Die Literatur siehe unter W. Völtz: Über die Bedeutung der Amidsubstanzen für die tierische Ernährung. — Landwirtschaftliche Jahrb. 38, Ergänzungsband 5, 433 bis 448, 1909, und Morgen, Festschr. zur Feier des 100 jährigen Bestehens der Kgl. Württembergischen landwirtschaftl. Hochschule Hohenheim, Verl. Eugen Ulmer, Stuttgart 1918.

Kürzlich hat N. Zuntz<sup>1)</sup> über Versuche mit Ammonacetat an einem Schaf berichtet. Seine Versuche sind inzwischen abgeschlossen worden, konnten aber krankheitshalber bisher nicht publiziert werden. Herr Geheimrat Zuntz teilte mir für einen in der Berliner physiologischen Gesellschaft zu haltenden Vortrag in liebenswürdiger Weise am 19. Februar 1919 über seine Versuche brieflich wörtlich folgendes mit:

„Ersatz von eiweißreichem Kleemehl durch Kartoffelschnitzel mit Beigabe von Ammonacetat. Als Füllmaterial wurde ein uns zur Untersuchung übergebenes gekochtes Holz, daß für alle Nährstoffe außer Rohfaser negative Bilanz ergab, benutzt.

Der Gesamtcaloriengehalt des Futters war:

Bei Kartoffelschnitzeln + Kleemehl . . . . . 3136,5 Cal  
 „ „ + Ammonacetat . . . . . 2929,8 „

Verdaut wurden:

In der ersten Reihe . . . . . 1740,1 Cal  
 in der NH<sub>3</sub>-Reihe . . . . . 1833,7 „

Wenn wir den Stickstoff des Ammoniaks auf Rohprotein umrechnen, kommen wir zu folgender N-Bilanz.

1. Kleemehlreihe: Einnahme . . . . . 74,5 g Rohprotein  
 im Kot . . . . . 50,14 g „  
 verdaut . . . . . 24,36 g Rohprotein  
 im Harn . . . . . 17,26 g „  
 angesetzt . . . . . 7,10 g Rohprotein

2. Ammoniakreihe:

Einnahme . . . . 43,02 g Rohprotein aus Kartoffelschnitzel und Holz  
 27,27 g „ aus Ammonacetat

Gesamteinnahme . 70,29 g Rohprotein  
 im Kot . . . . . 35,55 g „  
 verdaut . . . . . 34,74 g Rohprotein  
 im Harn . . . . . 22,61 g „  
 angesetzt . . . . . 12,13 g Rohprotein

Die Wirkung des Ammoniaks auf die Pansenverdauung zeigt sich auch darin, daß in der Kleemehlreihe nach Abzug der in anderen Versuchen bestimmten Verdaulichkeit von Kleemehl + Kartoffelschnitzel die calorische Ausnutzung des Holzes auf 100 g betrug

— 132,4 Cal

der NH<sub>3</sub>-Reihe . . . . . — 50,7 „

Die Ausnutzung der Rohfaser des Holzes war in der Kleemehlreihe  
 = 3,80 g auf 100 g Holz

in der NH<sub>3</sub>-Reihe . = 14,29 g „ „ „

Einige Versuche mit NH<sub>4</sub>Cl unter Beigabe von CaCO<sub>3</sub> gaben ähnliche Ergebnisse.

<sup>1)</sup> Physiol. Ges. zu Berlin, Sitzung am 2. III. 1917, Berl. klin. Wochenschr. 28, 1917.

Mit menschlichem Harn konnten wir es wegen der geringen Aufnahme desselben nicht zu einer positiven N-Bilanz bringen.<sup>4</sup>

Die Ammoniakzufuhr hatte hier also bei einem allerdings wesentlich höheren Gehalt der Ration an verdaulichem Stickstoff, eine erheblich höhere Stickstoffretention erzielen lassen als die Eiweißzufuhr in Form von Kleemehl. Ferner hatte das Ammoniak die Verdauungsdepressionen der stickstofffreien Nährstoffe des Holzes wesentlich vermindert. Es wirkte hier also ebenso wie es für eine stärkere Eiweißzufuhr seit langem bekannt und für die Amidstoffe von mehreren Forschern bei Versuchen an Wiederkäuern nachgewiesen worden war.

Bei meinen nachstehend mitgeteilten Versuchen an Schafen wählte ich als stickstoffhaltige Nährstoffquelle eines der am einfachsten konstituierten Amide, das Amid der Kohlensäure, den Harnstoff, und zwar einmal aus theoretischem Interesse und ferner im Hinblick auf seine eventuelle praktische Bedeutung als Futtermittel. Der Harnstoff wird jetzt nämlich in großen Mengen auf synthetischem Wege hergestellt, sodaß seine Verwendung als Eiweißersatz für Wiederkäuer wohl in Betracht gezogen werden könnte, sofern derselbe den stickstoffhaltigen Nährstoffen zuzurechnen wäre. Harnstoff kann als ausschließliche Stickstoffquelle sowohl zur Ernährung von Mikroorganismen als auch höherer Pflanzen dienen<sup>1)</sup>. Über sein Verhalten und seine Verwertung im tierischen Organismus liegen eine Anzahl Untersuchungen vor. E. Voit<sup>2)</sup> fand in Versuchen an Hunden den Harnstoff nahezu quantitativ im Harn wieder, der Harnstoff verhielt sich also hier in bezug auf die Erhaltung und Vermehrung des Eiweißbestandes im Tierkörper indifferent. Unter den von Voit gewählten Versuchsbedingungen, die ein anderes Problem zum Gegenstand hatten, konnte übrigens die Frage nach dem Wert des Harnstoffes als Eiweißersatzmittel nicht entschieden werden. Die Hunde erhielten Fleischmengen, die zur Deckung ihres Eiweißbedarfes mehr als ausreichten, und auch eine Eiweißzulage an Stelle des Harnstoffes hätte zu einer dem Stickstoffgehalt des Eiweißes entsprechenden Mehrausscheidung an Harnstoff durch die Nieren geführt.

Ebensowenig hatten die Versuche Janneys<sup>3)</sup> zum Ziel eine etwaige Wirkung des Harnstoffes als eines stickstoffhaltigen Nährstoffs festzustellen. N. Janney experimentierte am Menschen. Die Harnstoffzufuhr betrug 20 g pro Tag; daneben wurden 30 bzw. 40 g Natrium bicarbonicum

---

<sup>1)</sup> Die Literatur siehe unter Th. Bokorny, Notizen über Harnstoff und einige andere N-Quellen der grünen Pflanzen. *Aroh. f. d. ges. Physiol.* 172, 466 bis 496, 1918.

<sup>2)</sup> C. Voit: Untersuchungen über die Ausscheidungswege der stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte aus dem tierischen Organismus. *Zeitschr. f. Biol.* 2, 50, 1866.

<sup>3)</sup> N. Janney, Die Ammoniakausscheidung im menschlichen Harn bei Zufuhr von Harnstoff und Natron. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 76, 99 bis 135, 1911/12.



gegeben. Der Autor zog aus seinen Versuchsergebnissen den Schluß, „daß per os eingeführter Harnstoff beim Menschen einen gesteigerten Eiweißumsatz oder eine Ausschwemmung stickstoffhaltiger Körper hervorrufen könne.“

E. Heilner<sup>1)</sup> injizierte hungernden männlichen Kaninchen subcutan Harnstoff teils zusammen mit Kochsalz, teils in destilliertem Wasser allein gelöst. Nach den Harnstoffinjektionen mit Kochsalz wurde die N-Ausscheidung im Harn sehr erheblich gesteigert und zwar weit stärker als dem Stickstoffgehalt des injizierten Harnstoffs entsprach. Die Tiere zersetzten also erhebliche Eiweißmengen aus ihrem Körperbestande. Das war jedoch nicht der Fall, wenn nur Harnstofflösungen injiziert wurden. Der Verfasser nimmt jedoch auch hier eine Steigerung der Eiweißzersetzung infolge der Harnstoffzufuhr an, die nur durch die Wirkung des destillierten Wassers kompensiert würde, das für sich allein injiziert eine erhebliche Senkung des Eiweißumsatzes zur Folge hätte.

E. Grafe und K. Turban<sup>2)</sup> führten ihre Versuche an Hunden und an Schweinen durch. In 5tägigen Perioden verloren die Tiere ohne Harnstoffzufuhr Stickstoff von ihrem Körperbestande, bei Harnstoffzufuhr blieben sie dagegen im Stickstoffgleichgewicht. Abderhalden und seine Mitarbeiter<sup>3)</sup> konnten in Versuchen mit Harnstoff an Schweinen dagegen keine Stickstoffretentionen erzielen. Wiederholte langfristige Versuche von Grafe an Schweinen, die Harnstoff neben Eiweiß, dessen Menge ca. 50 bis 70% der Abnutzungsquote betrug, als Zulage zu kohlenhydratreicher Nahrung erhielten, bestätigten seine früheren Befunde und führten den Autor zu der Behauptung, „daß es sich bei den mit Ammoniaksalzen und Harnstoff erzielten dauernden Stickstoffretentionen um Ansatz eiweißreicher Substanzen handelt“<sup>4)</sup>. Weitere umfassende Versuche E. Abderhaldens<sup>5)</sup> lassen sich im Sinne der Grafeschen Schlußfolgerungen nicht deuten. Nach Abderhalden<sup>6)</sup> spricht zur Zeit sehr viel

<sup>1)</sup> E. Heilner, Über die steigernde Wirkung des subcutan eingeführten Harnstoffs auf den Eiweißstoffwechsel. *Zeitschr. f. Biol.* 52, 216 bis 235, 1909.

<sup>2)</sup> E. Grafe und K. Turban, Über Stickstoffretentionen bei Fütterung von Harnstoff. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 83, 24 bis 44, 1913.

<sup>3)</sup> E. Abderhalden und P. Hirsch, fortgesetzte Untersuchungen über die synthetischen Fähigkeiten der tierischen Zelle, Versuche über die Verwertung verschiedener Stickstoffquellen im Organismus des Hundes. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 82, 1, 1912. — E. Abderhalden und Ed. Lampé, ebenda 82, 21, 1912 und 84, 218, 1913.

<sup>4)</sup> E. Grafe, Beiträge zur Kenntnis der Art der Stickstoffretentionen bei Fütterung von Ammoniaksalzen und Harnstoff. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 38, 402, 1913.

<sup>5)</sup> E. Abderhalden, *Lehrbuch d. physiol. Chem.*, 3. Auflage, II. Teil, S. 1207 Anmerkung.

<sup>6)</sup> E. Abderhalden, Weitere Studien über den Stickstoffwechsel usw. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 96, 1 bis 147, 1915/16.

mehr dafür „daß die Ammonsalze und der Harnstoff keine direkte Verwendung im Zellstoffwechsel zur Bildung von Aminosäuren gefunden haben.

Es erschien von besonderem Interesse, die Frage nach der Verwertung des Harnstoffs am Wiederkäuer zu untersuchen. Der Harnstoff ist bekanntlich eine ausgezeichnete N-haltige Nährstoffquelle für die verschiedensten Mikroorganismen. Da die Bakterientätigkeit im Verdauungsapparat der Wiederkäuer eine ungleich bedeutsamere Rolle für die Verwertung der Nahrung besitzt als bei allen anderen Tierspezies, wurden Schafe als Versuchstiere gewählt. Die folgenden Versuche habe ich unter Mitwirkung der Damen Fräulein Lydia Schlüter und Gabriele Przybylla, sowie der Herren Hermann Lüders, Hermann Jantzon und Carl Fredholm ausgeführt. Herr Dr. W. Dietrich, Oberassistent an der ernährungsphysiologischen Abteilung, hat mich bei der Berechnung und Zusammenstellung des analytischen Materials unterstützt. Zunächst gelangte eine 22tägige Periode (nach 12tägiger Vorfütterung ein 10tägiger Bilanzversuch) an einem ausgewachsenen Hammel zur Durchführung. Zu Beginn der Vorfütterungsperiode wog das Tier 41,0 kg, zu Beginn der Hauptperiode 39,9 kg. Das Futtergemisch setzte sich aus 500 g Haferstrohhäcksel, 400 g Melasse, 150 g gekochter Kartoffelstärke und 30 g Harnstoff zusammen.

Die Harnstoffgaben wurden absichtlich so hoch bemessen, weil Versuche am Wiederkäuer über Harnstofftoleranz nicht vorlagen, und weil man, die Verwertung des Harnstoffs durch den Tierkörper vorausgesetzt, bei der Aufstellung von Futterationen bei bestimmten tierischen Leistungen (z. B. bei der Milchproduktion, bei der Fleischmast usw.) mit hohen Harnstoffgaben zu rechnen hatte. Die in den nachstehend mitgeteilten Versuchen für den Eiweißansatz aus Harnstoff beobachteten Werte wären vielleicht auch mit wesentlich geringeren Harnstoffdosen erzielt worden. Es sei schon jetzt darauf hingewiesen, daß bei den langfristigen Versuchen keinerlei nachteilige Wirkungen durch die Verfütterung von täglich 30 g Harnstoff beobachtet wurden. Melasse wurde wegen ihrer durch den hohen Zuckergehalt bedingten appetitanregenden Wirkung verabreicht. Überdies sind wir auf Grund früherer

Versuche<sup>1)</sup> an Wiederkäuern über die Verwertung der Melasse im Gemisch mit Strohhäcksel gut unterrichtet.

Die während des ersten Versuchs verabreichten Futtermittel hatten folgende Zusammensetzung:

	Trockensubstanz %	Asche %	Organische Substanz %	Rohprotein %	Reineiweiß %	Amide %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Ex- traktstoffe	Calorien in 100 g
Melasse . . .	75,53	6,63	68,90	10,31	1,88	8,43	—	—	58,59	302,86
Kartoffel- stärke . . .	87,25	0,78	86,47	0,32	0,32 <sup>2)</sup>	—	—	—	86,15	364,13
Harnstoff . .	98,82	—	98,82	46,60	—	—	—	—	—	25,14
Haferstroh- häcksel . . .	82,18	6,26	75,92	5,13	4,40	0,73	2,13	36,84	31,82	361,3

Über die Nahrungsaufnahme und über die Versuchsergebnisse unterrichten die nachstehenden Tabellen. Bemerkst sei noch, daß der N-Gehalt der Faeces in der frischen Substanz bestimmt wurde. Die Futter- und Kotanalysen erfolgten nach der Weender Methode. Der Gehalt des Kotes an Seifenfett wurde ebenfalls ermittelt und in Rechnung gestellt. Das Reineiweiß wurde nach Barnstein bestimmt. Um möglichst zuverlässige Daten bezüglich der Verwertung des Harnstoffes als N-haltiger Nährstoffquelle für den Wiederkäuer zu erhalten, mußte der Eiweißgehalt des Grundfutters möglichst niedrig bemessen werden. Die Harnstoffzufuhr wurde auf 30 g pro Tag festgesetzt. Es handelte sich um synthetischen Harnstoff (Basfuro) der badischen Anilin- und Sodafabrik.

Die Stickstoffbilanzen enthält die nachstehende Übersicht:

<sup>1)</sup> W. Völtz, W. Dietrich und A. Deutschland, Die Verwertung der Melasseamide im Vergleich zum Eiweiß durch den Organismus des Wiederkäuers. Landwirtschaftliche Jahrb. 52, 431 bis 455, 1919.

<sup>2)</sup> Dieser Wert ist zu hoch. Im Hinblick auf den sehr geringen Stickstoffgehalt der Stärke wurde der Gehalt an Reineiweiß nicht bestimmt.

Tabelle I.

Der Hammel verzehrte vom 11. V. 1918 ab täglich:

500 g Haferstrohhäcksel mit 410,90 g Trockensubst.	4,10 g N	und 1806,5 Cal
400 g Melasse . . . . .	302,12 g	" 6,60 g N " 1211,4 "
150 g Stärke . . . . .	130,88 g	" 0,05 g N " 546,2 "
30 g Harnstoff . . . . .	29,66 g	" 13,98 g N " 75,4 "
873,56 g Trockensubst. 24,73 g N und 3639,5 Cal		

Datum 1918	Stickstoffausscheidung			N-Ansatz g	Gewicht des Tieres kg	Gewicht d. frischen Kotes g
	im Harn g	im Kot g	Summa g			
23. V.	13,10	7,21	20,31	4,42	39,90	495,7
24.	15,51	7,21	22,72	2,01	—	747,7
25.	15,83	7,21	23,04	1,69	—	874,2
26.	17,07	7,21	24,28	0,45	—	892,4
27.	16,78	7,21	23,99	0,74	—	1024,0
28.	15,57	7,21	22,78	1,95	—	975,5
29.	14,67	7,21	21,88	2,85	—	914,6
30.	15,47	7,21	22,68	2,05	—	801,4
31.	15,65	7,21	22,86	1,87	—	895,3
1. VI.	14,24	7,21	21,45	3,28	40,16	812,2
Mittel:	15,39	7,21	22,60	2,13	40,03	843,3
% d. Zuf.:	62,2	29,2	91,4	8,6		

Der Futterstickstoff wurde also zu 70,8% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,618 g N, davon 0,438 g N resorbierbar, und 90,99 Rohcalorien.

Bei dieser Fütterung setzte sich der Hammel also nicht nur in das Stickstoffgleichgewicht, sondern er retinierte täglich im Mittel 2,13 g N. Für den Zuwachs an Wolle werden für ein 40 kg schweres Merinokammwollschaf täglich ungefähr 0,8 g N<sup>1)</sup> und an anderen Epidermoidalgebilden (Klauen, Haut-epithelien usw.) vielleicht 0,1 g N benötigt, so daß hier also noch ca. 1,2 g N als Fleisch angesetzt wurden. Ein größerer Stickstoffansatz hätte auch bei eiweißreicher Ernährung nicht stattgefunden, weil der erwachsene tierische Organismus außer vorübergehend unter bestimmten Bedingungen, die hier nicht vorlagen, bekanntlich kein Eiweiß mehr ansetzt.

Über den Gehalt des Futters und der Faeces an Einzelbestandteilen, darunter auch Reineiweiß und Amidsubstanzen,

<sup>1)</sup> W. Völtz: Über die Verwertung des Amidgemisches der Melasse durch den Wiederkäuer. Arch. f. d. ges. Physiol. 117, 561, 1907.

unterrichtet die nachstehende Tabelle II. Der Kot der vorliegenden Harnstoffperiode wog im Mittel pro Tag lufttrocken 264 g und enthielt in Prozenten:

Tabelle II.

Trocken- substanz	Asche	Orga- nische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Calorien
94,80	11,82	82,98	17,00	3,60	17,71	44,67	—

Die folgende Tabelle III enthält die Verdauungswerte für die vorliegende Harnstoffperiode.

Tabelle III.

Einnahme	Trocken- substanz	Organi- sche Sub- stanz	Roh- protein	Rein- eiweiß	Amid- stoffe	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Calorien
500 g Hafer- strohhäcksel	410,90	379,60	25,65	22,00	3,65	10,65	184,20	159,10	1806,5
400 g Melasse	302,12	275,60	41,24	7,52	33,72	—	—	234,36	1211,4
150 g Stärke .	130,88	129,71	0,48	0,48	—	—	—	129,23	546,2
30 g Harn- stoff . . . .	29,56	29,56	29,56	—	29,56	—	—	—	75,4
Summa . . . .	873,46	814,47	96,93	30,00	66,93	10,65	184,20	522,69	3639,5
Der Kot ent- hielt . . . .	250,27	219,06	44,88	37,62	7,26	9,50	46,75	117,93	
also resorbiert									
g . . . . .	623,19	595,41	52,05	—7,62	59,67	1,15	137,45	404,76	
% . . . . .	71,3	73,1	53,7 <sup>1)</sup>	—25,4	89,2 <sup>2)</sup>	10,9	74,6	77,4	

Nach der vorstehenden Tabelle III enthielt das Futter 30,0 g Reineiweiß und 66,93 g Amidstoffe. Befremdend er-

<sup>1)</sup> Diese Zahl für die Resorption des Rohproteins ist deshalb falsch, weil der Harnstoffstickstoff unmöglich mit der Zahl 6,25 multipliziert werden konnte; es würde sich dann nämlich ein Rohproteingehalt des Harnstoffs von 87,37 g berechnen. In Wirklichkeit wurden aber nur 29,56 g Harnstofftrockensubstanz verfüttert. Maßgebend ist die für die Stickstoffresorption des Gesamtfutters ermittelte Zahl 70,8% (siehe Tabelle I).

<sup>2)</sup> Auch diese Zahl für die Resorption der Amidstoffe trifft aus dem (in der Anm. 1) angeführten Grunde nicht zu; in Wirklichkeit wurde der Amidstickstoff des Gesamtfutters zu 94,2% resorbiert.

scheint zunächst die Tatsache, daß für das Reineiweiß eine Minusverdauung von 25,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ermittelt wurde. Der Kot enthielt also um 25,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> mehr an Reineiweiß als das verzehrte Futter. Die Erklärung für diesen scheinbar paradoxen Befund hat der Verfasser vor längerer Zeit erbracht<sup>1)</sup>. Der höhere Eiweißgehalt der Faeces im Vergleich zu der Nahrung ist im wesentlichen dadurch bedingt, daß im Verdauungstraktus des Wiederkäuers aus den Amidsubstanzen des Futters große Mengen Bakterieneiweiß gebildet und zum Teil unverdaut mit den Faeces abgesetzt werden. In Übereinstimmung mit dem Ergebnis der vorliegenden Harnstoffperiode hatte der Verfasser in einem früheren Ausnutzungsversuch mit Strohhäckselmelasse (l. c.) an einem Hammel 21,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub> und in einem zweiten<sup>2)</sup>, der in Gemeinschaft mit Dr. A. Deutschland unter im wesentlichen gleichen Versuchsbedingungen ausgeführt wurde, 21,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> mehr an Reineiweiß in den Faeces gefunden, als das Futter hieran enthielt.

Um nun die Verwertung des Harnstoffs für die Erhaltung und Vermehrung des Eiweißbestandes im Tierkörper zu ermitteln, war festzustellen, wieviel Prozent des Stickstoffs der Melasse und des Strohhäckfels einerseits und des Harnstoffs andererseits resorbiert wurden. Nach einem früheren Versuch an demselben Hammel, der das gleiche Melassestrohhäcksel in einem nur unwesentlich abweichenden Mischungsverhältnis (600 g Haferstrohhäcksel und 500 g Melasse erhielt, wurde der Stickstoff dieses Futtergemisches zu 33,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> resorbiert. Setzen wir diesen Verdauungswert ein und nehmen die kleinen in der Kartoffelstärke enthaltenen Stickstoffmengen von 0,05 g als vollständig verdaulich an, so enthielte unser Futtergemisch, abgesehen von Harnstoff, 3,61 g resorbierbaren Stickstoff, das ist 0,091 g verdaulicher Stickstoff pro 1 kg Lebendgewicht und Tag. Nach den früheren Feststellungen (l. c.) sind jedoch zum mindesten 0,16 g resorbierbarer Stickstoff in Form von Strohhäckselmelasse erforderlich, um das Stickstoffgleichgewicht beim erwachsenen Schaf zu erreichen. Das sind um rund 77,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

<sup>1)</sup> W. Völtz: Über die Verwertung des Amidgemisches der Melasse durch den Wiederkäuer. Arch. f. d. ges. Physiol. 117, 541 bis 563. 1907.

<sup>2)</sup> Siehe die Anmerkung 1 auf S. 156.

mehr, als das Futter, abgesehen vom Harnstoff, in der vorliegenden Periode an verdaulichem Stickstoff enthielt. Die positive Stickstoffbilanz in der vorliegenden Harnstoffperiode kann also nur dadurch zustande gekommen sein, daß der Harnstoff in einem gewissen Umfange für die Erhaltung des Körperbestandes an Eiweiß in Anspruch genommen wurde. Wahrscheinlich wäre derselbe Effekt auf die N-Bilanz auch mit einer geringeren Harnstoffmenge erzielt worden als sie hier verabreicht worden ist.

Der günstige Ausfall des mitgeteilten Versuches hinsichtlich der Verwertung des Harnstoffs an Stelle anderer stickstoffhaltiger Nährstoffe, bestimmte mich, bei den nachstehend mitgeteilten Untersuchungen den Tieren Harnstoff als ausschließliche Stickstoffquelle zu verabreichen. Um die Möglichkeit eines wirklichen Fleischansatzes zu schaffen, wurden wachsende Tiere, ca.  $\frac{3}{4}$  Jahre alte, etwa 30 kg schwere Hammellämmer der Merinokammwollrasse eingestellt. Außer der Feststellung des Nährwertes vom Harnstoff sollte gleichzeitig der Futterwert des nach dem Verfahren von Prof. Dr. E. Beckmann, Direktor des Kaiser-Wilhelm-Instituts für Chemie zu Dahlem, aufgeschlossenen Roggenstrohes und der Roggenspreu bestimmt werden. Die Beckmannsche Methode der Strohaufschließung besteht bekanntlich im Prinzip darin, daß gehäckseltes Stroh mit der 8fachen Menge 1,5%iger Natronlauge bei gewöhnlicher Außentemperatur gemischt und nach verschiedenen Zeiten (ca. 3 bis 72 Stunden) durch Waschen von dem Natriumhydroxyd und den von demselben gelösten Stoffen (Cutin und Lignin) befreit wird. Das für die Ausnutzungsversuche bestimmte aufgeschlossene Stroh, bzw. die Spreu, wurden auf Horden bei ca. 50° getrocknet.

Zu den Versuchen dienten die Hammellämmer Nr. 1, 2, 3 und 4.

Zunächst erhielten die Tiere Nr. 1 und 2 in den Perioden I und Ia pro Kopf und Tag 500 g 18 Stunden nach Beckmann aufgeschlossene Roggenspreu, 100 g Kartoffelstärke, 100 g Rohrzucker, 30 g Harnstoff und 19,2 g eines Salzgemisches, über dessen Zusammensetzung nachstehend Näheres mitgeteilt wird.

Zum Kochen der Kartoffelstärke wurden 1200 ccm Wasser verwendet. Dem Stärkekleister wurden der Zucker, der Harn-

stoff und die Nährsalze untermischt. Der so erhaltene Brei wurde mit der Tagesgabe an aufgeschlossener Spreu bzw. Stroh sorgfältig verrührt. Das Futtermisch wurde den Tieren täglich 2 mal (je zur Hälfte) vorgesetzt. Auf die Verabreichung von vitaminreichen Futterstoffen wurde unter der Annahme verzichtet, daß der Bedarf des Organismus hieran durch die wahrscheinlich in den verdauten Bakterien enthaltenen Vitamine gedeckt werden dürfte. Hammel Nr. 1 verzehrte die Ration vom ersten Tage ab restlos. Weitere Versuche mit Harnstoff als ausschließlicher Stickstoffquelle konnten an dem Tier fortlaufend glatt durchgeführt werden, über die die folgende Tabelle IV das Nähere enthält:

Tabelle IV.  
Bestandteile des täglich verzehrten Futters:

Pe- riode  Nr.	Dauer der		Sa.  Tage	Aufgeschlos- sene Spreu bzw. aufge- schlossenes Stroh  g	Kar- toffel- stärke  g	Rohr- zucker  g	Harn- stoff  g	Salz- ge- misch  g
	Vor- fütte- rung  Tage	Haupt- pe- riode  Tage						
I	9	8	17	500 g Roggen- spreu <sup>1)</sup>	100,00	100	30	19,20
II	7	19	26	625 g Roggen- spreu <sup>1)</sup>	125,00	125	30	35,80
III	13	12	25	625 g Roggen- stroh <sup>2)</sup>	125,00	125	30	30,20
IV	8	10	18	625 g Roggen- stroh <sup>3)</sup>	125,00	125	30	30,20
V	12	10	22	625 g Roggen- spreu <sup>4)</sup>	123,38	125	30	30,20
VI	14	10	24	625 g Roggen- stroh <sup>5)</sup>	122,30	125	30	30,20
VII	12	11	23	625 g Roggen- stroh <sup>5)</sup>	222,30	125	30	75,70

Hammel Nr. 2 nahm dagegen an den 2 ersten Tagen nur je eine halbe Ration auf, vom 3. Tage ab (23. X. 1918) verzehrte er die volle Gabe wie Hammel Nr. 1, wenn auch mit wesentlich geringerer Freßlust. Jedenfalls konnte die Periode Ia

<sup>1)</sup> 18 Stunden aufgeschlossen.

<sup>2)</sup> 24 Stunden aufgeschlossen.

<sup>3)</sup> 12 Stunden aufgeschlossen.

<sup>4)</sup> 3 Stunden aufgeschlossen.

<sup>5)</sup> 72 Stunden aufgeschlossen.



ohne Störungen durchgeführt werden. Später ließ die Freßlust des Tieres stark nach, weshalb die Versuche an demselben abgebrochen wurden. In sämtlichen Harnstoffperioden wurde die Stärke vollkommen verdaut. Dieselbe ließ sich im Kot niemals mikroskopisch nachweisen.

• Nach allen Erfahrungen enthält das aufgeschlossene Stroh und die Spreu keinen resorbierbaren Stickstoff mehr. Um aber diesbezüglichen Einwänden zu begegnen, wurde an dem Hammel Nr. 3 ein Versuch durchgeführt (Periode IIa), in dem derselbe nur aufgeschlossene Spreu, Stärke, Zucker und Mineralstoffe, dagegen weder Harnstoff noch eine andere stickstoffhaltige Substanz erhielt. Er nahm allerdings im Mittel des 19tägigen Versuchs nur 57,9<sup>0</sup>/<sub>10</sub> der ihm zgedachten Ration auf. Der tägliche Futtermittelverzehr betrug 362 g Roggenspreu, 72,4 g Stärke, 72,4 g Zucker und 17,5 g Salze. Der Kot enthielt 37,8<sup>0</sup>/<sub>10</sub> mehr an Stickstoff bzw. 11,6<sup>0</sup>/<sub>10</sub> mehr an Reineiweiß als das Futter, so daß also der Stickstoff der Nahrung nicht nur unverdaulich war, sondern sogar einen negativen Verdauungswert<sup>1)</sup> hatte. Demnach waren die Tiere in sämtlichen Harnstoffversuchen hinsichtlich ihrer Versorgung mit Stickstoff ausschließlich auf den Harnstoff angewiesen. (Die minimalen, im Zucker und in der Stärke enthaltenen Stickstoffmengen können außer Betracht bleiben.)

### Die Mineralstoffzufuhr.

In den Perioden I und Ia erhielten die Hammellämmer Nr. 1 und Nr. 2 pro Kopf und Tag folgende Salze:

5 g Kochsalz, 4 g Natriumphosphat, 5 g kohlensauen Kalk,  
4 g Kaliumsulfat, 1 g Magnesiumoxyd und 0,2 g Eisenoxyd.

Auf den sehr geringen Bedarf des Organismus an Jod und Fluor wurde bei der Zusammenstellung des Salzgemisches keine Rücksicht genommen. In der 26 tägigen Periode II (Hammel Nr. 1) wurde zunächst 5 Tage lang um ein Viertel mehr von dem Salzgemisch gereicht (rund 25 g gegenüber 19 g in den Perioden I und Ia). Da die Faeces zum Teil nicht mehr geformt abgesetzt wurden, sondern in einem gewissen

---

<sup>1)</sup> Außer dem vollständig unverdaulichen Spreustickstoff enthielt der Kot stickstoffhaltige Gallen- und Darmsekrete.

Umfange dickbreiig waren, so daß die Vermutung einer Darmreizung bestand, wurde vom 6. Versuchstage die Tagesgabe an kohlen saurem Kalk mit gutem Erfolg um 10 g erhöht. Ferner war es zweifelhaft, ob das Tier seinen Schwefelbedarf für etwaige Eiweißsynthesen aus der Nahrung decken konnte. Da die tierischen Zellen Sulfate nicht zu reduzieren vermögen, können sie den Sulfatschwefel nicht ausnutzen. Wohl aber kommen Sulfate als Schwefelquellen für Mikroorganismen in Betracht. Da es fraglich erschien, ob der in Bakterieneiweiß übergeführte Schwefel aus dem Kaliumsulfat zur Deckung des Bedarfes für den Tierkörper ausreichte, wurden dem Salzgemisch 3 g Kaliumsulfid (Schwefelleber) pro Tag zugefügt. Diese Menge schien jedoch nicht unschädlich für das Tier zu sein, da der Stickstoffgehalt des Harnes besonders in den letzten Tagen der Periode nicht unerheblich anstieg. Aus diesem Grunde wurde bei den folgenden Versuchen die tägliche Kaliumsulfidgabe auf 1 g reduziert. Ob der tierische Organismus den Schwefel direkt aus Sulfiden zu verwerten vermag, ist einstweilen nicht bekannt. Die folgenden Versuche beweisen wie wir sehen werden, jedenfalls, daß die benutzten Schwefelquellen zu Eiweißsynthesen durch den Wiederkäuer verwertet worden sind. Ob das ausschließlich infolge der Symbiose mit Mikroorganismen, also auf dem Umwege der Synthese des anorganischen Schwefels zu dem Cystinschwefel des Bakterieneiweißes möglich ist, muß einstweilen dahingestellt bleiben. Demnach betrug die Salzzufuhr in der Periode II im Mittel pro Kopf und Tag:

Vom 1. bis 5. Tag:

6,25 g Kochsalz,  
5,00 g Natriumphosphat,  
6,25 g Calciumcarbonat,  
5,00 g Kaliumsulfat,  
1,25 g Magnesiumoxyd,  
und 0,20 g Eisenoxyd.

Vom 6. bis 14. Tag:

6,25 g Kochsalz,  
5,00 g Natriumphosphat,  
16,25 g Calciumcarbonat,  
5,00 g Kaliumsulfat,  
1,25 g Magnesiumoxyd,  
und 0,20 g Eisenoxyd.

Vom 14. bis 26. Tag:

6,25 g Kochsalz,  
 5,00 g Natriumphosphat,  
 16,25 g Calciumcarbonat,  
 5,00 g Kaliumsulfat,  
 1,25 g Magnesiumoxyd,  
 3,00 g Kaliumsulfid (Schwefelleber),  
 und 0,20 g Eisenoxyd.

### Perioden III bis VI.

Von der III. Periode ab wurde die Menge des täglich im späteren Verlauf der II. Periode verfütterten Salzgemisches von 38,75 g auf 30,20 g gekürzt. Es setzte sich nunmehr, und auch für die späteren Perioden IV, V und VI, wie folgt zusammen:

15 g Calciumcarbonat,  
 5 g Kochsalz,  
 4 g Natriumphosphat,  
 4 g Kaliumsulfat,  
 1 g Magnesiumoxyd,  
 1 g Kaliumsulfid,  
 und 0,2 g Eisenoxyd.

Summa: 30,2 g

Da die Versuche noch längere Zeit fortgesetzt werden sollten, wurden die bisher verabreichten Mineralstoffgaben nochmals auf die Zweckmäßigkeit ihrer Zusammensetzung im Hinblick auf den Bedarf der Tiere geprüft. Über die von dem tierischen Organismus benötigten Mineralstoffmengen wissen wir bekanntlich einstweilen sehr wenig. Als Maßstab für die Zusammensetzung der zu verabreichenden Salzgemische kann daher vorläufig nur der Gehalt bewährter Rationen an anorganischen Bestandteilen dienen, ein Weg, den auch N. Zuntz<sup>1)</sup> beschritten hat. Zuntz hat den Salzgehalt von 21 von Kellner für Milchkühe aufgestellten Futterrationen berechnet. Im Durchschnitt erhielten die Tiere pro 1000 kg Lebendgewicht und Tag folgende Salzgaben:

---

<sup>1)</sup> N. Zuntz, Physiologische Bedeutung des nach Witterung und Boden wechselnden Mineralgehaltes der Futtermittel. Jahrb. d. Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft 27, II. Lfg., 570 bis 594, 1912.

K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	CaO	MgO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SO <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	Cl
345,3 g	57,5 g	168,8 g	83,3 g	168,5 g	49,1 g	452 g	35,2 g

Die Berechnung mehrerer Futterkompositionen Kellners für Schafe führte mich zu ähnlichen Ergebnissen. Für ein Lebendgewicht des Hammels von 35 kg berechnet sich folgender Mineralstoffbedarf:

K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	CaO	MgO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SO <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	Cl
12,06 g	2,02 g	5,9 g	2,91 g	5,9 g	1,71 g	15,9 g	1,23 g

Diese Mineralstoffe sind etwa in folgendem Salzmisch enthalten:

4 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	9,6 g CaCO <sub>3</sub>
1 g K <sub>2</sub> S	2,5 g MgO
1 g MgCl <sub>2</sub> + 6 aq.	5,0 g KCl
1 g CaCl <sub>2</sub>	10,0 g CH <sub>3</sub> COOK
29,7 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + 12 aq.	

Um den Basenüberschuß noch zu erhöhen, wurde die CaCO<sub>3</sub>-Gabe auf 15 g festgesetzt, außerdem wurden 5 g Kochsalz und 0,2 g FeCl<sub>3</sub> gegeben. Das Tier erhielt also vom 7. Versuch ab täglich:

15 g CaCO <sub>3</sub>	4 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
30 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + 12 aq.	2,5 g MgO
10 g CH <sub>3</sub> COOK	2 g MgCl <sub>2</sub> + 6 aq.
5 g KCl	1 g Kaliumsulfid (Schwefelleber)
5 g NaCl	1 g CaCl <sub>2</sub>
	0,2 g FeCl <sub>3</sub>

Der Basenüberschuß aus dem Calciumcarbonat, Kaliumacetat (da die Essigsäure im Organismus verbrennt) und Magnesiumoxyd beträgt in diesem Gemisch 15,7 g.

Bezüglich der Versuchsanstellung kann auf frühere Veröffentlichungen verwiesen werden. Der Stickstoffgehalt der Faeces wurde wie immer in der frischen Substanz bestimmt, ebenso wurde der Gehalt des Kotes an Seifenfett ermittelt und in Rechnung gestellt.

Mit den Faeces und den Harnen zweier Perioden (IIa und III) wurden calorimetrische Bestimmungen ausgeführt, um den Energieumsatz festzustellen.

Die Daten über die prozentische Zusammensetzung der Futtermittel enthält die folgende Tabelle Nr. V.

Tabelle  
Prozentische Zusammen

	3 Stunden aufgeschloss. Roggenspreu	18 Stunden aufgeschloss. Roggenspreu	12 Stunden aufgeschloss. Roggensstroh	24 Stunden aufgeschloss. Roggensstroh	72 Stunden aufgeschloss. Roggensstroh	Mineralhefe
Trockensubstanz . . . . .	86,33	89,21	86,94	90,62 <sup>1)</sup>	94,05 <sup>2)</sup>	84,95
Asche . . . . .	6,50	5,32	5,27	6,47	5,00	9,59
Organische Substanz . . . . .	79,83	83,89	81,67	84,15	89,05	75,36
Rohprotein (N × 6,25) . . . . .	4,03	3,96	3,16	3,02	2,06	43,00
Rohfett . . . . .	1,95	2,20	2,01	2,28	1,81	5,37
Rohfaser . . . . .	38,21	44,60	40,11	45,48	49,65	—
Stickstofffreie Extraktstoffe . . . . .	35,64	33,13	36,39	33,37	35,53	26,99
Reineiweiß . . . . .	—	—	—	—	—	38,85
Calorien in 100 g <sup>3)</sup> . . . . .	398,20	384,50	385,20	388,10	405,70	—

Es folgt nun die Besprechung der ausgeführten Versuche.

Die Daten über die Nährstoffzufuhr, die N-Bilanzen und die Verdaulichkeit der Nährstoffe in der Periode I enthalten die Tabellen VI und VII.

Zu der Berechnung der Verdaulichkeit der Strohstoffnährstoffe ist folgendes zu bemerken. Für den Strohstoffstickstoff wurde nach den in den Perioden IIa und XI erhaltenen Werten eine Minusverdauung von 38,8% eingesetzt. (Die betr. Daten waren in Periode IIa — 37,8% und in Periode XI — 39,7%.) Die verfütterte gekochte Kartoffelstärke und der Zucker wurden zu 100% verdaut eingesetzt. Das entspricht auch den Befunden, daß sich Stärke im Kot niemals mikroskopisch (Jodfärbung) nachweisen ließ.

### Periode I.

Vom 21. X. 1918 bis 7. XI. 1918.

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 9 Tage, der Hauptversuch 8 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

500 g Strohstoff <sup>4)</sup>	mit 446,30 g Trockensubstanz und	3,175 g N
100 g Kartoffelstärke	" 82,53 g	" " 0,028 g "
100 g Zucker	" 99,91 g	" " — g "
30 g Harnstoff	" 29,66 g	" " 14,030 g "
19,20 g Salzgemisch	" 17,91 g	" " — g "

Summa: 676,31 g Trockensubstanz und 17,233 g N

<sup>1)</sup> Im Strohstoff direkt bestimmt, für Stärke, Zucker und Harnstoff berechnet.

<sup>2)</sup> Der Trockensubstanzgehalt betrug in den Perioden VIII und IX 85,10%, in Periode X 86,75% und in Periode XI 88,37%.

<sup>3)</sup> In Periode VII betrug der Trockensubstanzgehalt 91,95%.

<sup>4)</sup> 18 Stunden aufgeschlossene Roggenspreu.

V.  
setzung der Futtermittel.

Stärke I	Stärke II	Stärke III <sup>1)</sup>	Stärke IV <sup>1)</sup>	Zucker I	Zucker II	Zucker III	Stärke-Zucker	Harnstoff I	Harnstoff II	Harnstoff III
82,53	84,21	83,84	83,95	99,91	99,96	99,95	90,74	98,87	99,45	98,94
0,77	0,70	0,58	1,26	—	0,06	0,05	0,48	—	0,11	0,29
81,76	83,51	83,26	82,69	—	99,90	99,90	90,26	—	99,34	98,65
Stickstoff										
0,18	0,33	0,51	0,68	—	0,10	0,11	0,17	46,77	46,21	43,36
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
81,58	83,18	82,75	82,01	99,91	99,80	99,79	90,09	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
345,80	353,20	352,20	—	395,65	395,60	—	—	250,80	252,00	—

Das Gewicht des Hammels bei Beginn der Vorfütterung am 21. X. 1918 betrug 29,25 kg.

Tabelle VI.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr				
1918	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr			g	% der Zu- fuhr	g	ccm
30./31. X.	11,80	68,5	3,94	22,9	15,74	91,3	1,49	8,7	30,33	437,6	520	—
31. X./1. XI.	11,97	69,4	3,94	22,9	15,91	92,3	1,32	7,7	—	537,4	180	—
1./2. XI.	12,48	74,7	3,94	22,9	16,82	97,5	0,41	2,4	—	585,2	340	—
2./3.	12,73	73,8	3,94	22,9	16,67	96,7	0,56	3,3	—	580,3	490	11
3./4.	11,44	66,4	3,94	22,9	15,38	89,3	1,85	10,7	—	539,2	490	10
4./5.	10,71	62,1	3,94	22,9	14,65	85,0	2,58	15,0	—	490,3	540	11
5./6.	10,82	62,7	3,94	22,9	14,76	85,6	2,47	14,4	—	474,1	550	11,5
6./7.	10,72	62,1	3,94	22,9	14,66	85,0	2,57	15,0	30,23	560,7	400	12
Im Mittel:	11,63	67,5	3,94	22,9	15,57	90,4	1,66	9,6	29,94 <sup>2)</sup>	525,6	438,5	11,1

Das Rohprotein wurde also zu 77,1% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,44 g resorbierbaren Stickstoff.

<sup>1)</sup> Stärke II. Qualität.

<sup>2)</sup> Bei der Berechnung der Durchschnittsgewichte ist hier und in allen folgenden Perioden auch das Gewicht der Tiere zu Beginn der Vorfütterung mit einbezogen worden.

Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 57,6 g.

Der Harnstoff hat hier somit den Bedarf des Organismus für den Stickstoffumsatz gedeckt. Für den Zuwachs an Wolle dürfte das 31 kg schwere Tier täglich etwa 0,6 g N (s. S. 157) benötigen, für die übrigen Epidermoidalgebilde vielleicht 0,1 g, so daß etwa 1 g N zur Fleischbildung verwendet wurde.

Der in der vorliegenden Harnstoffperiode I vom Hammel Nr. 1 produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 175,68 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Or- ganische Sub- stanz	Roh- pro- tein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
92,72	21,62	71,10	14,01	4,40 <sup>1)</sup>	19,16	33,53	12,50

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- Substanz	Asche	Or- ganische Sub- stanz	Roh- pro- tein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
175,68	162,89	37,98	124,91	24,61	7,73	33,66	58,91	21,96

Tabelle VII.

	Trocken- substanz	Organische .Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	pro 100 kg Trocken- substanz
500 g aufgeschlossene Roggenspreu . .	446,05	419,45	19,80	11,00	223,00	165,65	19,80			
100 g Kartoffelstärke	82,53	81,76	0,18	—	—	81,58	0,18			
41,92 g Rohrzucker .	41,88	41,88	—	—	—	41,88	—			
30 g Harnstoff <sup>*)</sup> . .	29,66	29,66		—	—	—	—			
50,08 g Zucker . . .	58,03	58,03	} 87,69 <sup>2)</sup>		—	—	—			
19,2 g Salze . . . .	17,91	—	—	—	—	—	—			
<b>Summa:</b>	676,06	630,78	107,67	11,00	223,00	289,11	19,98	474,20	15,8	—
Der Kot enthielt . .	162,89	124,91	24,61	7,73	33,66	58,91	21,96			
Es wurden somit } g resorbiert } %	513,17	505,87	83,06	3,27	189,34	230,20	— 1,98			
Von den Nähr- stoffen der aufge- schloss. Spreu wur- den resorbiert } g } %	75,90	80,20	77,10	29,80	85,00	79,60	— 9,90			
	—	291,67	— 7,68	3,27	189,34	106,74	—	280,95	—	63,0
	—	69,50	— 38,80	29,80	84,40	64,40	—			

1) 3,03% freies Fett  
1,37% Seifenfett

4,40% Gesamtfett.

2) Der Harnstoff wird in den Vormägen des Wiederkäuers durch

Die Tabelle VII, S. 168, enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode I verzehrten Futters.

Das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß wäre hiernach vollständig verdaulich.

### Periode Ia.

(Parallelversuch zu Periode I.)

Vom 23. X. 1918 bis 9. XI. 1918.

Versuchstier: Hammel Nr. 2.

Die Vorfütterung dauerte 9 Tage, der Hauptversuch 8 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

500 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 446,30 g Trockensubstanz und 3,175 g N
100 g Kartoffelstärke	" 82,53 g " " 0,028 g "
100 g Zucker	" 99,91 g " " — g "
30 g Harnstoff	" 29,66 g " " 14,030 g "
19,2 g Salzgemisch	" 17,91 g " " — g "

Summa: 676,31 g Trockensubstanz und 17,233 g N

Das Tier wog bei Beginn der Vorfütterung am 23. X. 1918 33,03 kg.

### Tabelle VIII.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr				
1918	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	kg	g	ccm	°C
1./2. XI.	12,34	71,6	4,79	27,8	17,13	99,4	0,10	1,7	31,9	535,2	540	—
2./3.	11,48	68,2	4,79	27,8	16,27	94,4	0,96	5,6	—	542,0	840	11
3./4.	12,27	71,2	4,79	27,8	17,06	99,0	0,17	9,9	—	578,7	410	10
4./5.	11,26	65,3	4,79	27,8	16,05	93,1	1,18	6,8	—	583,7	540	11
5./6.	11,02	64,0	4,79	27,8	15,81	91,7	1,42	8,2	—	567,4	390	11,5
6./7.	10,80	62,7	4,79	27,8	15,59	90,5	1,64	9,5	—	576,3	485	12
7./8.	11,73	68,1	4,79	27,8	16,52	95,9	0,71	4,1	—	713,1	540	12
8./9.	11,24	65,2	4,79	27,8	16,03	93,0	1,20	1,0	30,3	694,0	—	12
Im Mittel:	11,52	66,8	4,79	27,8	16,31	94,6	0,92	5,4	31,7	598,8	535	11,3

die Bakterien zu Bakterieneiweiß synthetisiert (s. S. 217). Zu dieser Synthese sind Kohlenhydrate erforderlich. Das Bakterieneiweiß wird vom Darm zu einem hohen Prozentsatz resorbiert. Die zu der Eiweißsynthese aus Harnstoff erforderliche Kohlenhydratmenge (Harnstoffstickstoff  $\times 6,25$  abzüglich des Harnstoffgewichts) ist deshalb sowohl bei dem vorliegenden als auch bei allen folgenden Harnstoffversuchen eingesetzt worden.

<sup>1)</sup> 18 Stunden aufgeschlossene Roggenspreu.



Das Rohprotein wurde also zu 72,2% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,40 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtsabnahme betrug innerhalb der 17-tägigen Versuchszeit 160,5 g. Aus der Gewichtsabnahme ist nichts über den Verlust an Körpersubstanz zu schließen. Längere Zeit vor Beginn der Versuche waren die Hammellämmer nur mit Heu und Roggenstrohhäcksel ernährt worden. Dieses Futtermisch enthält also ungefähr 50% unverdauliche organische Substanz. Von dem in der vorliegenden Periode Ia verabreichten Futter waren dagegen nur 23,2% der organischen Substanz unverdaulich. Der Magendarmkanal mußte daher im Verlauf der Periode ballastärmer werden, was hier in der Gewichtsabnahme des Tieres zum Ausdruck kam. Die täglich retinierte N-Menge von 0,92 g reicht annähernd für den Zuwachs an Epidermoidalgebilden aus. Der Harnstoff hat auch in dieser Periode die Rolle des Nahrungseiweißes übernommen.

Der in der vorliegenden Harnstoff-Periode Ia vom Hammel Nr. 2 produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 194,62 g und enthält in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Or- ganische Sub- stanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
97,51	22,27	75,24	15,38	4,61 <sup>1)</sup>	14,51	40,74	12,94

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- Substanz	Asche	Or- ganische Sub- stanz	Roh- pro- tein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
194,62	189,77	43,34	146,43	24,93	8,97	28,24	79,29	25,18

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode Ia verzehrten Futters.

3,63% freies Fett
0,98% Seifenfett
<hr/>
4,61% Gesamtfett

Tabelle IX.

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht kg	pro 100 kg Trocken- substanz kg
500 g aufgeschlossene Roggenspreu . .	446,30	419,70	19,80	11,00	223,15	165,75	19,80			
100 g Kartoffelstärke	82,53	81,76	0,18	—	—	81,55	0,18			
41,92 g Rohrzucker .	41,88	41,88	—	—	—	41,88	—			
30 g Harnstoff <sup>1)</sup> . .	29,66	29,66		—	—	—	—			
58,08 g Zucker . . .	58,03	58,03		—	—	—	—			
19,2 g Salze . . . .	17,91	—	—	—	—	—	—			
Summa:	676,31	631,03	107,67	11,00	223,15	289,21	19,98	455,8	14,4	—
Der Kot enthielt . .	189,77	146,43	29,93	8,97	28,24	79,29	25,18			
Es wurden also } g	486,54	484,60	77,74	2,03	194,91	209,92	— 5,20			
resorbiert } %	71,9	76,8	72,8	18,5	87,4	72,6	— 26,0			
Von den Nähr- stoffen der aufge- schloss. Spreu wur- den resorbiert } g	—	75,71	— 7,69	2,03	194,91	86,46	—	261,7	—	58,7
	—	5,7	— 38,8	18,4	87,8	52,2	—			

Für das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß berechnet sich eine Verdaulichkeit von 97,2%.

## Periode II.

Vom 7. XI. bis 3. XII. 1918.

Vorversuch 7 Tage, Hauptversuch 19 Tage.

Versuchstier: Hammel Nr. 2.

Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>2)</sup>	mit 557,56 g Trockensubstanz und	3,966 g N
125 g Kartoffelstärke	" 103,16 g	" " 0,035 g "
125 g Zucker	" 124,83 g	" " — g "
30 g Harnstoff	29,66 g	" " 14,030 g "
35,84 g Salzmischung <sup>3)</sup>	33,42 g	" " — g "

Summa: 848,63 g Trockensubstanz und 18,031 g N

Das Gewicht des Hammels betrug bei Beginn der Vorfütterung am 7. XI. 1918 30,23 kg.

<sup>1)</sup> Siehe die Anmerkung <sup>2)</sup> auf Seite 168.

<sup>2)</sup> 18 Stunden aufgeschlossene Roggenspreu.

<sup>3)</sup> Im Mittel der letzten 19 Tage.

Tabelle X.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser,  
Stalltemperatur.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% d Zu- fuhr				
1918	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% d Zu- fuhr				
7./8. XI.	8,13	45,1	—	—	—	—	—	—	30,23	—	920	12,0
8./9.	Harnverluste		—	—	—	—	—	—	—	—	670	12,0
9./10.	7,77	43,1	—	—	—	—	—	—	—	—	150	11,0
10./11.	7,52	41,7	—	—	—	—	—	—	—	—	680	10,5
11./12.	8,34	46,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9,5
12./13.	8,06	44,7	—	—	—	—	—	—	—	—	140	8,0
13./14.	Harnverluste		6,52	36,2	—	—	—	—	30,68	868,8	400	8,0
14./15.	8,67	48,1	6,52	36,2	15,19	84,2	2,84	15,80	—	1023,8	500	13,0
15./16.	8,99	49,9	6,52	36,2	15,51	86,0	2,52	14,0	—	1074,1	600	6,5
16./17.	8,72	48,4	6,52	36,2	15,24	84,5	2,79	15,50	—	1016,7	250	8,0
17./18.	8,15	45,2	6,52	36,2	14,67	81,4	3,36	18,60	—	859,5	540	7,0
18./19.	11,41	63,3	6,52	36,2	17,93	99,4	0,10	0,55	—	752,8	—	6,0
19./20.	9,08	50,4	6,52	36,2	15,60	86,5	2,43	13,50	—	763,3	50	7,0
20./21.	8,34	46,3	6,52	36,2	14,86	82,4	3,17	17,60	—	757,7	250	6,0
21./22.	8,38	46,5	6,52	36,2	14,90	82,6	3,13	17,40	—	814,4	340	4,5
22./23.	9,68	53,7	6,52	36,2	16,20	89,9	1,83	10,10	31,58	802,0	180	4,0
23./24.	9,14	50,7	6,52	36,2	15,66	86,9	2,37	13,10	—	815,8	300	4,0
24./25.	8,40	46,6	6,52	36,2	14,92	82,8	3,11	17,30	—	892,7	530	4,0
25./26.	9,56	53,0	6,52	36,2	16,08	89,2	1,95	10,80	—	881,3	670	5,0
26./27.	8,37	46,4	6,52	36,2	14,89	82,6	3,14	17,40	32,13	864,1	530	10,0
27./28.	8,94	49,6	6,52	36,2	15,46	85,7	2,57	14,30	—	738,5	—	10,0
28./29.	8,82	48,9	6,52	36,2	15,34	85,1	2,69	14,90	—	920,9	—	7,0
29./30.	9,09	50,4	6,52	36,2	15,61	86,6	2,42	13,40	32,33	765,7	100	12,5
30. XI /1. XII.	10,05	55,7	6,52	36,2	16,57	91,9	1,46	8,10	—	770,3	250	9,5
1./2. XII.	11,39	63,2	6,52	36,2	17,91	99,3	0,12	0,67	—	670,0	40	13,0
2./3.	10,83	60,1	6,52	36,2	17,35	96,2	0,68	3,80	32,1	712,5	180	18,0
Im Mittel der letzten 19 Tage, 14. XI. bis 3. XII.	9,26	51,3	6,52	36,2	15,78	87,5	2,25	12,5	31,51	836,6	279,5	8,1

Das Rohprotein wurde also zu 63,8% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,57 g N bzw. 0,36 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 72,7 g.

Der Harnstoff wurde hier also in einem beträchtlichen Umfange zu Fleisch synthetisiert; das kommt auch in der Gewichtszunahme des Tieres zum Ausdruck.

Der in der vorliegenden Harnstoffperiode Nr. II vom Hammel Nr. 1 produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 277,1 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett <sup>1)</sup>	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
94,24	23,27	70,97	12,81	4,39	16,86	36,91	11,34

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trock- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
277,1	261,14	64,48	196,66	35,50	12,17	46,72	102,27	31,42

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode II verzehrten Futters.

Tabelle XI.

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 100 kg Lebend- gewicht	pro 100 kg Trocken- substanz
625 g aufgeschlossene Roggenspren . . .	557,56	524,31	24,75	13,75	278,75	207,06	24,75			
125 g Kartoffelstärke . .	103,16	102,20	0,23	—	—	101,97	0,23			
66,89 g Rohrzucker . .	66,80	66,80	—	—	—	66,80	—			
30 g Harnstoff <sup>2)</sup> . . .	29,66	29,66	87,69 <sup>2)</sup>	—	—	—	—			
58,11 g Zucker . . .	58,03	58,03		—	—	—	—			
35,84 g Salze . . .	33,42	—		—	—	—	—			
<b>Summa:</b>	<b>848,63</b>	<b>781,00</b>	<b>112,67</b>	<b>13,75</b>	<b>278,75</b>	<b>375,83</b>	<b>24,98</b>	<b>537,9</b>	<b>17,1</b>	<b>—</b>
Der Kot enthielt . .	261,14	196,66	35,50	12,17	46,72	102,27	31,42			
Es wurden somit } g	587,49	584,34	77,17	1,58	232,03	273,56	— 6,44			
resorbiert } %	69,2	74,8	70,1	11,5	83,2	72,8	—29,6			
Von den Nähr- } g	—	28,79	— 9,61	1,58	232,03	104,79	—	303,7	—	54,5
stoffen der aufge- } %	—	62,7	— 38,8	11,5	83,2	50,6	—			
schlossenen Spreu } wurden resorbiert										

Das aus Harnstoff und Zucker gebildete Bakterieneiweiß würde hiernach zu 98,7% verdaut worden sein.

<sup>1)</sup> 3,28% freies Fett,  
1,11% Seifenfett,  
4,39% Gesamtfett.

<sup>2)</sup> Siehe die Anmerkung 2 auf S. 168.

Es ist einleitend bereits darauf hingewiesen worden, daß die folgende Periode IIa ohne Harnstoff an einem gleichaltrigen Hammellamm Nr. 3 zu dem Zwecke durchgeführt wurde, um festzustellen, ob der Stickstoff der mit Lauge aufgeschlossenen Spreu in einem gewissen Umfange resorbiert werden kann. Nach den vorliegenden Stoffwechselversuchen mit Strohstoff an Wiederkäuern war das nicht zu erwarten. Z. B. berechnet sich im Durchschnitt aus 19 von G. Fingerling<sup>1)</sup> an 7 Hammeln mit Strohstoff verschiedener Provenienz ausgeführten Versuchen eine Verdaulichkeit des Strohstoffstickstoffes von — 215<sup>0</sup>/<sub>100</sub>. Nach A. Morgen<sup>2)</sup> und seinen Mitarbeitern erwies sich das Rohprotein aller von ihm untersuchten Strohstoffproben sowohl bei der künstlichen Verdauung nach Stutzer als auch bei seinen Ausnutzungsversuchen an Schafen als unverdaulich. Allerdings werden bei dem Beckmannschen Verfahren höhere Temperaturen und stärkere Laugekonzentrationen vermieden, so daß die Möglichkeit einer gewissen Resorbierbarkeit des Strohstoffproteins von vornherein nicht bestritten werden könnte.

Das stickstofffreie Futtermischung wurde von vornherein von dem Hammel nur ungerne aufgenommen und vom 2. Tage ab nur unvollständig verzehrt. Im Mittel der 8tägigen Vorfütterung fraß der Hammel täglich den gleichen Bruchteil wie in der Hauptperiode, nämlich 57,9<sup>0</sup>/<sub>100</sub> des Quantums, das er eigentlich erhalten sollte. Die Ursache für den geringen Futterverzehr dürfte darin zu erblicken sein, daß die für den Wiederkäuer so bedeutsame Bakterientätigkeit in den Vormägen naturgemäß bei gänzlichem Fortfall der Stickstoffzufuhr beträchtliche Störungen im Stoffwechsel zur Folge hatte, die u. a. in den nachstehend besprochenen starken Verdauungsdepressionen zutage traten. Der Vergleich dieser Periode mit den Harnstoffperioden an den anderen Versuchstieren erweist also ebenfalls, daß der Harnstoff bei Wiederkäuern die Rolle des Nahrungseiweißes übernimmt.

---

<sup>1)</sup> G. Fingerling, Fütterungsversuche mit aufgeschlossenem Stroh. Die landw. Versuchsstationen 92, 1 bis 56, 1918.

<sup>2)</sup> A. Morgen, C. Beger, H. Wagner, G. Schöler und E. Ohlmer usw., Ausnutzungsversuche mit 14 Futtermitteln usw. Die landw. Versuchsstationen 92, 71, 1918.

Die Ergebnisse der Periode IIa enthalten die folgenden Übersichten:

### Periode IIa.

Vom 21./22. XI. 1918 bis 9./10. XII. 1918.

Versuchstier: Hammel Nr. 3.

Die Vorfütterung dauerte 8 Tage, der Hauptversuch 11 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

362 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 323,12 g Trockensubstanz	und 2,30 g N	und 1391,9 Cal
72,4 g Stärke	" 72,34 g	" " 0,02 g N	" 250,2 "
72,4 g Zucker	" 59,75 g	"	286,5 "
17,5 g Salzgemisch	" 16,32 g	"	

Sa. 471,53 g Trockensubstanz und 2,32 g N und 1928,6 Cal

Das Gewicht des Hammels betrug bei Beginn der Vorfütterung am 21. XI. 31,80 kg.

### Tabelle XII.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Stalltemperaturen, Trinkwasser.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres	Gewicht des frischen Kotes	Trinkwasser	Stalltemperatur
	im Harn		im Kot		Summa		g	°/o der Zufuhr				
1918	g	°/o der Zufuhr	g	°/o der Zufuhr	g	°/o der Zufuhr			g	°/o der Zufuhr	kg	g
29./30. XI.	1,12	48,3	3,19	137,5	4,31	185,8	-1,99	-85,8	32,20	626,9	—	12,5
30. XI./1. XII.	1,14	49,1	3,19	137,5	4,33	186,6	-2,01	-86,6	—	620,2	—	9,0
1./2. XII.	0,99	42,7	3,19	137,5	4,18	180,2	-1,86	-80,2	—	526,4	220	14,0
2./3.	1,10	47,4	3,19	137,5	4,29	184,9	-1,97	-84,9	—	707,0	30	18,0
3./4.	1,05	45,2	3,19	137,5	4,24	182,7	-1,92	-82,7	—	503,2	200	12,0
4./5.	1,00	43,1	3,19	137,5	4,19	180,6	-1,87	-80,6	—	571,8	30	15,0
5./6.	0,85	36,6	3,19	137,5	4,04	174,1	-1,72	-74,1	—	359,6	460	14,0
6./7.	1,01	43,5	3,19	137,5	4,20	181,0	-1,88	-81,0	31,44	430,1	60	11,0
7./8.	0,91	39,2	3,19	137,5	4,10	176,7	-1,78	-76,7	—	356,7	270	10,0
8./9.	0,71	30,6	3,19	137,5	3,90	168,1	-1,58	-68,1	—	338,8	120	13,0
9./10.	1,05	45,2	3,19	137,5	4,24	182,7	-1,92	-82,7	32,00	411,4	90	15,0
Im Mittel:	0,99	42,8	3,19	137,5	4,18	180,3	-1,86	-80,3	31,88	495,6	134	13,0

Der in der vorliegenden Periode IIa vom Hammel Nr. 3 produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 188,7 g und enthielt in Prozenten:

<sup>1)</sup> 18 Stunden aufgeschlossene Roggenspreu.

Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Ca- lorien in 100 g	Rein- eiweiß
97,64	19,41	78,23	10,57	2,98 <sup>1)</sup>	27,41	37,27	377,0	8,56

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
188,7	184,24	36,63	147,61	19,94	5,62	51,72	70,33	16,15

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode IIa verzehrten Futters.

Tabelle XIII.

	Trocken- substanz	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
	g	g	g	g	g	g	g
362 g aufgeschlossene Roggenspreu . . .	323,12	303,86	14,34	7,96	161,56	120,00	14,34
72,4 g Kartoffelstärke	59,75	59,19	0,13	—	—	59,06	0,13
72,4 g Rohrzucker .	72,34	72,34	—	—	—	72,34	—
17,5 g Salzmisch .	16,32	—	—	—	—	—	—
Summa:	471,53	363,05	14,74	7,96	161,56	179,06	14,47
Der Kot enthielt . .	184,24	147,61	19,94	5,62	51,72	70,33	16,15
Es wurden also } g	287,29	215,44	—5,47	2,34	109,84	108,73	—1,68
resorbiert: } %	60,9	58,0	—37,8	29,4	68,0	60,7	—11,6

Für das Strohstoffeiweiß berechnet sich aus den vorstehenden Zahlen eine Minusverdauung von 37,8%, die durch die Beimengung von N-haltigen Gallen- und Darmsekreten zu den Faeces bedingt war. Um über den etwa resorbierbaren Anteil des Strohstoffeiweißes einen Anhalt zu gewinnen, wurden sowohl die Faeces als auch der Strohstoff der künstlichen Verdauung mit Pepsin und Salzsäure unterworfen. Von dem Stroh-

<sup>1)</sup> 2,42% freies Fett,  
0,56% Seifenfett,  
2,98% Gesamtfett.

stoffprotein wurden durch Pepsin und Salzsäure 38,54% gelöst. Demnach hätte das Tier in den verzehrten 362 g aufgeschlossener Roggenspreu mit 14,34 g Rohprotein 5,53 g verdauliches Eiweiß erhalten. Infolge der geringen Laugekonzentration und niedriger Einwirkungstemperaturen bleibt also nach dem Ausfall der künstlichen Verdauungsversuche eine gewisse Menge des Strohstoffproteins bei dem Beckmannschen Verfahren im Gegensatz zu anderen Methoden der Strohaufschließung in Pepsin + HCl löslich, daraus folgt jedoch noch keineswegs, daß dieser Anteil des Eiweißes vom Darmkanal auch wirklich resorbiert wird (s. dazu S. 213). Die künstliche Verdauung des Kotes ergab eine Löslichkeit von 47,94% für das Protein. Somit enthielten die 19,94 g Kotprotein 9,56 g stickstoffhaltige Stoffwechselprodukte, also um 9,56 — 5,53 = 4,03 g bzw. um 72,9% mehr als an in Pepsin + HCl löslichem Protein mit dem Strohstoff verfüttert worden war. Aus der künstlichen Verdauung des Strohstoffes berechnete sich eine Verdaulichkeit des Strohstoffproteins von 38,54% (auf 14,34 g Strohstoffprotein 5,53 g verdauliches Protein), bei der künstlichen Verdauung der Faeces wurde ein wesentlich niedrigerer Verdauungswert von 27,6% ermittelt (auf 14,34 g Strohstoffprotein 3,96 g verdauliches Protein). Der Verdauungswert für das Strohstoffprotein war hiernach bei der künstlichen Verdauung des Strohstoffes um 39,7% höher, als wenn die Faeces der künstlichen Verdauung unterworfen wurden. Aus diesen Befunden ist zu folgern, daß nicht sämtliche N-haltige Stoffwechselprodukte der Faeces durch Pepsin und Salzsäure gelöst werden können, ein Schluß, den A. Morgen und seine Mitarbeiter bereits früher gezogen haben<sup>1)</sup>.

Außer der Verdauungsdepression für das Protein wurde auch eine starke Minderverdauung der Rohfaser und der N-freien Extraktstoffe im Vergleich zu den 3 Harnstoffperioden I, Ia und II, in denen der gleiche Strohstoff verfüttert wurde, beobachtet. In der vorliegenden Strohstoffperiode IIa ohne Harnstoff betrug die Verdaulichkeit der Rohfaser nämlich 68%, im Mittel der 3 Strohstoff-Harnstoffperioden dagegen 85,2%. Setzen wir die in den Harnstoffperioden verdaute Rohfaser

<sup>1)</sup> Landw. Versuchstationen 85, 1 und ebenda 88, 243.



= 100, so wurden in der Periode IIa ohne Harnstoff nur 79,8% Rohfaser verdaut. Die Verdauungsdepression der Rohfaser betrug also 20,2%. Noch ungünstiger gestaltete sich bei N-freier Ernährung die Verdaulichkeit der N-freien Extraktstoffe. Während die N-freien Extraktstoffe des Strohstoffs im Mittel der 3 Harnstoffperioden zu 55,8% und Zucker und Stärke vollständig verdaut wurden, resorbierte der Hammel bei N-freier Ernährung von den N-freien Extraktstoffen des Strohstoffs nichts und von dem verzehrten Zucker und der Stärke zusammen nur 82,8%. Die Verdauungsdepression betrug hier nach für die N-freien Extraktstoffe des Strohstoffs 100% und für die Stärke und den Zucker 17,2%. Der Harnstoff behob also die Verdauungsdepressionen der Kohlenhydrate in ganz ähnlicher Weise, wie es für das Eiweiß seit langem bekannt war und wie es von verschiedenen Forschern auch für andere Amide und für Ammonialsalze organischer Säuren nachgewiesen worden ist.

### Energieumsatz.

In der Periode IIa am Hammel 3 (Kraftspreu, Zucker, Stärke und Salze)  
betragen die Einnahmen pro Tag . . . . . 1928,6 Cal

Ausgaben pro Tag:

Im Kot . . . . . 711,4 Cal = 36,9% der Zufuhr

Energieverlust aus 218,57 g

verdauter Rohfaser + N-  
freien Extraktstoffen durch

Methangärung<sup>1)</sup> . . . . 125,3 Cal = 6,5% " "

Im Harn . . . . . 31,0 " = 1,6% " "

Sa.: 867,7 Cal = 45,0% der Zufuhr = 867,7 Cal

Somit beträgt der physiologische Nutzwert . . . . . 1060,9 Cal  
entsprechend 55,0% der Zufuhr.

Calorischer Quotient  $\left( \frac{\text{Harn-Cal} = 31,0}{\text{Harn-N} = 0,99} \right) = 31,3.$

<sup>1)</sup> Auf 100 g verdaute Rohfaser + N-freie Extraktstoffe 4,29 g Methan mit 13,35 Cal = 57,3 Cal (s. O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere, 7. Aufl., 1916, 96).

Der calorische Quotient ist zwar sehr hoch, doch sind nur sehr geringe Mengen organischer Substanzen in den Harn übergegangen, da derselbe insgesamt nur 31 Cal enthielt.

Die Periode III folgte unmittelbar auf die Periode II (s. S. 171) an demselben Hammel Nr. 1. Es sollte versucht werden, dem Tier größere Futtermengen beizubringen. Die Ration wurde daher mit Ausnahme des Harnstoffs um 20% erhöht. Sie setzte sich also wie folgt zusammen:

750 g Strohstoff, je 150 g Stärke und Zucker und  
30 g Harnstoff.

Der Strohstoff wurde durch 24stündige Aufschließung von Roggenstrohhäcksel gewonnen. Das Gewicht des Salzgemisches betrug 30,2 g. Diese Ration verzehrte der Hammel jedoch nur an den ersten 5 Tagen der Vorfütterung restlos. Am 6. Tage blieben erhebliche Futtermengen in der Krippe zurück, die das Tier am 7. Tage fraß. Infolgedessen wurden vom 8. Versuchstage ab die um 20% geringeren Futtermengen der früheren Ration verabfolgt und bis zum Abschluß des Versuchs am 28. XII. 1918 stets vollständig aufgefressen. Die Nahrungszufuhr und die N-Bilanzen usw. für die Periode III sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

### Periode III.

Vom 11. XII. bis 28. XII. 1918.

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 13 Tage, der Hauptversuch 12 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 566,38 g Trockensubstanz u.	3,018 g N u.	2425,6 Cal
125 g Kartoffelstärke	" 103,16 g	" " 0,035 g N "	432,2 "
125 g Zucker	" 124,83 g	" — "	494,6 "
30 g Harnstoff	" 29,66 g	" " 14,030 g N "	—
30,2 g Salzgemisch	" 28,17 g	" — "	75,2 "

Sa.: 852,20 g Trockensubstanz u. 17,083 g N 3427,6 Cal

Der Hammel wog bei Beginn der Vorfütterung am 3. XII. 1918 = 32,12 kg.

<sup>1)</sup> 24 Stunden aufgeschlossenes Roggenstroh.

Tabelle XIV.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser com	Stalltemperaturen °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zufuhr				
	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr						
1918												
11./12. XII.	8,64	50,6	—	—	—	—	—	—	32,85	—	—	10
12./13.	Harnverluste		—	—	—	—	—	—	—	—	310	10
13./14.	5,72	33,5	—	—	—	—	—	—	—	—	200	8
14./15.	7,85	46,0	—	—	—	—	—	—	—	—	100	10
15./16.	8,83	51,7	—	—	—	—	—	—	33,25	—	140	10
16./17.	9,47	55,4	5,72	33,5	15,19	88,9	1,89	11,1	—	862,6	80	10
17./18.	8,20	48,0	5,72	33,5	13,92	81,5	3,16	18,5	—	842,7	240	9,5
18./19.	8,01	46,9	5,72	33,5	13,73	80,4	3,35	19,6	33,68	904,2	270	8
19./20.	8,09	47,4	5,72	33,5	13,81	80,9	3,27	19,1	—	1116,4	220	8
20./21.	8,03	47,0	5,72	33,5	13,75	80,5	3,33	19,5	33,73	1034,2	280	7
21./22.	8,31	48,6	5,72	33,5	14,03	82,1	3,05	17,9	—	1125,5	230	6
22./23.	7,92	46,4	5,72	33,5	13,64	79,9	3,44	20,1	—	917,9	60	5
23./24.	7,88	46,1	5,72	33,5	13,60	79,6	3,48	20,4	33,83	1041,7	50	6
24./25.	5,53	32,4	5,72	33,5	11,25	65,9	5,83	34,1	—	605,7	370	6
25./26.	9,82	57,5	5,72	33,5	15,54	92,0	1,54	9,0	—	593,5	700	6
26./27.	7,87	46,1	5,72	33,5	13,59	79,6	3,49	20,4	—	956,1	100	5
27./28.	8,45	49,5	5,72	33,5	14,17	83,0	2,91	17,0	34,33	1107,3	100	5
Mittel der letzten 12 Tage (vom 16. bis 28. XII.):	8,13	47,6	5,72	33,5	13,85	81,1	3,23	18,9	33,40	925,7	288	6,4

Das Rohprotein wurde also zu 66,5% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,51 g Stickstoff bzw. 0,34 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 88,4 g.

Der Hammel setzte während dieser Periode also sehr beträchtliche Fleischmengen an, was auch in der beobachteten Gewichtszunahme zum Ausdruck kam.

Der in der vorliegenden Periode III vom Hammel Nr. 1 produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 284,85 g und enthielt in Prozenten:

Trocken-	Asche	Orga-	Roh-	Roh-	Roh-	N-freie	Ca-	Rein-
substanz		nische	protein	fett	faser	Extrakt-	lorien	eiweiß
		Substanz				stoffe	in 100 g	
97,42	16,82	80,60	12,55	3,27 <sup>1)</sup>	28,46	36,32	402,7	9,97

<sup>1)</sup> 2,71% freies Fett,  
0,56% Seifenfett,  
3,27% Gesamtfett.

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag.

Luft-trockener Kot	Trocken-substanz	Asche	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien in 100g	Reineiweiß
284,85	277,50	47,91	229,59	33,75	9,31	81,07	103,46	1147,0	28,40

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode III verzehrten Futters.

Tabelle XV.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								pro Kopf	pro 1000 kg Lebendgewicht	pro 100 kg Trocken-substanz
625 g aufgeschlossenes Roggenstroh . . .	566,38	525,94	18,88	14,25	284,25	208,56	18,88			
125 g Kartoffelstärke . . .	103,16	102,20	0,23	—	—	101,97	0,23			
66,89 g Rohrzucker . . .	66,80	66,80	—	—	—	66,80	—			
30 g Harnstoff <sup>1)</sup> . . .	29,66	29,66		—	—	—	—			
58,11 g Rohrzucker . . .	58,03	58,03		—	—	—	—			
30,2 g Salzgemisch . . .	28,17	—	—	—	—	—	—			
<b>Summa:</b>	<b>852,20</b>	<b>782,63</b>	<b>106,80</b>	<b>14,25</b>	<b>284,25</b>	<b>377,33</b>	<b>19,11</b>	<b>490</b>	<b>14,7</b>	<b>—</b>
Der Kot enthält . . .	277,50	229,59	35,75	9,31	81,07	103,46	28,40			
Somit wurden resorbiert } g	574,70	553,04	71,05	4,94	203,18	273,87	— 8,29			
} %	67,5	70,7	66,5	34,7	71,5	72,6	—43,4			
Von den Nährstoffen des aufgeschlossenen Roggenstrohes wurden resorbiert } g	—	305,89	— 7,33	4,94	203,18	105,10	—	63,8	—	46,6
} %	—	58,2	— 38,8	34,7	71,5	50,2	—			

Für das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß berechnet sich eine Verdaulichkeit von 89,1%.

## Energieumsatz:

## Periode III, Hammel 1.

Einnahmen pro Tag . . . . . 3427,6 Cal

Ausgaben pro Tag:

Im Kot . . . . . = 1147,0 Cal = 33,5% der Zufuhr

Energieverlust aus 477,05 g

verdauter Rohfaser + N-

freien Extraktstoffen

durch Methangärung . = 273,3 " = 8,0% " "

Im Harn . . . . . = 63,0 " = 1,8% " "

Sa. 1483,3 Cal = 43,3% der Zufuhr = 1483,3 Cal

<sup>1)</sup> Siehe die Anmerkung 2 auf S. 168.

Somit beträgt der physiologische Nutzwert . . . . . 1944,3 Cal  
entsprechend 56,7% der Zufuhr.

$$\text{Calorischer Quotient } \left( \frac{\text{Harn} - \text{Cal. } 63}{\text{Harn} - \text{N } 8,13} \right) = 7,8.$$

**Periode IV.**

Vom 28. XII. 1918 bis 15. I. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 8 Tage, der Hauptversuch 10 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 543,37 g Trockensubstanz und 3,188 g N
125 g Kartoffelstärke	" 103,16 g " " 0,035 g N
125 g Zucker	" 124,83 g " " —
30 g Harnstoff	" 29,66 g " " 14,030 g N
30,2 g Nährsalze	" 28,17 g " " —

Summa: 829,19 g Trockensubstanz und 17,253 g N

Das Tier wog bei Beginn der Vorfütterung am 28. XII. 34,33 kg.

**Tabelle XVI.**

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Harnmengen, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung					N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stalltemperatur	
	im Harn		im Kot		Summa		g						% der Zufuhr
1919	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	kg	g	ccm	ccm	°C
5./6. I	8,04	46,6	6,75	39,1	14,79	85,7	2,46	14,3	35,1	921,2	100	—	7,1
6./7.	7,61	44,1	6,75	39,1	14,36	83,2	2,89	16,8	—	1057,7	230	—	7,1
7./8.	Harnverluste		6,75	39,1	—	—	—	—	—	1154,1	600	—	7,1
8./9.	7,66	44,4	6,75	39,1	14,41	83,5	2,84	16,5	—	1021,4	210	396	7,1
9./10.	5,70	33,0	6,75	39,1	12,45	72,1	4,80	27,9	—	1004,5	150	415	7,1
10./11.	Harnverluste		6,75	39,1	—	—	—	—	—	953,2	270	—	6,8
11./12.	8,18	47,4	6,75	39,1	14,93	86,5	2,32	13,5	34,8	965,5	225	469	6,8
12./13.	8,40	48,7	6,75	39,1	15,15	87,8	2,10	12,2	—	804,6	280	515	6,8
13./14.	8,34	48,3	6,75	39,1	15,09	87,4	2,16	12,6	34,6	1140,4	300	628	5,8
14./15.	8,52	49,4	6,75	39,1	15,27	88,5	1,98	11,5	34,8	1044,3	120	652	6,8
Im Mittel:	7,81	45,2	6,75	39,1	14,56	84,3	2,69	15,7	34,6	1006,6	248,5	512	7,1

Das Rohprotein wurde also zu 60,9% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,498 g Stickstoff bzw. 0,303 g resorbierbaren Stickstoff. Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 26 g.

Auch in dieser Periode setzte der Hammel erhebliche Fleischmengen an und nahm an Körpergewicht zu.

<sup>1)</sup> 12 Stunden aufgeschlossenes Roggenstroh.

Der in der vorliegenden Periode IV produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 314,0 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett <sup>1)</sup>	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
95,47	16,32	79,15	13,43	2,93	25,87	36,92	10,93

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
314,00	299,78	51,25	248,53	42,17	9,20	81,23	115,93	34,32

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode IV verzehrten Futters.

Tabelle XVII.

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	in 100 kg Trocken- substanz
100 g aufgeschlossenes Roggenstroh . . . . .	543,37	510,44	19,92	12,56	250,69	227,27	19,92			
100 g Kartoffelstärke	103,16	102,20	0,22	—	—	101,98	0,22			
8 g Rohrzucker . . . .	66,80	66,80	—	—	—	66,80	—			
1 g Harnstoff <sup>2)</sup> . . . .	29,66	29,66	—	—	—	—	—			
11 g Rohrzucker . . . .	58,03	58,03	87,69 <sup>2)</sup>	—	—	—	—			
2 g Salzgemisch . . . .	28,17	—	—	—	—	—	—			
<b>Summa:</b>	<b>829,19</b>	<b>767,13</b>	<b>107,83</b>	<b>12,56</b>	<b>250,69</b>	<b>396,05</b>	<b>20,14</b>	<b>454,5</b>	<b>18,1</b>	<b>—</b>
der Kot enthielt . . . .	299,78	248,53	42,17	9,20	81,23	115,93	34,32			
mit resorbiert . . . .	{ g 529,41 % 63,8	{ g 518,60 % 67,6	{ g 65,66 % 60,9	{ g 3,36 % 26,7	{ g 169,46 % 67,6	{ g 280,12 % 70,7	{ g -14,18 % -70,4			
von aufgeschlosse- nen Roggenstroh wurden resorbiert	{ g — % —	{ g 276,43 % 54,2	{ g -7,73 % -38,8	{ g 3,36 % 26,8	{ g 169,46 % 67,6	{ g 111,34 % 49,0	{ g — % —	232,9	—	42,9

1) 2,01% freies Fett  
0,92% Seifenfett  
2,93% Gesamtfett.  
2) Siehe die Anm. 2 auf Seite 168. \*

Das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß wurde zu 83,4% resorbiert.

Nach Abschluß der vierten Periode am 15. I. 1919 sollte die folgende Periode V mit unaufgeschlossener Roggenspreu durchgeführt werden. Der Hammel erhielt 625 g unaufgeschlossene Spreu und im übrigen dieselben Futtermittel wie in der Periode IV. Die Ration wurde aber nur am 1. Vorfütterungstage restlos verzehrt, am 2. Tage blieben 15% des Futters zurück. Infolge der verminderten Aufnahme der unaufgeschlossenen Spreu wurde vom 3. Versuchstage (17./18. I.) ab statt der 625 g Roggenspreu die gleiche Gewichtsmenge 3 Stunden aufgeschlossener Spreu neben den üblichen Mengen an anderen Futterbestandteilen gereicht und bis zum Abschluß der Periode V am 6. II. 1919 stets ohne Rest verzehrt. Im Anschluß folgt die Übersicht über die Ergebnisse der Periode V.

### Periode V.

Vom 15. I. bis 6. II. 1919

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 12 Tage, der Hauptversuch 10 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 539,56 g Trockensubstanz und	4,033 g N
123,38 g Stärke <sup>2)</sup>	" 103,10 g "	0,053 g N
125 g Zucker	" 124,95 g "	0,020 g N
30 g Harnstoff	" 29,66 g "	14,030 g N
30,2 g Nährsalze	" 28,17 g "	— g N

---

Summa: 825,44 g Trockensubstanz und 18,136 g N

Das Tier wog bei Beginn der Vorfütterung am 15. I. 34,8 kg.

<sup>1)</sup> 3 Stunden aufgeschlossene Roggenspreu.

<sup>2)</sup> 4 Tage wurden Stärke Nr. I je 125 g, 6 Tage Stärke Nr. II je 122,3 g verfüttert.

Tabelle XVIII.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Harnmengen, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stalltemperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% d. Zufuhr					
	g	% d. Zufuhr	g	% d. Zufuhr	g	% d. Zufuhr							
1919													
27./28. I.	10,75	59,2	6,54	36,1	17,29	95,3	0,84	4,7	33,73	881,4	450	703	3,5
28./29.	10,21	56,3	6,54	36,1	16,75	92,4	1,38	7,6	—	815,3	340	462	2,8
29./30.	10,49	57,8	6,54	36,1	17,03	93,9	1,11	6,1	—	836,7	400	575	1,0
30./31.	8,59	47,4	6,54	36,1	15,13	83,5	3,01	16,5	34,38	737,6	390	577	4,5
31. I./1. II.	9,27	51,1	6,54	36,1	15,81	87,2	2,32	12,8	—	778,8	1150	873	14,0 <sup>1)</sup>
1./2. II.	10,06	55,5	6,54	36,1	16,60	91,6	1,54	8,4	—	660,1	540	650	4,0
2./3.	10,69	58,9	6,54	36,1	17,23	95,0	0,91	5,0	—	739,7	330	720	8,0
3./4.	9,74	53,7	6,54	36,1	16,28	89,8	1,86	10,2	—	821,2	475	360	4,5
4./5.	10,32	56,9	6,54	36,1	16,86	93,0	1,28	7,0	34,18	729,8	675	525	4,0
5./6.	Harnverluste		6,54	36,1	—	—	—	—	34,38	801,3	290	—	2,5
Im Mittel:	10,01	55,2	6,54	36,1	16,55	91,3	1,58	8,7	34,29	780,2	504	605	4,9

Das Rohprotein wurde also zu 63,9% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,53 g Stickstoff bzw. 0,338 g resorbierbaren Stickstoff. Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 19 g.

Der in dieser Periode im Vergleich zu früheren verringerte Fleischansatz dürfte in der Hauptsache auf die niedrige Stalltemperatur und den dadurch bedingten größeren Nährstoffbedarf für die Erhaltung der Körpertemperatur zurückzuführen sein. Daneben kommt die pro Körperkilogramm geringere Zufuhr an Gesamtnährstoffen (Stärkewert) in Betracht.

Der in der vorliegenden Periode V produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 310,82 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asohe	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
95,00	19,86	75,14	13,15	4,12 <sup>2)</sup>	16,66	41,21	10,63

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

<sup>1)</sup> An diesem Tage wurde der Raum geheizt.

<sup>2)</sup> 2,94% freies Fett

1,18% Seifenfett

4,12% Gesamtfett.



Luft-trocke-ner Kot	Trocken-substanz	Asche	Organi-sche Substanz	Roh-protein	Roh-fett	Roh-faser	N-freie Extrakt-stoffe	Rein-eiweiß
310,82	295,28	61,73	233,55	40,87	12,81	51,77	128,10	33,04

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode verzehrten Futters.

Tabelle XIX.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert				
								pro Kopf	pro 1000 kg Lebendgewicht	pro 1000 kg Trockensubstanz		
625 g aufgeschlossene Roggenspreu . . .	539,56	498,94	25,21	12,16	238,83	222,74	25,21					
123,38 g Kartoffelstärke	103,10	102,20	0,33	—	—	101,87	0,33					
66,95 g Zucker . . .	66,92	66,84	0,13	—	—	66,71	—					
30 g Harnstoff <sup>1)</sup> . . .	29,66	29,66	87,69 <sup>1)</sup>	—	—	—	—					
58,05 g Zucker . . .	58,03	58,03		—	—	—	—	—				
30,2 g Salzgemisch . .	28,17	—		—	—	—	—	—				
Summa:	825,44	755,67	113,36	12,16	238,83	391,32	25,54	471,0	13,7	—	—	
Der Kot enthielt . .	295,28	233,55	40,87	12,81	51,77	128,10	33,04					
Somit resorbiert . { g %	530,16 64,2	522,12 69,1	72,49 63,9	-0,65 (-5,35)	187,06 78,3	263,22 67,3	-7,50 -29,4					
Von den Nährstoffen der aufgeschlossenen Roggenspreu wurden resorbiert { g %	— —	271,27 54,4	-9,78 -38,8	-0,65 -5,3	187,06 78,3	94,64 42,5	— —	241,3	—	44	—	

Das aus dem Harnstoff gebildete Rohprotein wurde zu 93,3% resorbiert.

## Periode VI.

Vom 6. II. bis 2. III. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 14 Tage, der Hauptversuch 10 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>2)</sup>	mit 587,80 g Trockensubstanz und 2,062 g N
122,3 g Kartoffelstärke	" 103,06 g " 0,065 g N
125 g Zucker <sup>3)</sup>	" 124,95 g " " 0,021 g N
30 g Harnstoff	" 29,66 g " " 14,030 g N
30,2 g Nährsalze	" 28,17 g " " — g N

Summa: 873,64 g Trockensubstanz und 16,178 g N

<sup>1)</sup> Siehe die Anm. 2 auf Seite 168.

<sup>2)</sup> 72 Stunden aufgeschlossenes Roggenstroh.

<sup>3)</sup> 6 Tage ist Zucker Nr. 2, 4 Tage Zucker Nr. 3 verfüttert worden.

Das Gewicht des Versuchstieres betrug bei Beginn der Vorfütterung am 6. II. 34,38 kg.

Tabelle XX.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Harnmengen, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr					
	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr							
1919													
20./21. II.	8,66	53,5	6,12	37,8	14,78	91,3	1,40	8,7	34,77	610,6	530	475	13,5
21./22.	8,38	51,8	6,12	37,8	14,50	89,6	1,68	10,4	—	722,5 <sup>1)</sup>	500	367	15,0
22./23.	8,30	51,3	6,12	37,8	14,42	89,0	1,76	11,0	—	1010,8	680	330	11,0
23./24.	7,98	49,3	6,12	37,8	14,10	87,1	2,08	12,9	35,78	1057,0	600	425	10,0
24./25.	7,30	45,1	6,12	37,8	13,42	82,9	2,76	17,1	—	1073,3	535	377	9,0
25./26.	8,47	52,3	6,12	37,8	14,59	90,1	1,59	9,9	35,83	1095,8	590	375	10,0
26./27.	8,48	52,4	6,12	37,8	14,60	90,2	1,58	9,8	—	1025,9	500	358	8,5
27./28.	8,07	49,9	6,12	37,8	14,19	87,7	1,99	12,3	36,13	1085,5	635	408	12,0
28. II./1. III.	7,94	49,1	6,12	37,8	14,06	86,9	2,12	13,1	36,13	1036,9	685	488	13,5
1./2. III.	8,61	53,2	6,12	37,8	14,73	91,0	1,45	9,0	35,93	1072,3	610	600	13,0
Im Mittel:	8,22	50,8	6,12	37,8	14,34	88,6	1,84	11,4	35,56	979,1	587	420	11,6

Das Rohprotein wurde also zu 62,2% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,455 g Stickstoff bzw. 0,283 g resorbierbaren Stickstoff. Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 65 g.

Das Tier setzte in dieser Periode wieder etwas mehr Fleisch an als in der vorausgegangenen Periode V.

Der in der vorliegenden Strohstoff-Harnstoffperiode VI produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 361,02 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
93,70	15,03	78,67	10,60	3,84 <sup>2)</sup>	18,79	45,44	9,44

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag.

<sup>1)</sup> Das geringe Gewicht des frischen Kotes erklärt sich durch hohen Trockensubstanzgehalt.

<sup>2)</sup> 3,15% freies Fett  
0,69% Seifenfett

3,84% Gesamtfett.

Luft-trocke-ner Kot	Trocken-substanz	Asche	Organi-sche Substanz	Roh-protein	Roh-fett	Roh-faser	N-freie Extrakt-stoffe	Rein-eiweiß
361,02	338,28	54,26	284,02	38,25	13,86	67,83	164,08	34,08

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode VI verzehrten Futters.

Tabelle XXI.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebendgewicht	pro 100 kg Trocken-substanz
625 g aufgeschlossenes Roggenstroh . . .	587,80	556,53	12,95	11,30	310,29	221,99	12,95			
122,9 g Kartoffelstärke	103,06	102,20	0,41	—	—	101,79	0,41			
66,92 g Rohrzucker . .	66,89	66,85	0,13	—	—	66,72	—			
30 g Harnstoff . . .	29,66	29,66		—	—	—	—			
58,08 g Rohrzucker . .	58,08	58,03		—	—	—	—			
30,2 g Salzgemisch . .	28,17	—	—	—	—	—	—			
Summa:	873,64	813,27	101,18	11,30	310,29	390,50	13,36	467,7	13,2	—
Der Kot enthielt . .	338,28	284,02	38,25	13,86	67,83	164,08	34,08			
Somit resorbiert . . .	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 535,36 \\ 61,3 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 529,25 \\ 65,1 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 62,93 \\ 62,2 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - 2,56 \\ - 22,6 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 242,46 \\ 78,1 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 226,42 \\ 58,0 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - 20,72 \\ - 155,2 \end{array}$			
Von den Nährstoffen des Strohstoffs wurden resorbiert	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - \\ - \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 292,78 \\ 52,6 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - 5,03 \\ - 38,8 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - 2,56 \\ - 22,6 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 242,46 \\ 78,1 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} 57,91 \\ 28,1 \end{array}$	$\left. \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right\} \begin{array}{l} - \\ - \end{array}$	251,5	—	42,5

Das aus dem Harnstoff gebildete Rohprotein wurde zu 76,9% resorbiert.

Nach der Beendigung der Periode VI am 2. III. 1919 wurde die Futtergabe unter Berücksichtigung der Gewichtszunahme erhöht. Es wurden dieselben Futtermittel verabreicht wie in der Periode VI und außerdem 100 g Stärke und 100 g Zucker. Diese Ration konnte das Tier jedoch nur an den 3 ersten Tagen der Vorfütterung bewältigen. Am 4. Tage ließ es einen Teil des Futters übrig und fraß dasselbe erst am 5. Tage vollständig auf. Vom 6. Tage ab (7./8. III.) wurde außer der in Periode VI gereichten Ration nur 100 g Stärke verabfolgt; es fielen also die zuerst gegebenen 100 g Zucker

<sup>1)</sup> Siehe die Anm. 2 auf Seite 168.

fort. Diese Gabe wurde bis zum Abschluß des Versuchs stets ohne Rest verzehrt. Das Salzgemisch wies gegenüber den früheren Perioden einige Abweichungen auf (siehe Seite 165). Die erforderlichen Einzelheiten der Versuchsergebnisse der Periode VII sind aus den folgenden Tabellen zu entnehmen.

### Periode VII.

Vom 2. bis 25. III. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 1.

Die Vorfütterung dauerte 12 Tage, der Hauptversuch 11 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 574,69 g Trockensubstanz und	2,026 g N
222,3 g Kartoffelstärke <sup>2)</sup>	" 187,20 g	" 0,117 g N
125,0 g Zucker <sup>3)</sup>	" 124,94 g	" 0,022 g N
30,0 g Harnstoff <sup>4)</sup>	" 29,84 g	" 13,863 g N
75,7 g Nährsalze	" 59,34 g	" — g N

Summa: 976,01 g Trockensubstanz und 16,028 g N

Das Gewicht des Tieres betrug bei Beginn der Vorfütterung am 2. III. 35,93 kg.

### Tabelle XXII.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Trinkwasser, Harnmengen, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr					
1919	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	kg	g	ccm	ccm	°C
14./15. III.	7,06	44,1	6,80	42,4	13,86	86,5	2,17	13,5	36,89	1164,4	1100	845	11,5
15./16.	6,96	43,5	6,80	42,4	13,76	85,9	2,27	14,1	—	1093,5	1400	950	9,5
16./17.	7,08	44,2	6,80	42,4	13,88	86,6	2,15	13,4	37,15	1070,5	1000	1020	10,0
17./18.	6,87	42,9	6,80	42,4	13,67	85,3	2,36	14,7	—	1215,5	905	955	12,1
18./19.	7,83	48,9	6,80	42,4	14,63	91,3	1,40	8,7	37,35	951,5	865	1008	7,4
19./20.	8,12	50,7	6,80	42,4	14,92	93,1	1,11	6,9	—	999,7	850	1055	6,1
20./21.	7,91	49,4	6,80	42,4	14,71	91,8	1,32	8,2	37,25	1188,4	860	1012	11,4
21./22.	8,05	50,3	6,80	42,4	14,85	92,7	1,18	7,3	—	1053,1	1230	1110	11,7
22./23.	7,21	45,1	6,80	42,4	14,01	87,5	2,02	12,5	37,15	1267,1	1320	957	10,0
23./24.	7,40	46,2	6,80	42,4	14,20	88,6	1,83	11,4	—	1049,0	940	943	10,3
24./25.	7,09	44,3	6,80	42,4	13,89	86,7	2,14	13,3	37,15	1294,0	900	935	10,0
Im Mittel:	7,42	46,3	6,80	42,4	14,22	88,7	1,81	11,3	36,98	1149,7	1034	981	10,0

<sup>1)</sup> 72 Stunden aufgeschlossenes Roggenstroh.

<sup>2)</sup> Stärke Nr. 2.

<sup>3)</sup> Zucker Nr. 3.

<sup>4)</sup> Harnstoff Nr. 2.

Das Rohprotein wurde also zu 57,6% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,434 g Stickstoff bzw. 0,249 g resorbierbaren Stickstoff. Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 53 g.

Die Gewichtszunahme des Tieres ist hier wieder annähernd so groß wie während der Periode VI.

Der in der vorliegenden Strohstoff-Harnstoff-Periode VII produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 358,56 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
96,06	14,30	81,76	11,85	3,80 <sup>1)</sup>	20,85	45,26	8,00

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
358,56	344,43	51,27	293,16	42,50	13,62	74,76	162,28	28,68

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode VII verzehrten Futters.

Tabelle XXIII.

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	pro 100 kg Trocken- substanz
625 g Strohstoff . .	574,69	544,11	12,63	11,05	303,36	217,07	12,66			
222,3 g Kartoffel- stärke . . . . .	187,20	185,64	0,73	—	—	184,91	0,73			
68,12 g Rohrzucker .	68,08	68,05	0,14	—	—	67,91	—			
30 g Harnstoff . . .	29,84	29,81	} 86,64 <sup>2)</sup>	—	—	—	—			
56,88 g Rohrzucker .	56,86	56,83		—	—	—	—			
75,7 g Nährsalze . .	59,36	—		—	—	—	—	—		
Summa:	976,03	884,44	100,14	11,05	303,36	469,89	13,32	525,7	14,2	—
Der Kot enthielt:	344,43	293,16	42,50	13,62	74,76	162,28	28,68			
Es wurden somit } g	631,60	591,28	57,60	— 2,57	228,60	307,65	—15,36			
resorbiert } %	64,7	66,8	57,5	—23,3	75,4	65,4	—115,3			
Von d. Nährstoffen } g	—	276,02	— 4,84	— 2,57	228,60	54,83	—	230,6	—	40,1
des Strohstoffes } %	—	50,7	—38,8	—23,3	75,4	25,3	—			
wurden resorbiert }										

<sup>1)</sup> 3,02% freies Fett,  
0,78% Seifenfett,  
3,80% Gesamtfett.

<sup>2)</sup> Siehe die Anm. 2 auf S. 168.

Das aus dem Harnstoff gebildete Rohprotein wurde zu 72,2% resorbiert.

Bei sämtlichen vorstehend mitgeteilten Versuchen war an Kohlenhydraten außer Cellulose (Strohstoff) Stärke und Zucker verfüttert worden. Die folgenden Perioden VIII bis X, die an einem anderen ca. 40 kg schweren und etwa  $1\frac{1}{4}$  Jahr alten Hammel Nr. 4 durchgeführt wurden, bezweckten in der Hauptsache, Aufschluß darüber zu erhalten, ob der Wiederkäuer für die Eiweißsynthese aus Harnstoff des Zuckers bedarf, oder ob dieselbe auch bei Gegenwart von Stärke oder gar nur Cellulose (Strohstoff) möglich ist. Unter normalen Ernährungsbedingungen werden die Tiere zwar vielfach gewisse Zuckermengen mit den Pflanzenzellen aufnehmen, oft werden sie zuckerreiche Futterstoffe erhalten. Verfütterte Stärke kann in den Vormägen der Wiederkäuer durch ein diastatisches Speichelenzym allerdings nicht verzuckert werden, weil der Speichel der Wiederkäuer kein Ptyalin enthält (Zuntz). Wohl aber kann die in den verzehrten Pflanzenzellen enthaltene Diastase in den Vormägen noch wirksam sein. Bei den vorliegenden Versuchen kam natürlich Pflanzendiastase nicht in Betracht, weil nur isolierte Nährstoffe verabreicht wurden. Dagegen bestand die Möglichkeit, daß die Mikroorganismen des Verdauungsapparates Zucker aus Stärke und anderen Kohlenhydraten bilden und für die Synthese des Harnstoffs zu Eiweiß benutzen. In Periode VIII erhielt der Hammel Strohstoff und Stärke, und um die Ration geschmacklich zu verbessern, statt des Zuckers 0,3 g Saccharin. In Periode IX wurden wieder 112,98 g Stärke durch 125 g Zucker mit dem gleichen Stärkewert ersetzt, im übrigen stimmte die Ration mit der in der Periode VIII gereichten überein. In Periode X wurden Stärke und Zucker fortgelassen. Das Tier erhielt hier also nur Strohstoff, Harnstoff, Saccharin und Salze. In Periode XI schließlich wurde als stickstoffhaltige Nährstoffquelle statt des Harnstoffs auf Nährböden von Zucker und anorganischen Salzen gezüchtete sogenannte Mineralhefe gereicht, um den Einfluß der Eiweiß- im Vergleich zu der Harnstoffzufuhr (Periode X) auf die Resorbierbarkeit der Nährstoffe des Strohstoffs und insbesondere der Rohfaser zu studieren. Die Verdaulichkeit der Nährstoffe derselben Mineralhefe war früher in einem Versuch an einem Hammel, der die

Hefe als Zulage zu Heu erhielt, bestimmt worden<sup>1)</sup>. Die für die Nährstoffe der Mineralhefe<sup>2)</sup> ermittelten Verdauungswerte wären:

Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	N-freie Extraktstoffe %
74,2	86,1	20,2	66,1

Wir gehen nunmehr zu der Besprechung der an dem Hammel Nr. 4 durchgeführten Perioden VIII bis XI über. Die erforderlichen Daten für die Periode VIII enthalten die folgenden Übersichten.

### Periode VIII.

Vom 25. III. bis 16. IV. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 4.

Die Vorfütterung dauerte 9 Tage, der Hauptversuch 13 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>3)</sup>	mit 531,88 g Trockensubstanz und 2,836 g N
335,95 g Kartoffelstärke <sup>4)</sup>	" 281,66 g " " 0,274 g "
0,3125 g Saccharin	" 0,31 g " " 0,020 g "
30 g Harnstoff <sup>5)</sup>	" 29,84 g " " 13,863 g "
75,7 g Nährsalze	" 61,08 g "

Summa: 904,77 g Trockensubstanz und 16,993 g N

Das Gewicht des Tieres bei Beginn der Vorfütterung am 25. III. betrug 40,40 kg.

<sup>1)</sup> W. Völtz, Über die Verwertung der Brauereihefe im Vergleich zu der Mineralhefe durch den tierischen Organismus nach Versuchen an Hunden und an Wiederkäuern (Schafen). Wochenschr. f. Brauerei 1919, Nr. 7.

<sup>2)</sup> Die chemische Zusammensetzung der verfütterten Mineralhefe ist aus der Tabelle V auf S. 166 zu ersehen.

<sup>3)</sup> Roggenstroh, 24 Stunden aufgeschlossen.

<sup>4)</sup> Stärke Nr. 3. Anstatt 125 g Zucker — Periode VII — ist die im Stärkewert gleiche Menge Stärke = 112,98 g verabreicht worden und außerdem 222,97 g Stärke Nr. 3; letztere Menge entspricht den in Periode VII verfütterten 222,3 g Stärke Nr. 2.

<sup>5)</sup> Harnstoff Nr. 2.

Tabelle XXIV.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Harnmengen,  
Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung					N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stall- temperatur °C	
	im Harn	im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr						
1919	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	kg	g	ccm	ccm	°C
3./4. IV.	8,10	47,6	7,25	42,7	15,35	90,3	1,64	9,7	40,55	1344,1	640	710	8,8
4./5.	7,79	45,8	7,25	42,7	15,04	88,5	1,95	11,5	—	1286,6	240	525	8,3
5./6.	8,07	47,5	7,25	42,7	15,32	90,2	1,67	9,8	40,25	1440,2	560	722	13,0
6./7.	7,70	45,3	7,25	42,7	14,95	88,0	2,04	12,0	—	1483,2	425	710	10,8
7./8.	7,97	46,9	7,25	42,7	15,22	89,6	1,77	10,4	39,85	1375,3	515	739	12,2
8./9.	8,85	52,1	7,25	42,7	16,10	94,8	0,89	5,2	—	1331,2	580	700	12,6
9./10.	8,42	49,5	7,25	42,7	15,67	92,2	1,32	7,8	40,09	1352,4	610	613	11,0
10./11.	6,75	39,7	7,25	42,7	14,00	82,4	2,99	17,6	—	1497,4	500	471	9,8
11./12.	7,28	42,8	7,25	42,7	14,53	85,5	2,46	14,5	40,44	1378,6	480	615	10,8
12./13.	9,12	53,6	7,25	42,7	16,37	96,3	0,62	3,7	—	1244,6	680	975	12,0
13./14.	9,16	53,9	7,25	42,7	16,41	96,6	0,58	3,4	—	1288,7	350	634	11,4
14./15.	8,40	49,4	7,25	42,7	15,65	92,1	1,34	7,9	40,09	1405,0	400	642	12,8
15./16.	9,08	53,4	7,25	42,7	16,33	96,1	0,66	3,9	40,29	1178,1	365	620	12,5
Im Mittel:	8,21	48,3	7,25	42,7	15,46	91,0	1,53	9,0	40,22	1354,3	486	667	11,2

Das Rohprotein wurde also zu 57,3% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,422 g Stickstoff bzw. 0,242 g resorbierbaren Stickstoff. Die tägliche Gewichtsabnahme betrug im Mittel 8,0 g.

Trotzdem das Tier in dieser Periode keinen Zucker erhielt, ist der Harnstoff zur Eiweißsynthese verwendet worden.

Der in der vorliegenden Periode VIII produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 355,85 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
90,26	16,20	74,06	12,73	3,83 <sup>1)</sup>	21,77	35,73	9,86

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

- <sup>1)</sup> 3,20% freies Fett
- 0,63% Seifenfett
- 3,83% Gesamtfett.



Luft-trocke-ner Kot	Trocken-substanz	Asche	Organi-sche Substanz	Roh-protein	Roh-fett	Roh-faser	N-freie Extrakt-stoffe	Rein-eiweiß
355,85	321,19	57,60	263,59	45,31	13,63	77,47	127,18	35,09

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode VIII verzehrten Futters.

Tabelle XXV.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert	
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebendgewicht
625 g Strohstoff . .	531,88	493,91	17,73	13,38	266,94	195,86	17,73		
267,68 g Stärke . .	224,43	222,88	1,71	—	—	221,17	1,71		
0,3125 g Saccharin . .	0,31	0,31	0,31	—	—	—	—		
68,27 g Stärke . . .	57,23	56,84	86,64	—	—	—	—		
30,0 g Harnstoff . . .	29,84	29,80		—	—	—	—	—	
75,7 g Nährsalze . .	61,08	—	—	—	—	—	—		
Summa:	904,77	803,74	106,39	13,38	266,94	417,03	19,44	491,3	12,2
Der Kot enthielt:	321,19	263,59	45,31	13,63	77,47	127,18	35,09		
Somit resorbiert $\left\{ \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{‰} \end{array} \right.$	583,58	540,15	61,08	-0,25	189,47	289,85	-15,65		
Von d. Nährstoffen	64,5	67,2	57,4	-1,7	71,0	69,5	-80,5		
des Strohstoffs	—	251,00	-6,88	-0,25	189,47	68,68	—	206,3	—
wurden resorbiert $\left\{ \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{‰} \end{array} \right.$	—	50,8	-38,8	-1,7	71,0	85,1	—		

Das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß wurde zu 76,1% resorbiert.

## Periode IX.

Vom 16. IV. bis 2. V. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 4.

Die Vorfütterung dauerte 6 Tage, der Hauptversuch 10 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

625 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 531,88 g Trockensubstanz und 2,836 g N
222,97 g Kartoffelstärke <sup>2)</sup>	" 186,93 g " " 0,182 g "
125,0 g Rohrzucker <sup>3)</sup>	" 124,94 g " " 0,022 g "
30,0 g Harnstoff <sup>4)</sup>	" 29,68 g " " 13,909 g "
75,7 g Nährsalze	" 61,08 g

Summa: 934,51 g Trockensubstanz und 16,949 g N

<sup>1)</sup> Roggenstroh, 24 Stunden aufgeschlossen.

<sup>2)</sup> Stärke Nr. 3.

<sup>3)</sup> Zucker Nr. 3.

<sup>4)</sup> Harnstoff Nr. 3.

Das Gewicht des Tieres bei Beginn der Vorfütterung am 16. IV. betrug 40,29 kg.

Tabelle XXVI.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Harnmengen,  
Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stalltemperatur °C
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zufuhr					
1919	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr					
22./23. IV.	8,62	50,9	7,04	41,6	15,66	92,5	1,29	7,5	40,30	1469,6	800	620	9,8
23./24.	8,58	50,6	7,04	41,6	15,62	92,2	1,33	7,8	—	1375,0	810	672	10,9
24./25.	8,43	49,7	7,04	41,6	15,47	91,3	1,48	8,7	40,40	1336,5	625	690	9,5
25./26.	7,97	47,0	7,04	41,6	15,01	88,6	1,94	11,4	—	1131,7	840	705	9,5
26./27.	7,93	46,8	7,04	41,6	14,97	88,4	1,98	11,6	40,30	1459,6	790	720	10,5
27./28.	7,70	45,4	7,04	41,6	14,74	87,0	2,21	13,0	—	1307,6	800	773	9,5
28./29.	8,12	47,9	7,04	41,6	15,16	89,5	1,79	10,5	40,30	1318,8	922	628	8,9
29./30.	7,90	46,6	7,04	41,6	14,94	88,2	2,01	11,8	—	1425,8	830	595	8,6
30. IV./1. V.	7,95	46,9	7,04	41,6	14,99	88,5	1,96	11,5	—	1344,5	700	755	10,0
1./2.	8,24	48,6	7,04	41,6	15,28	90,2	1,67	9,8	41,00	1215,1	982	760	10,1
Im Mittel:	8,14	48,0	7,04	41,6	15,18	89,6	1,77	10,4	40,46	1338,4	810	692	9,7

Das Rohprotein wurde also zu 58,4% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,418 g Stickstoff bzw. 0,245 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 44 g.

Wesentliche Unterschiede bezüglich der N-Bilanzen in den Perioden VIII und IX bestanden also nicht. Der Harnstoff wird also ebenso gut zur Eiweißsynthese verwertet, wenn statt des Zuckers Stärke hierfür zur Verfügung steht.

Der in der vorliegenden Strohstoff-Harnstoffperiode IX produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 365,88 g und enthält in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
88,88	16,17	72,71	12,03	3,70 <sup>1)</sup>	21,74	35,24	10,60

<sup>1)</sup> 2,70% Rohfett  
1,00% Seifenfett  
3,70% Gesamtfett.

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft-trocke-ner Kot	Trocken-substanz	Asche	Organi-sche Substanz	Roh-protein	Roh-fett	Roh-faser	N-freie Extrakt-stoffe	Rein-eiweiß
365,88	325,19	59,16	266,03	44,00	13,54	79,54	128,95	38,78

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode IX verzehrten Futters.

Tabelle XXVII.

	Trocken-substanz	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend-gewicht	pro 100 kg Trocken-substanz
625 g Strohstoff . .	531,88	493,91	17,73	13,38	266,94	195,86	17,73			
222,97 g Kartoffel-Stärke . . . . .	186,93	185,65	1,14	—	—	184,51	1,14			
67,6 g Rohrzucker .	67,57	67,54	0,14	—	—	67,40	—			
57,4 g Rohrzucker .	57,37	57,34	86,93	—	—	—	—			
30 g Harnstoff . . .	29,68	29,59		—	—	—	—	—		
75,7 g Nährsalze . .	61,08	—	—	—	—	—	—			
Summa:	934,51	834,03	105,94	13,38	266,94	447,77	18,87	501,69	12,4	—
Der Kot enthielt:	325,19	266,03	44,00	13,54	79,54	128,95	38,78			
Somit resorbiert { g %	609,32 65,2	568,00 68,1	61,94 58,5	—0,16 —1,2	187,40 70,2	318,82 71,2	—19,91 —105,5			
Von d. Nährstoffen des Strohstoffs wurden resorbiert { g %	— —	247,27 50,1	—6,88 —38,8	—0,16 —1,2	187,40 70,2	66,91 34,3	— —	201,40	—	37,9

Das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß wurde zu 77,7% resorbiert.

Auch hinsichtlich der Resorption und Verwertung der Nährstoffe hat der Ersatz des Zuckers (Periode IX) durch Stärke (Periode VIII) in Übereinstimmung mit den Stickstoffbilanzen keine in Betracht kommenden Unterschiede bewirkt.

## Periode X.

Vom 2. V. bis 21. V. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 4.

Die Vorfütterung dauerte 10 Tage, der Hauptversuch 9 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

1000 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit	867,50 g Trockensubstanz	und	4,626 g N
30 g Harnstoff <sup>2)</sup>	"	29,68 g	"	13,909 g "
0,3125 g Saccharin <sup>3)</sup>	"	— g	"	0,022 g "
75,7 g Nährsalze	"	60,03 g	"	— g "

Summa: 957,21 g Trockensubstanz und 18,557 g N

Das Gewicht des Tieres bei Beginn des Vorversuches am 2. V. betrug 41,0 kg.

Tabelle XXVIII.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Harnmengen, Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung					N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stall- temperatur °C	
	im Harn		im Kot		Summa	g	% d. Zu- fuhr						
	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr									
1919													
12./13. V.	12,05	64,9	7,27	39,2	19,32	104,1	-0,76	-4,1	40,00	1378,8	1400	755	20,5
13./14.	10,44	56,2	7,27	39,2	17,71	95,4	0,85	4,6	—	1409,1	1000	650	18,8
14./15.	10,94	58,9	7,27	39,2	18,21	98,1	0,35	1,9	39,75	1811,2	1300	770	18,4
15./16.	10,20	54,9	7,27	39,2	17,47	94,1	1,09	5,9	—	1435,8	1510	652	18,5
16./17.	10,84	58,4	7,27	39,2	18,11	97,6	0,45	2,4	39,25	1566,2	1485	780	18,4
17./18.	10,97	59,1	7,27	39,2	18,24	98,3	0,32	1,7	—	1468,5	1500	713	14,4
18./19.	10,24	55,2	7,27	39,2	17,51	94,4	1,05	5,6	39,55	1323,1	1300	630	13,2
19./20.	11,21	60,4	7,27	39,2	18,48	99,6	0,08	0,4	—	1165,8	915	750	13,5
20./21.	11,12	59,9	7,27	39,2	18,39	99,1	0,17	0,9	39,25	1086,0	970	730	13,5
Im Mittel:	10,89	58,7	7,27	39,2	18,16	97,9	0,40	2,1	39,80	1404,9	1264	714	16,6

Das Rohprotein wurde also zu 60,8% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,466 g Stickstoff bzw. 0,283 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtsabnahme betrug im Mittel 194 g.

Trotzdem das Tier hier weder Zucker noch Stärke erhielt, hat es sich nahezu in das N-Gleichgewicht setzen können. Dasselbe wäre bei einem N-Ansatz von ca. 0,8 g, die für den Zuwachs an Epidermisgebilden erforderlich sind, erreicht worden. Die Bakterien müssen also

<sup>1)</sup> Roggenstroh, 24 Stunden aufgeschlossen. Den in Periode VIII verfütterten 336 g Stärke entsprechen in bezug auf den Stärkewert 585 g Strohstoff, daher wurden während der ersten Tage der Vorfütterung 585 g + 625 g = 1210 g Strohstoff gegeben. Am 3. Tage (4./5.) verzehrte der Hammel die Ration nicht. Es wurde daher kein Futter verabreicht. Der Hammel fraß an den ersten 6 Tagen der Vorfütterung 5 Rationen mit je 1210 g, bzw. im Mittel täglich 1008 g. An den letzten 4 Tagen der Vorfütterung wurden die Rationen, wie während des ganzen Hauptversuchs, auf 1000 g Strohstoff herabgesetzt.

<sup>2)</sup> Harnstoff Nr. 3.

<sup>3)</sup> 0,3125 g Saccharin in 125 ccm H<sub>2</sub>O gelöst.

die Fähigkeit haben, Spaltungsprodukte der Cellulose in einem gewissen Umfange mit Harnstoff zu Eiweiß aufzubauen. Zucker oder Stärke können in dieser Hinsicht durch Cellulose freilich nicht voll ersetzt werden.

Der in der vorliegenden Strohstoff-Harnstoff-Periode X produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 450,42 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
91,65	17,06	74,59	10,09	4,33 <sup>1)</sup>	14,14	46,03	6,03

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
450,42	412,81	76,84	335,97	45,44	19,50	63,69	207,34	27,16

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode X verzehrten Futters.

Tabelle XXIX.

	Trocken- substanz	Organische Substanz <sup>2)</sup>	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reineiweiß	Stärkewert		
								g pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	pro 100 kg Trocken- substanz
942,66 g Strohstoff .	810,16	748,26	28,90	21,80	435,40	262,16	28,90			
30 g Harnstoff . . .	29,68	29,59	} 86,93 <sup>2)</sup>	—	—	—	—	—	—	—
57,34 g N-freie Extrakt- stoffe vom Strohstoff	57,34	57,34								
0,3125 g Saccharin .	0,31	0,31								
75,7 g Nährsalze . .	60,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Summa:	957,54	835,50	116,14	21,80	435,40	262,16	28,90	460,40	11,57	—
Der Kot enthielt . .	412,81	335,97	45,44	19,50	63,69	207,34	27,16			
Somit resorbiert {	g	499,53	70,70	2,30	371,71	54,82	1,74			
%}	56,9	59,8	60,9	10,6	85,4	20,9	6,0			
Von d. Nährstoffen des Strohstoffs wurden resorbiert {	g	417,61	— 11,22	2,30	371,71	54,82	—	383,39	—	47,3
%}	—	55,8	— 38,8	10,6	85,4	20,9	—			

<sup>1)</sup> 3,25% Rohfett

1,08% Seifenfett

4,33% Gesamtfett.

<sup>2)</sup> Um den Harnstoff auf „Rohprotein“ zu berechnen, sind hier die erforderlichen Mengen von N-haltigen Extraktstoffen des Strohstoffs mit einbezogen worden.

Das aus dem Harnstoff gebildete Rohprotein wurde zu 93,9% resorbiert.

Infolge der Inanspruchnahme von 57,34 g verdauten N-freien Extraktstoffen für die Synthese des Harnstoffs zu Eiweiß sind die in der letzten Rubrik der vorstehenden Tabelle XXIX berechneten Verdauungswerte für die Nährstoffe des Strohstoffs bei der organischen Substanz und bei den N-freien Extraktstoffen zu niedrig ausgefallen. In Wirklichkeit sind 57,34 g organischer Substanz und ebensoviel N-freie Extraktstoffe des Strohstoffs mehr resorbiert worden, als hier verzeichnet worden ist. Demgemäß berechnet sich für den Strohstoff folgender Gehalt an verdaulichen Nährstoffen und an Stärkewert:

	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Stärkewert	
						pro Kopf	pro 100 kg Trocken-Substanz
Von d. Nährstoffen des Strohstoffs wurden resorbiert	474,95 59,0	- 11,22 - 38,8	2,30 10,6	371,71 85,4	112,16 35,1	— 441,73	— 50,9

Die Verdauungswerte für das Gesamtfutter betragen für die Perioden VIII bis X:

	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Reinweiß
	%	%	%	%	%	%
Mittelwerte aus Periode VIII und IX mit Stärke und Zucker . . . . .	64,4	58,0	- 19,3	65,4	68,0	- 9,3
Periode X ohne Stärke und Zucker	59,8	60,9	10,6	85,4	20,9	6,0

Bei Gegenwart von Stärke und Zucker (Perioden VIII und IX) haben die Mikroorganismen des Verdauungsapparates also hauptsächlich die genannten leicht aufnehmbaren Kohlenhydrate als Energiequellen benutzt und die Cellulose geschont, die in Periode X beim Fehlen von Stärke und Zucker weit höher verdaut wurde. Die Verdauungsdepression der Rohfaser im Mittel der Perioden VIII und IX betrug im Vergleich zu Periode X 23,4%.

Die Verdauungs- und Stärkewerte für den Strohstoff von 24 Stunden aufgeschlossenem Roggenstrohhacksel waren bei gleichzeitiger Verfütterung von Stärke und Zucker:

	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Rohfett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Stärke- wert pro 100 kg Trocken- substanz kg
	%	%	%	%	%	
Periode VIII. . .	50,8	— 38,8	— 1,7	71,0	35,1	38,8
Periode IX . . .	50,1	— 38,8	— 1,2	70,2	34,3	37,9
Im Mittel . . .	50,5	— 38,8	— 1,5	70,6	34,7	38,4

In Periode X ohne Zucker und Stärke wurden dagegen folgende Verdauungs- und Stärkewerte für den Strohstoff bestimmt:  
 Periode X . . . | 59,0 | — 38,8 | — 10,6 | 85,4 | 35,1 | 50,9

Die Verdauungsdepressionen betragen demnach im Mittel der Perioden VIII und IX gegenüber der Periode X:  
 Im Mittel . . . | 14,4 | — | — | 17,3 | 1,2 | 24,6

Diese Verminderung der Verdaulichkeit ist so erheblich, daß die Beifütterung größerer Mengen zucker- und stärkereicher Futterstoffe zu Strohstoff nicht empfohlen werden kann.

#### Periode XI.

Vom 21. V. bis 7. VI. 1919.

Versuchstier: Hammel Nr. 4.

Die Vorfütterung dauerte 8 Tage, der Hauptversuch 9 Tage. Das Tier verzehrte täglich:

1000 g Strohstoff <sup>1)</sup>	mit 883,70 g Trockensubstanz und 4,712 g N
200 g Mineralhefe	" 169,90 g " " 13,760 g "
5 g Kochsalz	" — g " " — "
0,2 g Eisenchlorid	" — g " " — "

Summa: 1053,60 g Trockensubstanz und 18,472 g N

Das Tier wog bei Beginn der Vorfütterung am 21. V. 39,25 kg.

#### Tabelle XXX.

Stickstoffbilanzen, Lebendgewichte, Kotgewichte, Harnmengen, Trinkwasser, Stalltemperaturen.

Datum	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz		Gewicht des Tieres kg	Gewicht des frischen Kotes g	Trinkwasser ccm	Harnmenge ccm	Stall- temperatur °C
	im Harn	im Kot		Summa		g	% der Zu- fuhr						
1919	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	g	% der Zu- fuhr	kg	g	ccm	ccm	°C
29/30. V.	8,02	43,4	8,50	46,0	16,52	89,4	1,95	10,6	41,15	1569,8	1670	395	17,7
30./31.	7,80	42,2	8,50	46,0	16,30	88,2	2,17	11,8	40,90	1737,3	1425	370	19,0
31. V./1. VI.	8,49	46,0	8,50	46,0	16,99	92,0	1,48	8,0	—	1670,2	1550	510	20,6
1./2. VI.	7,45	40,3	8,50	46,0	15,95	86,3	2,52	13,7	40,95	1408,5	1735	475	17,2
2./3.	6,89	37,3	8,50	46,0	15,39	83,3	3,08	16,7	—	1632,0	1340	390	16,7
3./4.	7,02	38,0	8,50	46,0	15,52	84,0	2,95	16,0	40,45	1409,4	1265	490	16,6
4./5.	7,60	41,2	8,50	46,0	16,10	87,2	2,37	12,8	—	1522,1	1320	430	13,8
5./6.	Harnverlust		8,50	46,0	—	—	—	—	40,25	1703,1	—	—	—
6./7.	7,34	39,7	8,50	46,0	15,84	85,7	2,63	14,3	40,55	1436,3	1740	390	16,0
Im Mittel:	7,58	41,0	8,50	46,0	16,08	87,0	2,39	13,0	40,50	1565,4	1506	431	17,2

<sup>1)</sup> 24 Stunden aufgeschlossenes Roggenstroh.

Das Rohprotein wurde also zu 54,0% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,456 g Stickstoff bzw. 0,246 g resorbierbaren Stickstoff.

Die tägliche Gewichtszunahme betrug im Mittel 76 g.

Der Stickstoffansatz ist mit 2,39 g im Mittel pro Tag höher als in den Harnstoffperioden VIII und IX an demselben Tier. Er betrug in Periode VIII 1,53 g und in Periode IX 1,77 g. Die resorbierbaren Mengen an Rohprotein waren in allen 3 Perioden ziemlich übereinstimmend, sie betragen nämlich:

in der Harnstoffperiode VIII . . . . .	61,08 g
"    "    "    IX . . . . .	61,94 g
"    "    Hefeperiode XI . . . . .	62,33 g.

Dagegen betrug der Stärkewert der Rationen pro 1000 kg Lebendgewicht und Tag:

in Periode VIII . . . . .	10,34 kg
"    "    IX . . . . .	10,54 kg
"    "    XI . . . . .	14,15 kg.

In Periode XI wurden somit um rund 35,5% an Stärkewert mehr aufgenommen, als dem Durchschnitt der Perioden VIII und IX entspricht. Der in der Hefeperiode XI beobachtete etwas höhere Eiweißansatz erklärt sich vollkommen durch die eiweißsparende Wirkung der mehr verzehrten Kohlenhydrate.

Der in der vorliegenden Strohstoff-Hefe-Periode XI produzierte Kot wog im Mittel pro Tag lufttrocken 450,82 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
94,41	16,96	77,45	11,78	5,21 <sup>1)</sup>	16,96	43,50	5,98

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro Tag:

Luft- trocke- ner Kot	Trocken- substanz	Asche	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Roh- faser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
450,82	425,62	76,46	349,16	53,11	23,49	76,46	196,10	26,96

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte für die Nährstoffe des in der vorliegenden Periode XI verzehrten Futters.

<sup>1)</sup> 3,89% Rohfett  
 1,32% Seifenfett  
 5,21% Gesamtfett.



Tabelle XXXI.

	Trocken- substanz	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Rein- eiweiß
1000 g Strohstoff	883,70	820,64	29,44	22,21	443,53	325,46	29,44
200 g Mineralhefe	169,90	150,72	86,00	—	—	64,72	77,70
5 g Kochsalz . .	—	—	—	—	—	—	—
Summa:	1053,60	971,36	115,44	22,21	443,53	390,18	107,14
Der Kot enthielt:	425,62	349,16	53,11	23,49	76,46	196,10	26,96
Somit resorbiert } g	627,98	622,20	62,33	—1,28	367,07	194,08	80,18
resorbiert } %	59,6	64,5	53,9	—5,8	82,8	49,7	74,9

Die Hefenährstoffe waren bei dem früher mit derselben Substanz ausgeführten Versuch (siehe die Anm. 1 auf S. 192) zu folgenden Prozentsätzen resorbiert worden:

- die organische Substanz zu . . . . . 74,2%  
das Rohprotein zu . . . . . 86,1%  
das Rohfett zu . . . . . 30,2%  
die N-freien Extraktstoffe zu . . . . . 66,1%.

Die Verdauungswerte für die Nährstoffe des Strohstoffs sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle XXXII.

	Organi- sche Substanz	Roh- protein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Stärkewert pro 100 kg Trocken- substanz
In den Faeces der Haupt- periode . . . . .	349,16	53,11	23,49	76,46	196,10	
Hiervon Kot von 200 g Hefe	38,88	11,98	8,58	—	18,32	
Kot vom Strohstoff . . .	310,28	41,13	14,91	76,46	177,78	
Die verfütterten 1000 g Strohstoff enthielten . .	820,64	29,44	22,21	443,53	325,46	
Somit wurden von dem } g Strohstoff resorbiert } %	510,36	11,69	7,30	367,07	147,68	
Die Verdauungswerte für denselben Strohstoff be- tragen in der Strohstoff- Harnstoffperiode X da- gegen . . . . . %	62,2	— 89,7	32,9	82,8	45,4	53,6
	59,0	— 33,8	10,6	85,4	35,1	50,9

Die Übereinstimmung hinsichtlich der Resorption der Nährstoffe des Strohstoffs ist hiernach eine durchaus befriedigende, obwohl in einem Falle (Periode IX) als ausschließliche N-haltige Nährstoffquelle Harnstoff, im zweiten Fall (Periode XI) dagegen

Tabelle XXXIII.

155tägige ununterbrochene Versuchsreihe mit Harnstoff als ausschließlicher Stickstoffquelle an dem Hammellamm Nr. 1.

Periode Nr.	Versuchsdauer Tage	Futtermittelverzehr pro Tag	Stickstoffgehalt des Futters g	Stickstoff- ausscheidung			Stickstoffansatz g	Eiweißansatz g	Gewicht des Hammels kg	Stalltemperatur °C	Stärkewert der Ration	
				im Harn g	im Kot g	Sum- ma g					g pro Kopf	pro 1000 kg Lebendgew. und Tag kg
I	17	500,0 g 18 Std. aufgeschlossene Spreu, 100,0 g Stärke, 100,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 19,2 g Salze	17,23	11,63	3,94	15,57	1,66	10,4	29,94	11,1	474,2	15,8
II	26	625,0 g 18 Std. aufgeschlossene Spreu, 125,0 g Stärke, 125,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 35,8 g Salze	18,03	9,26	6,52	15,78	2,25	14,1	31,51	8,1	537,9	17,1
III	25	625,0 g 24 Std. aufgeschlossenes Stroh, 125,0 g Stärke, 125,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 30,2 g Salze	17,08	8,13	5,72	13,85	3,23	20,2	33,40	6,8	490,0	14,7
IV	18	625,0 g 12 Std. aufgeschlossenes Stroh, 125,0 g Stärke, 125,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 30,2 g Salze	17,25	7,81	6,75	14,55	2,69	16,8	34,70	7,2	454,5	13,1
V	22	625,0 g 3 Std. aufgeschlossene Spreu, 125,0 g Stärke, 125,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 30,2 g Salze	18,14	10,01	6,54	16,55	1,58	9,9	34,29	4,9	471,0	13,7
VI	24	625,0 g 72 Std. aufgeschlossenes Stroh, 122,3 g Stärke, 30,0 g Harnstoff, 125,0 g Zucker, 30,2 g Salze	16,19	8,22	6,12	14,34	1,84	11,5	35,56	11,6	467,7	13,2
VII	23	625,0 g 72 Std. aufgeschlossenes Stroh, 222,3 g Stärke, 125,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 75,5 g Salze	16,02	7,42	6,80	14,12	1,81	11,3	36,98	10,0	525,7	14,2

Tabelle XXXIV.

Versuche mit Harnstoff als ausschließlicher Stickstoffquelle an den Hammellämmern Nr. 2 (Periode Ia) und 4 (Perioden VIII, IX und X).

Periode Nr.	Versuchsdauer Tage	Futtermittelverzehr pro Tag	Stickstoffgehalt des Futters g	Stickstoff- ausscheidung			Stickstoffansatz g	Eiweißansatz g	Gewicht des Hammels kg	Stalltemperatur °C	Stärkewert der Ration	
				im Harn g	im Kot g	Sum- ma g					pro Kopf g	pro 1000 kg Lebendgew. und Tag kg
Ia	17	500,0 g 18 Std. auf- geschlossen. Roggen- streu, 100,0 g Stärke, 100,0 g Zucker, 30,0 g Harnstoff, 19,2 g Salzgemisch	17,23	11,52	4,79	16,31	0,92	5,8	31,70	11,3	455,3	14,4
VIII	22	625,00 g 24 Std. auf- geschlossen. Roggen- stroh, 335,95 g Stärke, 0,312 g Saccharin, 30,00 g Harnstoff, 75,70 g Salze	16,99	8,21	7,25	15,46	1,53	9,6	40,22	11,2	491,3	12,2
IX	16	625,00 g 24 Std. auf- geschlossen. Roggen- stroh, 222,97 g Stärke, 125,00 g Rohrzucker, 30,00 g Harnstoff, 75,70 g Salze	16,95	8,14	7,04	15,18	1,77	11,1	40,46	9,7	501,7	12,4
X	19	1000,00 g 24 Std. auf- geschlossen. Roggen- stroh, 0,31 g Saccharin, 30,00 g Harnstoff, 75,70 g Salze	18,56	10,89	7,27	18,16	0,40	2,5	39,80	16,6	460,4	11,6

Hefe verfüttert worden war. Für das Rohprotein des Strohstoffs wurde in der Hefeperiode XI eine starke Verdauungsdepression von rund 40% beobachtet. Dieselbe ist durch eine Vermehrung der N-haltigen Stoffwechselprodukte des Darmes bedingt (S. 176) und auch von anderer Seite beobachtet worden<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> H. Wagner und G. Schöler, Der nach dem Beckmannschen Verfahren hergestellte Strohstoff und seine Verdaulichkeit. Fühlings Landw. Zeitg. 68, 234 bis 328, 1919, Heft 11/12.

In der Periode IIa ohne Harnstoff betrug die Verdauungsdepression für den Strohstoffstickstoff 37,8%. Dieser Wert stimmt mit dem in der vorliegenden Strohstoff-Hefe-Periode XI gefundenen von 39,7% gut überein.

Einen Überblick über die an den Hammellämmern Nr. 1, 2 und 4 bei Harnstofffütterung beobachteten N-Bilanzen, über die Gewichtsveränderungen der Tiere und über den Stärkewert der Rationen geben die vorstehenden Tabellen XXXIII und XXXIV.

Wir ersehen aus der vorstehenden Tabelle XXXIII nun, daß das Hammellamm Nr. 1 während der ununterbrochenen 155-tägigen Versuchsreihe täglich rund 10 bis 20 g Eiweiß ansetzte. Desgleichen ist aus den Versuchen an den Hammellämmern Nr. 2 und 4 (siehe die Tab. XXXIV) die Synthese des Harnstoffs zu Eiweiß erwiesen. Der Harnstoff hat also die Rolle des Nahrungseiweißes im Stoffwechsel des wachsenden Wiederkäuers übernommen. Die abweichenden Zahlen für den Stickstoff- bzw. Fleischansatz in den einzelnen Perioden erklären sich zum Teil aus der wechselnden Zufuhr an Gesamtnährstoffen (Stärkewert). In der Periode I dürfte ferner eine ungenügende Zufuhr an Mineralsubstanzen etwas ungünstigere Stickstoffbilanzen bedingt haben, bei Periode V ist außerdem die niedrige Stalltemperatur von 4,9° für den relativ geringen N-Ansatz zum Teil verantwortlich zu machen. Wir wissen ferner, daß sogar bei gleicher Ernährung der Stickstoffumsatz auch an demselben Tier durchaus nicht ganz gleichmäßig erfolgt. Bald sinkt die Kurve für den Stickstoffumsatz vorübergehend, bald schnellte sie wieder stärker empor<sup>1)</sup>. Wir haben es hier mit Periodizitätserscheinungen zu tun, denen wir beim Studium der Lebensvorgänge so häufig begegnen. Schließlich kommt in Betracht, daß der Fleischansatz ceteris paribus bei fortschreitender Versuchsdauer geringer werden und nach dem Abschluß des Wachstums sogar ganz aufhören muß. Im großen Durchschnitt unserer 155-tägigen Versuchsreihe an dem Hammel-

<sup>1)</sup> W. Völtz, Über den Einfluß verschiedener Eiweißkörper und einiger Derivate derselben auf den Stickstoffumsatz mit besonderer Berücksichtigung des Asparagins. Arch. f. d. ges. Physiol. 107, 360 bis 414, 1905.

lamm Nr. 1 haben wir einen beträchtlichen Fleischansatz aus Harnstoff festzustellen. In allen Versuchen enthielt der Kot mehr an Reineiweiß als das Futter. Im Mittel betrug dieses Plus, das sich aus der Beimengung von stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukten, lebenden Bakterien und unverdauten Bakterienresten zu den unverdaulichen Futterbestandteilen erklärt, etwa 25<sup>0</sup>/<sub>0</sub> des Futterstickstoffes. Dem Fleischansatz entsprechend nahm das Hammellamm erheblich und im allgemeinen kontinuierlich an Gewicht zu. Es wog z. B. bei Beginn der Periode I am 21. X. 1918 29,25 kg, am 25. III. 1919 dagegen 37,55 kg, das bedeutet eine Erhöhung des Lebendgewichtes um 7,9, bzw. 27,0<sup>0</sup>/<sub>0</sub> innerhalb 155 Tagen. Wenn sich die Feststellungen lediglich auf den quantitativen Verzehr der mitgeteilten Futterrationen und auf die fortlaufende Kontrolle der Lebendgewichtsveränderungen erstreckt hätten, so würde dennoch, also auch ohne die Durchführung der mitgeteilten Stickstoffbilanzen, bei der erzielten Lebendgewichtszunahme von 27<sup>0</sup>/<sub>0</sub> die Verwendung des Harnstoffes für die Fleischbildung bewiesen worden sein.

Die in die Tabelle XXXIV eingetragenen Werte für den N-Umsatz und Ansatz an dem Hammellamm Nr. 2 beweisen, wie erwähnt, gleichfalls den Ersatz des Nahrungseiweißes durch Harnstoff. Der geringe N-Ansatz in Periode X ist, wie früher bereits dargelegt, dadurch bedingt, daß Zucker und Stärke bei der Synthese des Harnstoffs zu Eiweiß durch die Cellulose nicht voll ersetzt werden können.

Von Interesse ist schließlich noch ein Vergleich der aus dem Fleisch- und dem Wollzuwachs berechneten, mit der durch Wägungen direkt bestimmten Gewichtszunahme des Lammes Nr. 1. Für den täglichen Zuwachs an Wolle werden nach eigenen Feststellungen bei Merinoschafen gleicher Schwere etwa 0,7 g Stickstoff benötigt, für andere Epidermoidalgebilde (Klauen usw.) schätzungsweise 0,1 g Stickstoff pro Tag. Für die Fleischbildung bleiben demnach die in der Tabelle I mitgeteilten Werte für den Stickstoffansatz abzüglich 0,8 g Stickstoff pro Tag verfügbar.

Die betreffenden Daten enthält die folgende Tabelle XXXV.

Tabelle XXXV.

	Der Stickstoff- ansatz für die Fleischbildg. betrug im Mittel pro Tg. g	Versuchs- dauer Tage	Der N-Ansatz für die Fleischbildung betrug ins- gesamt g	Der Fleisch- ansatz (N $\times$ 30) betrug insge- samt g
In Periode I . . .	0,86	17	14,62	438,6
" " II . . .	1,54	26	37,70	1131,0
" " III . . .	2,43	25	60,75	1822,5
" " IV . . .	1,89	18	34,02	1020,6
" " V . . .	0,78	22	17,16	514,8
" " VI . . .	1,04	24	24,96	748,8
" " VII . . .	1,00	23	23,00	690,0
Sa.	N-Ansatz im Gesamtmittel pro Tag war: 1,369	155	212,21	6366,3
			Übertrag Sa.:	6366,3 g

Für den Zuwachs an Wolle wurden täglich 0,7 g N benötigt.

Die Wolle des Lammes enthielt 87,39% Trockensubstanz und 9,95% N. Die in 155 Tagen gewachsene

Wolle wog demnach . . . . . 1090,5 g

Der Zuwachs an anderen Epidermoidalgebilden dürfte schätzungsweise wiegen . . . . . 100,0 g

Die Gewichtszunahme berechnet sich demnach für 155 Tage zu 7556,8 g

Nun betrug das Gewicht des Lammes am ersten Tage der

Periode I . . . . . 29,25 kg

und am letzten Tage der Periode VII 37,15 kg

Die wirkliche Gewichtszunahme war demnach . . . . . 7900,0 g.

Die Übereinstimmung zwischen der aus den Stickstoffbilanzen und dem Wollzuwachs berechneten und der durch Wägung direkt bestimmten Gewichtszunahme ist eine durchaus befriedigende, da Veränderungen im Wasser- und Fettgehalt des Organismus bei der Berechnung der Gewichtszunahme aus den Stickstoffbilanzen usw. nicht berücksichtigt werden konnten. Der durch die Wägungen des Tieres direkt bestimmte Wert ist um nur 343 g bzw. 4,5% höher als der berechnete. Die Versuche lassen nur den Schluß zu, daß der Harnstoff die Rolle des Nahrungseiweißes beim wachsenden Wiederkäuer übernommen hat.

Nach dem Abschluß der Bilanzversuche von 155tägiger Dauer wurde der Versuch an dem Hammellamm Nr. 1 bei

quantitativer Futterzumessung ohne Unterbrechung weitere 87 Tage bis zum 19. VI. 1919 fortgesetzt, nur wurde auf eine Sammlung von Kot und Harn verzichtet, um dem Tier eine größere Bewegungsmöglichkeit zu schaffen. Am 23. IV. erfolgte die Wollschur. Infolge der Entfernung des Wollkleides, der niedrigen Außentemperatur und der Unmöglichkeit, sich in dem Zwangskäfig willkürlich bewegen zu können, stand das Tier in den ersten Tagen oft zitternd da; es hatte daher einen erhöhten Stoffumsatz, der auch in einer Verringerung des Körpergewichtes zum Ausdruck kam. Die starke Abkühlung der Haut bewirkte außerdem einen Katarrh der Nasenschleimhäute. Bei der letzten Wägung vor der Wollschur am 21. IV. wog der Hammel 38,7 kg. Dieses Gewicht wurde erst wieder nach 9 Tagen, nämlich am 30. IV. erreicht. Vom 1. V. ab wurde der Hammel an schönen Tagen mehrere Stunden täglich in einen abgeschlossenen, nicht überdachten, vegetationslosen Platz von etwa 20 qm Fläche ins Freie gelassen, um Licht und Freiluft zu haben und sich willkürlich bewegen zu können. Alle erforderlichen Daten bezüglich der Futtergaben, der Gewichtsveränderungen usw. enthält die folgende Tabelle XXXVI. An Nährsalzen wurde nahezu die gleiche Menge verabreicht wie in den letzten Bilanzversuchen.

Nach der nachstehenden Tabelle XXXVI hatte das Gewicht des Hammels am 25. III. = 37,15 kg und nach der 87tägigen Harnstofffütterung am 19. VI. dagegen 41,20 kg betragen. Die erzielte Gewichtszunahme war demnach 4,05 kg. Das Ergebnis dieses Versuches steht also mit dem der 155tägigen Bilanzversuche in vollem Einklang. Innerhalb der gesamten 242tägigen, also 8monatigen Versuchsdauer hatte das Hammellamm bei Harnstofffütterung als Ersatz für das Nahrungseiweiß 11,95 kg an Lebendgewicht zugenommen, das sind 40,8% seines ursprünglichen Gewichts von 29,25 kg.

Endlich ist untersucht worden, ob das Protein des abgeschlossenen Strohes, für das im Tierversuch stets negative Verdauungswerte gefunden wurden, bei der künstlichen Verdauung zum Teil löslich ist. Desgleichen wurde der Gehalt der Faeces an sogenannten N-haltigen Stoffwechselprodukten ebenfalls durch Behandlung derselben mit Pepsin und Salzsäure bestimmt.

Tabelle XXXVI.

87 tägige Fütterungsperiode an dem Hammel Nr. 1 in unmittelbarem Anschluß an die Bilanzversuche. (Siehe die Tab. XXXIII.)

Datum	Futtermittelverzehr pro Kopf und Tag außer Mineralstoffen	Verdauliches Rohprotein		Stärkewert		Gewicht des Hammels	
		pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	pro Kopf	pro 1000 kg Lebend- gewicht	kg	
1919		g	kg	g	kg		
25. III.	681,80 g Strohstoff	62,8	1,69	574	15,4	37,15	
28.	242,50 g Stärke	62,8	1,64	574	15,0	38,35	
31.	136,40 g Zucker	62,8	1,64	574	15,0	38,40	
3. IV.	32,70 g Harnstoff	62,8	1,64	574	15,0	38,80	
5.	= Sa. 999,96 g Trockensubst. im Mittel pro Tag	62,8	1,58	574	14,4	39,80	
6. IV.		65,4	1,64	598	15,0	—	
7.		65,4	1,67	598	15,3	39,20	
10.	709,47 g Strohstoff	65,4	1,70	598	15,6	38,40	
12.	256,09 g Stärke	65,4	1,64	598	15,0	39,80	
15.	141,60 g Zucker	65,4	1,69	598	15,5	38,60	
17.	30,00 g Harnstoff	65,4	1,68	598	15,4	38,90	
19.	= Sa. 1041,48 g Trockensubst.	65,4	1,70	598	15,6	38,40	
21.	im Mittel pro Tag	65,4	1,69	598	15,5	38,70	
23.		65,4	1,74	598	15,9	Ohne Wolle 35,0 <sup>1)</sup>	Mit Wolle 37,5
24. IV.	709,47 g Strohstoff	64,9	1,73	592	15,8	—	
25.	256,09 g Stärke	64,9	1,72	592	15,7	35,3	37,8
27.	146,21 g Zucker	64,9	1,70	592	15,5	35,6	38,1
29.	33,19 g Harnstoff	64,9	1,68	592	15,3	36,2	38,7
	= Sa. 1032,41 g Trockensubst. im Mittel pro Tag						
1. V.	709,47 g Strohstoff	64,1	1,66	585	15,1	—	
2.	240,61 g Stärke	64,1	1,60	585	14,6	37,5	40,0
5.	146,21 g Zucker	64,1	1,62	585	14,8	36,7	39,5
9.	33,19 g Harnstoff	64,1	1,66	585	15,2	36,1	38,6
	= Sa. 1019,69 g Trockensubst. im Mittel pro Tag						
12. V.		60,3	1,57	550	14,3	35,9	38,4
16.		60,3	1,55	550	14,1	36,5	39,0
19.		60,3	1,54	550	14,0	36,6	39,1
23.	673,08 g Strohstoff	60,3	1,49	550	13,6	38,1	40,6
25.	240,61 g Stärke	60,3	1,50	550	13,7	37,7	40,2
27.	146,21 g Zucker	60,3	1,49	550	13,6	38,0	40,5
30.	33,19 g Harnstoff	60,3	1,48	550	13,5	38,3	40,8
4. VI.	= Sa. 959,85 g Trockensubst.	60,3	1,49	550	13,6	38,0	40,5
10.	im Mittel pro Tag	60,3	1,52	550	13,9	37,2	39,5
15.		60,3	1,49	550	13,6	38,0	40,5
19.		60,3	1,46	550	13,3	38,7	41,2

<sup>1)</sup> Nach der Schur. Das Gewicht der Wolle betrug 2,515 kg.  
Biochemische Zeitschrift Band 102.



Von dem Protein des Strohstoffes wurden durch Pepsin und Salzsäure gelöst:

In der 3 Stunden aufgeschlossenen	Roggenspreu . .	46,32 %
„ dem 12 „ „	Roggenstroh . .	40,05 „
„ der 18 „ „	Roggenspreu . .	38,54 „
„ dem 24 „ „	Roggenstroh . .	33,04 „
„ dem 72 „ „	Roggenstroh . .	29,61 „

Wie vorauszusehen, nahm also die Verdaulichkeit des Strohstoffproteins mit der Dauer der Einwirkung der Natronlauge kontinuierlich ab.

Das resorbierte Eiweiß dient teils als Ersatz für das abgebaute Körpereiwweiß und für den Zuwachs an Epidermoidalgebilden, teils wird es zur Bildung der dem Kot beigemengten stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte der Galle und des Darms verwendet, und schließlich kommt es, wenn in genügender Menge vorhanden, bei wachsenden Tieren für den Fleischansatz in Betracht.

Der tägliche N-Verlust im Harn und in den Epidermoidalgebilden (die Abnutzungsquote) dürfte bei unserem Hammel etwa 2 g N (= 12,5 g Protein) entsprechen.

Die folgende Tabelle enthält die erforderlichen diesbezüglichen Daten:

Tabelle XXXVII.

Perioden mit Harnstoff, Cellulose, Stärke und Zucker	Die Faeces enthält an stickstoffhalt. Stoffwechselprodukt. g	Die Abnutzungsquote betrug ca. g an Protein	Sa.: Protein g	Der Strohstoff enthielt an in Pepsin HCl löslichem Eiweiß g	Somit bileben von dem resorbierbaren Strohstoffeiweiß für den Ansatz verfügbar g	Der Eiweißansatz betrug dagegen g	Strohstoff aus
I	10,54	12,50	23,54	7,63	- 15,91	+ 10,37	18 Std. aufgeschl. Spreu
II	13,14	12,50	25,64	9,54	- 16,10	+ 14,06	18 „ „ „ Stro
III	14,84	12,50	27,34	6,24	- 21,10	+ 20,19	24 „ „ „ Stro
IV	20,00	12,50	32,50	7,98	- 24,52	+ 16,81	12 „ „ „ Stro
V	18,40	12,50	30,90	11,68	- 19,22	+ 9,88	3 „ „ „ Stro
VI	17,71	12,50	30,21	3,84	- 26,37	+ 11,51	72 „ „ „ Stro
VII	24,90	12,50	37,40	3,75	- 33,65	+ 11,31	72 „ „ „ Stro
Periode X mit Harnstoff und Cellulose	25,49	12,50	37,99	9,55	- 28,44	+ 2,50	24 Std. aufgeschl. Stro
Periode II a mit Cellulose, Stärke und Zucker u. ohne Harnstoff	9,56	11,62	21,18	5,53	- 15,65	- 11,62	18 Std. aufgeschl. Spreu

In keinem Fall reichte also das in Pepsin und Salzsäure lösliche Strohstoffeiweiß auch nur zur Bildung der stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte des Kotes aus. Die Verwertung des Harnstoffes an Stelle des Nahrungseiweißes ist durch diese Versuchsreihe am wachsenden Wiederkäuer also zwingend erwiesen. Hervorzuheben ist noch, daß der Gehalt der Faeces an sogenannten N-haltigen Stoffwechselprodukten (siehe die zweite Rubrik der vorstehenden Tabelle) wesentlich höher ist, als man bei der künstlichen Verdauung der Faeces mit Pepsin und Salzsäure findet<sup>1)</sup>. Ein Teil des durch Pepsin und Salzsäure nicht gelösten Kotproteins ist übrigens unverdauliches Bakterieneiweiß. Bei allen Harnstoffversuchen wurden bei der künstlichen Verdauung des Strohstoffes höhere Werte für die Verdaulichkeit des Strohstoffproteins gefunden als bei der künstlichen Verdauung der Faeces. In den Perioden III, IV, VI und VII enthielten die Faeces sogar mehr in Pepsin HCl unlöslichen Stickstoff als in Form von Strohstoff verabreicht worden war.

Bei der künstlichen Verdauung des Strohstoffes wurden nämlich in den einzelnen Perioden täglich folgende Mengen an verdaulichem Strohstoffprotein gefunden:

Periode I II III IV V VI VII X  
 7,63 g 9,54 g 6,27 g 7,98 g 11,68 g 3,84 g 3,75 g 9,53 g

Bei der künstlichen Verdauung der zugehörigen Faeces waren dagegen die Werte für das verdauliche Strohstoffprotein<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> A. Morgen, l. c. und Periode IIa auf S. 175).

<sup>2)</sup>

Perioden Nr.	Gewicht des lufttrockenen Kotes g	Der Kot enthielt an in Pepsin-HCl unverdaulichem Eiweiß		Der verfüt. Strohstoff enthielt an Eiweiß g	Somit wurden von dem Eiweiß des Strohstoffes resorbiert g	Der Eiweißansatz betrug g
		%	g			
I	175,68	8,01	14,07	19,80	5,73	10,37
II	277,1	8,07	22,36	24,75	2,39	14,06
III	284,85	7,34	20,91	18,88	- 2,03	20,19
IV	314,0	7,06	22,17	19,92	- 2,25	16,81
V	310,82	7,23	22,47	25,21	2,74	9,88
VI	361,02	5,69	20,54	12,95	- 7,59	11,51
VII	358,56	4,91	17,60	12,66	- 4,94	11,31
X						
mit Harnstoff und Cellulose	450,42	4,43	19,95	28,90	8,95	2,50
IIa						
mit Cellulose, Stärke und Zucker u. ohne Harnstoff	188,7	5,50	10,38	14,34	3,96	- 11,62

Periode I	II	IIa ohne Harnstoff	III	IV
5,73 g	2,39 g	3,96 g	- 2,03 g	- 2,25 g
Periode V	VI	VII	X	
2,74 g	- 7,59 g	- 4,94 g	8,95 g	

Durch die Digestion der Faeces mit Pepsin-HCl wurden positive Werte für die Verdaulichkeit des Strohstoffproteins nach den vorstehenden Zahlen nur bei den Perioden I, II, IIa und X beobachtet. Das hängt mit der Resorbierbarkeit der Rohfaser zusammen durch deren geringere oder umfangreichere Lösung in den Zellen eingeschlossene Proteine zu einem kleineren oder größeren Bruchteil freigelegt werden und in einem entsprechenden Umfang verdaut werden können. In den Perioden I und II wurde 18 Stunden aufgeschlossene Spreu verfüttert, deren Rohfaser zu 85, bzw. zu 83,2%, also sehr hoch verdaut wurde. In den Perioden III, IV, V, VI, VII und X wurde Strohstoff aus Roggenstroh verabreicht. Die Verdauungswerte für die Rohfaser waren:

Periode	Von der Rohfaser wurden resorbiert
	%
III	71,5
IV	67,6
V	78,3
VI	78,1
VII	75,4
X	85,4

74,2% im Mittel

In der Periode X wurde hiernach die Rohfaser um 15,2% höher verdaut als dem Durchschnitt aus den Perioden III bis VII entspricht. Der Grund liegt in der Beifütterung von Zucker und Stärke in den Perioden III bis VII. Diese leicht löslichen Kohlenhydrate werden von den Mikroorganismen des Verdauungsapparates in erster Linie als Energiequelle in Anspruch genommen, somit entging ein Teil der Rohfaser der Lösung, und die Rohfaser wurde daher zu einem entsprechend niedrigeren Prozentsatz resorbiert. In Periode X wurde weder Zucker noch Stärke gereicht, sondern nur Strohstoff, Harnstoff, ein wenig Saccharin und Salze, daher fand hier eine höhere Verdauung der Rohfaser statt. Besonders eklatant tritt die durch die Verfütterung von Zucker und Stärke bedingte Verdauungsdepression der Rohfaser hervor, wenn wir die an dem-

selben Tier (Hammel Nr. 4) durchgeführten Perioden VIII und IX mit Periode X vergleichen. Die in Periode VIII gereichte Ration enthielt Stärke, das Futter in Periode IX Stärke und Zucker, in Periode X wurden dagegen, wie bereits erwähnt, Kohlenhydrate nur in Form von Strohstoff verabreicht. Die Rohfaserresorption betrug

in Periode VIII . .	71,0 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	} 70,6 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> im Mittel
„ „ IX . .	70,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	
„ „ X . .	85,4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	

Im Mittel der Perioden VIII und IX betrug hiernach die Verdauungsdepression der Rohfaser gegenüber Periode X 17,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Schließlich ist die Frage von Interesse, ob die in künstlichen Verdauungsversuchen mit Pepsin-HCl als löslich ermittelten Proteinmengen durch den Verdauungsapparat auch wirklich resorbiert werden. Meines Wissens ist der Beweis hierfür noch von niemandem erbracht worden, und persönlich halte ich es für ausgeschlossen, daß der Darm sämtlichen durch Pepsin und Salzsäure löslichen Stickstoff der Rauhfutterstoffe resorbiert. Beim künstlichen Verdauungsversuch wird eine relativ kleine Menge fein gemahlener Substanz in einer großen Flüssigkeitsmenge digeriert, und nachdem sämtliche überhaupt lösliche N-haltige Stoffe gelöst sind, werden dieselben abfiltriert und die noch an dem unlöslichen Rückstand haftenden Mengen werden ebenfalls durch sorgfältiges Auswaschen entfernt. Der Darminhalt, die sog. Contenta, sind dagegen normal von festerer Konsistenz, und es ist daher nicht sehr wahrscheinlich, daß die proteolytischen Enzyme des Magendarmkanals ebensoviel des von den unverdaulichen Futterbestandteilen umgebenen und ihnen daher zum Teil nicht zugänglichen Proteins lösen als beim künstlichen Verdauungsversuch. Wäre das aber auch der Fall, so entginge dennoch ein Teil des im Innern der Contenta gelösten Proteins der Resorption aus dem einfachen Grunde, weil sämtliche Partikelchen unverdaulicher Substanzen mit proteolytischen Spaltungsprodukten an ihrer Oberfläche eben nicht mit der Darmwand in Berührung kommen. Daher ist auch im allgemeinen der Gehalt der Faeces an sogenannten N-haltigen Stoffwechselprodukten um so größer, je höher der unverdauliche Anteil ist. In der Hauptsache dürften

die gelösten N-haltigen Stoffe der Faeces Stoffwechselprodukte sein, zum Teil bestehen sie sicher aus Spaltungsprodukten des Nahrungs Eiweißes, die aus dem angeführten Grunde nicht zur Resorption gelangten. Schließlich ist noch daran zu erinnern, daß die mit den Faeces ausgeschiedenen lebenden Bakterien durch Salzsäure abgetötet werden, und daß ihr Eiweiß bei der künstlichen Verdauung größtenteils gelöst wird, und in den sogenannten N-haltigen Stoffwechselprodukten mit enthalten ist. Hieraus folgt, daß die bei künstlichen Verdauungsversuchen ermittelten Verdauungswerte des Proteins Maximalwerte sind, die beim natürlichen Verdauungsprozeß im allgemeinen um so weniger erreicht werden können, je höher der Gehalt der Faeces an unverdaulichen Stoffen ist.

Für die vorliegenden Versuche hat die Frage, ob die durch Pepsin und Salzsäure gelösten N-haltigen Stoffe des Strohstoffes vom Darm resorbiert werden oder nicht, nur eine untergeordnete Bedeutung. Denn es wurde bewiesen, daß wenn auch der sämtliche durch die künstliche Verdauung als resorbierbar ermittelte Strohstickstoff als verdauliches Eiweiß in Rechnung gestellt wird, durch denselben nur ein Bruchteil der N-haltigen in den Faeces ermittelten Stoffwechselprodukte gedeckt werden konnte. Es blieb also aus dem Strohstickstoff als Ersatz für die Eiweißabnutzungsquote nichts übrig, geschweige denn für den beobachteten Eiweißansatz, der überdies stets größer war als das durch Pepsin-HCl lösliche Strohstoffprotein. Setzen wir nämlich das in den Tagesrationen enthaltene in Pepsin — HCl lösliche Strohstoffprotein = 100, so betrug demgegenüber der wirkliche Eiweißansatz in

Periode:	I	II	III	IV	VI	VII
	135,9 g	147,4 g	323,6 g	210,7 g	299,7 g	309,9 g <sup>1)</sup>

Der Nachweis, daß der Harnstoff die Rolle des Nahrungseiweißes für den Eiweißumsatz — und Ansatz bei Wiederkäuern, sogar bei den höheren Anforderungen während des Wachstums hieran allein zu übernehmen geeignet ist, steht in einem gewissen Widerspruch mit den oben mitgeteilten Befunden an einmägigen Tieren, er läßt sich auch nicht in Einklang bringen

<sup>1)</sup> Siehe dazu auch die Tabelle XXXVII.

mit den Forschungen Abderhaldens<sup>1)</sup> und seiner Schüler, nach denen bestimmte Aminosäuren, insbesondere das Tryptophan und das l-Cystin als Bausteine zu Eiweißsynthesen für den tierischen Organismus unentbehrlich sind.

Nun besitzen bekanntlich die Wiederkäuer in ihren drei Vormägen und dem sehr langen Darm besondere Einrichtungen für eine intensive Bakterientätigkeit, durch die sie sich von allen anderen Tierspezies unterscheiden. Eine sehr große Bedeutung hat die Symbiose mit bestimmten Bakterien bei den Wiederkäuern und auch bei anderen Pflanzenfressern für den Abbau der Cellulose zu Nährstoffen (flüchtigen Fettsäuren) neben bestimmten Gasen (Methan, Wasserstoff und Kohlensäure), da die Warmblüter kein cellulosespaltendes Ferment besitzen. Im Verdauungsapparat eines 50 kg schweren Schafes vermögen die Bakterien z. B. täglich 350 g Cellulose mit 87,5 g Stärkewert und darüber abzubauen, das sind 20 bis 25 % des gesamten Nährstoffbedarfes.

Neben ihrer Fähigkeit, die Cellulose des Futters zum Teil in für den Tierkörper verwertbare Nährstoffe überzuführen, spielen die Mikroorganismen des Verdauungsapparates eine Rolle im Eiweißstoffwechsel.

Weiske und viele andere Autoren<sup>2)</sup> hatten gefunden, daß Aminosäuren und Säureamide, z. B. das Asparagin, von Wiederkäuern in eiweißarmen Rationen in einem gewissen Umfange an Stelle des Eiweißes verwertet wurden, daß sie „eiweißsparend“ wirkten. Bei Carnivoren wurde eine ähnliche Wirkung der Amidstoffe zunächst nicht beobachtet. N. Zuntz<sup>3)</sup> hat zur Erklärung dieses Gegensatzes auf die ungleich intensivere Bakterientätigkeit im Magendarmkanal der Wiederkäuer im Vergleich zu den Carnivoren hingewiesen. Er stellte die Hypothese auf, „daß gerade so wie lösliche Kohlenhydrate die Energie der Gärungserreger von der Cellulose ablenken, so

<sup>1)</sup> Die Literatur siehe unter E. Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem., 3. Auflage, S. 486 bis 507, 1914. Verlag Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien.

<sup>2)</sup> Die Literatur siehe unter W. Völtz, Über die Bedeutung der Amidsubstanzen für die tierische Ernährung. Landwirtschaftl. Jahrb. 28, Ergänz.-Bd. 5, 433 bis 448, 1909.

<sup>3)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol. 49, 483, 1891.

Asparagin und ähnlich konstituierte Amide das Eiweiß vor der Assimilation und Spaltung durch dieselben schützen, vielleicht gar indem sie Bestandteile des Pilzplasmas werden, zu Proteinen aufgebaut werden“.

O. Hagemann<sup>1)</sup> erweiterte die Zuntzsche Hypothese, indem er die Vermutung aussprach, daß das in dem einen Abschnitt des Verdauungstraktus aus dem Asparagin gebildete Bakterieneiweiß in einem anderen Abschnitt verdaut werde und angesetzt werden könnte.

Durch Untersuchungen, die M. Müller<sup>2)</sup> auf Anregung und unter Leitung von C. Lehmann ausführte, wurde die Berechtigung der Hypothesen von Zuntz und von Hagemann erwiesen und dieselben erweitert. Müller impfte z. B. Nährlösungen, die als stickstoffhaltige Verbindungen teils einen Eiweißkörper, teils dasselbe Protein und außerdem Asparagin enthielten, mit Bakterien aus dem Pansen von Wiederkäuern. Er fand nach längerem Aufenthalt der geimpften Nährlösung im Brutschrank, daß in den Versuchen ohne Asparagin die Aufspaltung des Eiweißes zu einfacher konstituierten stickstoffhaltigen Stoffen in einem wesentlich größeren Umfange erfolgt war, als bei Gegenwart dieses Amides. Letzteres hatte also das Eiweiß zum Teil vor dem Verfall geschützt. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte Müller bei einer anderen Versuchsanstellung. Er impfte auf Agarnährböden, die teils Milch, teils Milch und Asparagin enthielten und durch den Milchzusatz ziemlich undurchsichtig geworden waren, Pansenbakterien. Nach einiger Zeit bildete sich in der unmittelbaren Umgebung der Bakterienkolonien, denen als Stickstoffquelle nur Milch zur Verfügung stand, eine kontinuierlich an Ausdehnung gewinnende durchsichtige Zone, auf den Milch- und Asparaginnährböden dagegen nicht. Diese Befunde waren nur so zu deuten, daß die Bakterien, wenn für sie Eiweiß als alleinige Stickstoffquelle disponibel ist, dieses zunächst zu wasserlöslichen Spaltungsprodukten abzubauen genötigt sind, da sie das hoch molekulare Eiweiß nicht direkt als Nährstoffquelle verwerten können.

<sup>1)</sup> Landwirtschaftl. Jahrb. 20, 264, 1891.

<sup>2)</sup> M. Müller, Untersuchungen über die bisher beobachtete eiweißsparende Wirkung des Asparagins bei der Ernährung. Arch. f. d. ges. Physiol. 112, 245 bis 291, 1906.

Stehen ihnen jedoch wie bei mehreren der erwähnten Versuche Amidstoffe außer dem Eiweiß zur Verfügung, so nehmen sie das Amid auf und das Eiweiß wird vor dem Zerfall geschützt. Schließlich hat Müller Pansenbakterien in größeren Mengen in Nährlösungen gezüchtet, die weinsaures Ammonium als einzige Stickstoffquelle enthielten. Die Bakterien wurden gefällt und an einen kleinen Hund verfüttert. Das Tier erhielt zunächst eine aus Fleisch, Reis und Schmalz bestehende Grundration und in den folgenden Perioden steigende Mengen an Bakterieneiweiß von 1 g, 1,5 g, 2 g und 2,5 g Stickstoff in Form der erhaltenen Bakterien. Aus den 4 Perioden berechnet sich eine Verdaulichkeit des Bakterieneiweißes von 85,0<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, 78,0<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, 88,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> und 85,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, im Mittel von 84,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Durch die Versuche Müllers war es also erwiesen, daß die Mikroorganismen des Verdauungsapparates der Wiederkäuer Amidsubstanzen den Proteinen als Stickstoffquelle vorziehen, und daß das Bakterieneiweiß zu etwa 84<sup>0</sup>/<sub>0</sub> verdaulich ist.

In welchem Umfange das Bakterieneiweiß an Stelle des Nahrungseiweißes für den Wiederkäuer in Betracht kommen kann, ist den bisherigen Forschungen nicht zu entnehmen.

Kellner<sup>1)</sup> sprach sich noch in einer seiner letzten Arbeiten dahin aus, „daß einer solchen Vertretung des Nahrungseiweißes durch nichteiweißartige Stickstoffverbindungen eine ziemlich enge Grenze gezogen zu sein scheine, die über das zur bloßen Lebenderhaltung erforderliche Quantum nicht wesentlich hinausgehen scheine“.

Die mitgeteilten Versuche mit Harnstoff als ausschließlicher Stickstoffquelle sind geeignet, diese Frage zu beantworten. Eiweißsparend im Sinne der Zuntzschen Hypothese konnte der Harnstoff bei diesen Versuchen nicht wirken, weil das Futter kein resorbierbares Eiweiß enthielt. Da der Harnstoff nach den Forschungen Abderhaldens (l. c.), wie wir sahen, von einmägigen Tieren zu Aminosäuren, bzw. zu Eiweiß nicht synthetisiert werden kann, so müssen die Schafe bei unseren Versuchen ihren gesamten Eiweißbedarf für den Stickstoffumsatz und -ansatz aus dem Eiweiß gedeckt haben, das die Bakterien aus dem Harnstoff aufbauten. Die Vormägen

---

<sup>1)</sup> Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen 72, 453, 1910.



der Wiederkäuer sind also auch eine Eiweißfabrik. Die anatomischen Besonderheiten des Pansens, der Haube und des Blättermagens begünstigen eine üppige Vegetation der Mikroflora in hohem Maße. Die Vormägen sind mit verhorntem Epithel ausgekleidet, so daß durch ihre Wandungen nichts resorbiert zu werden vermag. Der Wassergehalt des Chymus ist sehr hoch, regulierend auf denselben wirkt neben der freiwilligen Aufnahme an Tränkwasser die bei Wiederkäuern ja bekanntlich sehr starke Speichelsekretion<sup>1)</sup>. Die früher zu meist vertretene Anschauung, nach der das abgeschluckte Wasser mittels der Schlundrinne und der Psalterbrücke direkt in den Labmagen gelangen sollte, trifft nicht zu. Das abgeschluckte Futter und ebenso das Tränkwasser gelangt nach eigenen Untersuchungen zum weitaus größten Teil, nämlich zu ca. 85 bis 95<sup>0</sup>/<sub>0</sub> in den Pansen, zu 4 bis 15<sup>0</sup>/<sub>0</sub> in die Haube, zu ca. 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> in den Psalter, während in den Labmagen direkt nichts, jedenfalls aber unter 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> abgeschluckt wird<sup>2)</sup>. Bei meinen Harnstoffversuchen nahmen die Tiere auf ein Gewichtsteil Trockensubstanz etwa zwei Gewichtsteile Wasser auf. Der Chymus verweilt längere Zeit in den Vormägen. Bei optimalen Temperaturen, unter anaeroben Lebensbedingungen, wie sie hier vorhanden sind, findet die denkbar üppigste Vermehrung der Bakterien statt, die tiefgreifende chemische Umsetzungen in dem Speisebrei bewirken. Der flüssige Anteil des Chymus tritt schneller in den Labmagen als seine festen Bestandteile. Das beweist der wesentlich höhere Trockensubstanzgehalt des Blättermageninhalts im Vergleich zu den im Pansen und in der Haube enthaltenen Massen. Die rohfaserreichen Futterbestandteile müssen durch das Wiederkäuen und durch die Bakterien der Vormägen erst weitgehend maceriert werden, bevor sie weitertransportiert werden können. Durch den schnelleren Austritt der Flüssigkeiten werden auch die Stoffwechselprodukte der Bakterien entfernt und die starke Vermehrung der

<sup>1)</sup> Ein Rind sondert nach Ellenberger und Scheunert (siehe N. Zuntz und A. Loewy, Lehrbuch d. Physiol. des Menschen 1909, 486) täglich 40 bis 60 kg Speichel ab.

<sup>2)</sup> W. Völtz, Über den direkten Transport des Futters und des Tränkwassers durch den Schluckakt beim Wiederkäuer. Vortrag in der Berliner physiol. Ges. am 7. VII. 1911. Medizin. Klin. 1911, Nr. 33.

letzteren erfolgt daher ohne wesentliche Hemmung, so daß große Mengen Bakterieneiweiß gebildet werden. Der Nachweis, daß das aus dem Harnstoff gebildete Bakterieneiweiß resorbierbar ist (bei den vorliegenden Versuchen zu 80 bis 90%), wurde durch die bakteriologischen Untersuchungen der Faeces durch W. Henneberg bestätigt, über die derselbe kürzlich berichtet hat<sup>1)</sup>. Henneberg fand im Gegensatz zu dem Bakterienreichtum der Vormägen im Hammelkot nur wenige lebende Mikroorganismen, dagegen viel Detritus und Bakterienmembranen ohne Inhalt, der offenbar resorbiert worden war. Für die Eiweißsynthese aus Amidem benötigen die Bakterien Zucker oder Stärke. In einem gewissen Umfange kann statt der genannten Kohlenhydrate auch Cellulose für diese Synthese benutzt werden; jedoch ist die Cellulose nicht vollwertig (Periode X).

Kellner hat bei seinen Asparaginversuchen an 1jährigen Lämmern<sup>2)</sup> zu wenig an Mineralstoffen verabreicht. Außer den sehr kleinen Salzmengen, die aus 300 g Stroh und dem Trinkwasser resorbierbar waren, wurden nur je 6 g Kochsalz und Heuasche gereicht. Die kontinuierlich mit den Faeces und dem Harn abgegebenen Mineralstoffmengen waren möglicherweise größer, als die im Futter verzehrten, so daß negative Bilanzen für einzelne Salze bestanden haben könnten. Nach den Stutzerschen Tabellen (Landw. Kalender von Mentzel und v. Lengerke) enthalten 6 g Heuasche z. B. nur 0,2 g Phosphor und 0,1 g Schwefel, die hiervon verdaulichen minimalen Mengen reichten für eine erheblichere Eiweißsynthese aus Ammon und Asparagin nicht aus. In Kellners Versuchen mit Klebereiweiß konnte dagegen ein stärkerer Eiweißansatz erfolgen, weil mit diesem Eiweiß Schwefel verfüttert wurde. Übrigens betrug der Stärkewert der Kellnerschen Rationen nur etwa 8 bis 10 kg pro 1000 kg Lebendgewicht und Tag, während in unseren Harnstoffversuchen mehr als 13 kg Stärkewert gereicht wurden, infolge der eiweißsparenden Wirkung der höheren Kohlenhydratgaben mußte daher auch ein stärkerer Fleischansatz erzielt werden.

<sup>1)</sup> W. Henneberg, Einiges über die Magen- und Darmflora des Hausschafes. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 29, 693, 1919.

<sup>2)</sup> Die Landwirtschaftlichen Versuchstationen 72, 437 bis 464, 1910.

In früheren Untersuchungen<sup>1)</sup> hatte Kellner unter anderem an 1<sup>3</sup>/<sub>4</sub> Jahre alte, also ausgewachsene Hammel das Asparagin als Zulage zu einem Futter mit mittlerem Eiweißgehalt verabreicht. Vor und nach den Asparaginversuchen waren Perioden bei gleichem Futtermverzehr, aber ohne Asparagin durchgeführt worden. Der Stickstoffansatz betrug im Mittel pro Tag:

	Hammel 1	Hammel 2
	g	g
Im Durchschnitt der Perioden ohne Asparagin . . . . .	3,20	0,89
In den Asparaginversuchen . . . . .	3,37	0,89

Das Asparagin hatte also so gut wie gar keinen Einfluß auf die N-Bilanzen gehabt. Nun handelte es sich um erwachsene Tiere, die außer vorübergehend, um z. B. Stickstoffverluste nach Unterernährung zu beheben, was für den Hammel Nr. 1 zutraf, auch bei stärkerer Eiweißzufuhr kein Eiweiß mehr ansetzen.

Es ist also höchst unwahrscheinlich, daß die Tiere, auch wenn sie statt des Asparagins Eiweiß erhalten hätten, ihren Eiweißbestand hätten vermehren können. Vergleichsperioden mit Eiweißzulagen an Stelle des Amids fehlen. Diese Versuche berechtigen daher nicht zu dem Schluß, den Kellner aus ihnen gezogen hat, daß nämlich „das Asparagin bei den eiweißreicheren, für Produktionszwecke zur Verwendung kommenden Rationen eine den Eiweißansatz befördernde Wirkung zumeist nicht erkennen ließe“.

Die Hypothese Kellners und anderer Autoren, daß die Amide als stickstoffhaltige Nährstoffquelle nur in Rationen mit geringem Eiweißgehalt in Betracht kämen, in solchen mit höherem Proteingehalt, wie sie bei Produktionsfutter verabreicht werden, dagegen nicht, ist also nicht haltbar. Entweder verfügt der Organismus über Einrichtungen, diese Stoffe auszunutzen, und dann kann er das bei wechselndem Proteingehalt des Futters, oder er kann die Amide überhaupt nicht verwerten. Daß die Amidsubstanzen im Verdauungstraktus der Wiederkäuer zu Bakterieneiweiß aufgebaut werden und daß

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biol. 39, 313 bis 376, 1900.

dasselbe zu einem hohen Prozentsatz verdaut wird, ist durch frühere Forschungen sichergestellt. Diese Synthese erfolgt sowohl bei eiweißarmer als auch eiweißreicher Ernährung. In Übereinstimmung mit dieser Tatsache und im Gegensatz zu den Befunden Kellners und anderer Autoren mit dem Asparagin und anderen Amiden wurden in den mitgeteilten langfristigen Harnstoffperioden größere Fleischmengen aus dem Harnstoff gebildet.

Was die Bemessung der Harnstoffgaben in Rationen für die landwirtschaftliche Praxis betrifft, so können und sollen die hier verabreichten Mengen nicht als Maßstab dienen. Die Gaben wurden aus den eingangs mitgeteilten Gründen absichtlich recht hoch bemessen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß bei Verminderung der Harnstoffzufuhr auf z. B.  $\frac{2}{3}$  der gleiche Fleischansatz erzielt worden wäre, wie er beobachtet worden ist. Die für die Praxis zur Verfügung stehenden Futtergemische enthalten auch stets erhebliche Mengen an verdaulichem Eiweiß, und schon aus diesem Grunde wird die Amidzufuhr niedriger zu bemessen sein. Es kommt aber noch folgendes in Betracht: Sind die Gaben an wasserlöslichen Amiden sehr hoch, so könnte ein größerer oder geringerer Anteil nach kurzem Aufenthalt in den Vormägen unverändert, also ohne zu Bakterieneiweiß aufgebaut worden zu sein, in den Labmagen und auch in den Darm gelangen. Es würden also gewisse Harnstoffmengen unverändert resorbiert werden und dann als stickstoffhaltige Nährstoffquelle für den Tierkörper nicht in Betracht kommen können. Diese Gefahr besteht bei der Zufuhr mäßiger Amidmengen nicht oder doch nur in weit geringerem Maße. Sehr wohl könnte man aber bis zur Hälfte des Nahrungseiweißes bei Wiederkäuern durch Harnstoff ersetzen. Da das Eiweiß 16%, der Harnstoff dagegen 46,7% Stickstoff enthält, so entsprechen 1000 g Eiweiß 343 g Harnstoff oder rund 350 g Harnstoff.

#### **Der Futterwert des nach der Beckmannschen Methode gewonnenen Strohstoffs.**

Wie einleitend bereits erwähnt, diente für die Stoffwechselversuche Strohstoff aus Roggenspreu, der nach 3- und nach 18stündiger Laugebehandlung und solcher aus Roggenstroh-

Tabelle

Versuchstier Hammel	Periode	Futtermittel	Aufschlebungsdauer bei der Spreu bzw. beim Stroh	In 100 kg Strohstofftrockensubstanz sind an Rohnährstoffen enthalten						
				Asche kg	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Ex- traktstoffe kg	Kalorien in 100 g
Nr.	Nr.		Std.							
1	V	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenspreu	3	7,53	92,47	4,67	2,26	44,26	41,28	461,5
1	I	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenspreu	18	5,96	94,04	4,44	2,47	49,99	37,14	431,0
2	Ia	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenspreu	18							
1	II	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenspreu	18							
Mittel der Perioden I, Ia und II mit Roggenspreu			18							
1	IV	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenstroh	12	6,06	93,94	3,64	2,31	46,13	41,86	443,3
1	III	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenstroh	24	7,14	92,86	3,33	2,51	50,19	36,83	428,3
1	VI	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenstroh	72	5,33	94,67	2,19	1,92	52,79	37,77	431,4
1	VII	Zucker, Stärke, Harnstoff und Roggenstroh	72							
Mittel der Perioden VI und VII mit Roggenstroh			72							
4	VIII	Stärke, Harnstoff und Roggenstroh	24	7,14	92,86	3,33	2,51	50,19	36,83	428,3
4	IX	Stärke, Zucker, Harnstoff und Roggenstroh	24							
Mittel der Perioden VIII und IX mit Roggenstroh			24							
4	X	Harnstoff und Roggenstroh	24							
4	XI	Hefe und Roggenstroh	24							
Mittel der Perioden X und XI			24							

## XXXVIII.

Verdauungswerte für die Nährstoffe des Strohstoffs					Verdauliche Nährstoffe und Stärkewert in 100 kg Strohstoff-Trockensubstanz					
Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Ex-traktstoffe %	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Ex-traktstoffe kg	Stärkewert kg
54,4	— 38,8	— 5,3	78,3	42,5	50,8	— 1,8	— 0,1	17,5	34,7	44,7
69,5	— 38,8	29,8	84,4	64,4	65,4	— 1,7	0,7	42,4	24,0	63,0
65,7	— 38,8	18,4	87,3	52,2	61,8	— 1,7	0,5	43,6	19,4	58,7
62,7	— 38,8	11,5	83,2	50,6	59,0	— 1,7	0,3	41,6	18,8	54,5
66,0	— 38,8	20,0	85,2	55,8	62,1	— 1,7	0,5	42,6	20,7	59,4
54,2	— 38,8	26,8	67,8	49,0	50,9	— 1,4	0,6	31,2	20,5	42,9
58,2	— 38,8	34,7	71,5	50,2	54,0	— 1,3	0,9	35,9	18,5	46,6
52,5	— 38,8	— 22,6	78,1	26,1	49,8	— 0,8	— 0,5	41,2	9,9	42,8
50,7	— 38,8	— 23,3	75,4	25,3	48,1	— 0,8	— 0,5	39,8	9,6	40,1
51,7	— 38,8	— 23,0	76,8	25,7	48,9	— 0,8	— 0,5	40,5	9,7	41,4
50,8	— 38,8	— 1,7	71,0	35,1	47,2	— 1,3	—	35,6	12,9	38,8
50,1	— 38,8	— 1,2	70,2	34,3	46,5	— 1,3	—	35,2	12,6	37,9
50,5	— 38,8	— 1,5	70,6	34,7	46,8	— 1,3	—	35,4	12,7	38,4
59,0	— 38,8	10,6	85,4	35,1	54,8	— 1,3	0,3	42,9	12,9	50,9
62,2	— 39,7	32,9	82,8	45,4	57,8	— 1,3	0,8	41,6	16,7	52,4
60,6	— 20,0	21,8	84,1	40,2	56,8	— 1,3	0,5	42,2	14,8	51,6

häcksel, der nach 12-, 24- und 72stündiger Dauer der Laugeeinwirkung gewonnen war.

Die vorstehende Tabelle XXXVIII enthält alle erforderlichen Daten bezüglich des Gehalts der verschiedenen Strohstoffarten an Rohnährstoffen, ihrer prozentischen Verdaulichkeit (Verdauungswerte) und an verdaulichen Nährstoffen und Stärkewert in Kilogramm, bezogen auf 100 kg Strohstofftrockensubstanz.

Nach der vorstehenden Tabelle XXXVIII wurden für den Strohstoff aus Roggenspreu folgende Verdauungs- und Stärkewerte erhalten.

Dauer der Laugeeinwirkung Stunden	Organische Substanz %	Rohfaser %	Stärkewert pro 100 kg Trockensubstanz %
3	54,4	78,3	44,7
18	66,0	85,2	58,4

Durch die um 15 Stunden längere Laugenbehandlung wurde hiernach der Stärkewert des Strohstoffs aus Roggenspreu um 30,7% erhöht.

Für den Strohstoff aus Roggenstrohhäcksel wurden folgende Verdauungs- und Stärkewerte festgestellt.

12	54,2	67,8	42,9
24	53,0	70,9	41,3
72	51,7	76,8	41,4

Aus diesen Zahlen ist zu folgern, daß die Strohaufschließung nach dem Beckmannschen Verfahren nach 12stündiger Laugeeinwirkung im wesentlichen als beendet anzusehen ist.

Nun ergaben die Perioden X und XI erhebliche höhere Verdauungs- und Stärkewerte für den Strohstoff aus 24 Stunden aufgeschlossenem Roggenstrohhäcksel als die betreffenden eben mitgeteilten Daten aus den Perioden III, VIII und IX mit demselben Material. Es wurde nämlich gefunden:

	Auf- schließungs- dauer Stunden	Organische Substanz %	Rohfaser %	Stärkewert pro 100 kg Stroh- stofftrocken- substanz kg
Mittelwerte aus den Perioden X und XI . . .	24	60,6	84,1	51,6

Die in den Perioden III, VIII und IX im Mittel um 20% des Stärkewertes verringerte Ausnutzung der Nährstoffe ist dadurch bedingt, daß in jenen Perioden reichliche Zucker- und Stärkemengen verabreicht wurden, in den Perioden X und XI dagegen nicht. Der Verzehr der leicht löslichen Kohlenhydrate hatte in Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen erhebliche Verdauungsdepressionen der Strohstoffnährstoffe und insbesondere der Rohfaser zur Folge, die in der Fütterungspraxis dadurch zu vermeiden sind, daß man die Gaben an stärke- und zuckerreichen Futterstoffen bei gleichzeitiger Strohstoffzufuhr nicht zu hoch bemißt. Die Verdauungsdepressionen waren bei unseren Versuchen deshalb sehr erheblich, weil sowohl der Zucker als auch die Stärke in isolierter Form verabreicht wurden, was in der Landwirtschaft im allgemeinen nicht in Betracht kommt.

### Ergebnisse.

Die mitgeteilten Versuche an einem ausgewachsenen Hammel und an 3 Lämmern führten übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß der Harnstoff geeignet ist, die Rolle des Nahrungseiweißes im Stoffwechsel der Wiederkäuer zu übernehmen. Z. B. setzte ein Hammellamm innerhalb 155 tägiger ununterbrochener Bilanzversuche aus dem Harnstoff als ausschließlicher N-haltiger Nährstoffquelle an:

	6366,3 g Fleisch	
	1090,5 g Wolle	
und schätzungsweise . . . .	100,0 g an anderen Epidermoidalgebilden	
Die Gewichtszunahme be- rechnet sich demnach zu	} 7556,8 g	
Die wirkliche Gewichts- zunahme betrug		} 7900 g

Die Übereinstimmung zwischen beiden Werten ist eine  
 Biochemische Zeitschrift Band 103. 15



befriedigende (siehe dazu die Ausführungen auf Seite 207). Ohne Unterbrechung wurde die gleiche Harnstofffütterung weitere 87 Tage an demselben Tier fortgesetzt, das während dieser Zeit noch um 4,05 kg an Gewicht zunahm. Das Anfangsgewicht hatte zu Beginn der Bilanzversuche 29,25 kg betragen, das Endgewicht nach 8monatiger Harnstofffütterung 41,2 kg. Die Lebendgewichtszunahme war demnach insgesamt 11,95 kg, das sind 40,8% des ursprünglichen Gewichtes.

Der Harnstoff wird im Verdauungstraktus der Wiederkäuer zunächst zu Bakterieneiweiß aufgebaut, das vom Darm zu 80 bis 90% resorbiert wird. Die für die Eiweißsynthese aus Harnstoff benötigten Kohlenhydrate können sowohl in Form von Zucker als in Form von Stärke verabreicht werden; Stärke und Zucker sind einander gleichwertig (Periode VIII und IX). Auch Cellulose (Strohstoff) kann in einem gewissen Umfange als Ersatz für die genannten Kohlenhydrate dienen (Periode X), doch ist dieselbe als Baustein für die Synthese des Harnstoffes zu Bakterieneiweiß nicht vollwertig.

Die bei sehr stickstoffarmer Ernährung eintretenden bekannten starken Verdauungsdepressionen sämtlicher Nährstoffe werden durch Harnstoffzufuhr in gleicher Weise behoben, wie durch die Zugabe von Eiweiß (vgl. hierzu die Perioden Ia, X und XI). Die stickstoffhaltigen Nährstoffe für Wiederkäuer können etwa bis zur Hälfte durch Harnstoff ersetzt werden (statt 1000 g Eiweiß 343 g, oder rund 350 g Harnstoff). Was hier für den Harnstoff nachgewiesen wurde, gilt auch für die in den Futtermitteln vorhandenen stickstoffhaltigen Verbindungen nichteiweißartiger Natur, sofern sie als Bausteine für das Bakterieneiweiß dienen können, und das trifft für die meisten dieser Stoffe zu. Die weitverbreitete Anschauung, daß die Amidsubstanzen auch für die Ernährung der Wiederkäuer wertlos sind, weil sie angeblich im Produktionsfutter nicht zur Geltung kommen sollen, ist unzutreffend. Die Amide sind dem verdaulichen Eiweiß zuzurechnen, und der Gehalt der Futtermitteln an stickstoffhaltigen Nährstoffen ist nicht, wie bisher vielfach üblich, nach dem vorhandenen verdaulichen Eiweiß, sondern nach dem verdaulichen Rohprotein zu bemessen.

Die aus rohfaserreichen Stoffen durch die künstliche Verdauung mit Pepsin und HCl gelösten N-haltigen Substanzen geben

keinen sicheren Anhalt für das in Wirklichkeit durch den Darm resorbierbare Rohprotein, dessen Menge jedenfalls weit geringer ist als sich aus künstlichen Verdauungsversuchen ergibt (siehe dazu die Ausführungen auf Seite 213).

Das Beckmannsche Verfahren der Strohaufschließung liefert Strohstoff von ähnlich hohem Futterwert wie die bekannten Koch- und Überdruckverfahren nach F. Lehmann und Colsmann. Die Strohaufschließung ist nach 12stündiger Einwirkung 1,5%iger Natronlauge beendet (siehe dazu die Ausführungen auf Seite 224).

Vor den genannten anderen Verfahren der Strohaufschließung hat das Beckmannsche den großen Vorzug, daß die Aufschließung bei gewöhnlicher Temperatur erfolgt. Es werden also weder Heizstoffe noch komplizierte Apparate benötigt, Vorteile, die die Einführung dieses Verfahrens auch in Kleinbetrieben ermöglichen, sofern die erforderlichen Wassermengen zur Verfügung stehen.

**Die Farbstoffanalyse des Harnes.**  
**I. Über die Zerlegung des Harnes in drei Hauptfraktionen**  
**als Grundlage der Farbstoffanalyse desselben.**

Von

**M. Weiß** (Wien-Gleichenberg)

*(Eingegangen am 14. November 1919.)*

**Einleitung.**

Obleich seit der Entdeckung des Urochroms, das Thudichum<sup>1)</sup> als den normalen gelben Harnfarbstoff oder Träger der Harnfarbe schlechtweg aufgefaßt hat, mehr als 50 Jahre verstrichen sind, fehlt es noch heute an genügend klaren Vorstellungen über diesen Körper im besonderen und über die Harnfarbe im allgemeinen. Vom normalen gelben Harnfarbstoff Thudichums wurden mit der Zeit Farbstoffe abgetrennt, die gut charakterisiert waren, so das Urobilin durch Jaffé<sup>2)</sup>, während das Urochrom der scharfen Charakterisierung ermangelte. Denn die Methode der Darstellung des Harnfarbstoffes durch Thudichum — Fällung durch Merkurisalze — ist eigentlich ein Niederschlagen sämtlicher Harnfarbstoffe. Garrod<sup>3)</sup> hat ein schärfer umschriebenes Urochrom dargestellt. Sein Farbstoff wird durch Ammonsulfat nicht ausgesalzen und aus der alkoholischen Lösung durch Äther gefällt. Damit war schon das Urochrom wesentlich eingeengt, Aber die Vorstellung Thudichums blieb, wenn auch nicht unwidersprechen, doch vorherrschend; denn noch immer gilt das Urochrom als Hauptrepräsentant der Harnfarbe.

---

<sup>1)</sup> Brit. med. Journ. 1864, 509.

<sup>2)</sup> Centralbl. f. med. Wiss. 1868, 243.

<sup>3)</sup> Journ. of Physiol. 17, 406.

Im Jahre 1907 habe ich<sup>1)</sup> Beziehungen zwischen der Ehrlichschen Diazoreaktion und dem Urochrom gefunden und unter Zugrundelegung sowohl des Verfahrens von Thudichum wie von Garrod in der Urochromfraktion pathologischer Harnen jenen Körper festgestellt, den ich seinen Eigenschaften, insbesondere seiner chromogenen Natur nach als Urochromogen ansprechen durfte. Dieser Körper gab die pathologische Diazoreaktion Ehrlichs und die sogenannte Permanganatprobe<sup>2)</sup>, während seinem Oxydationsprodukt, eine Diazoreaktion zukam, die zwar auch noch rotgefärbte Flüssigkeit mit den Diazoreagenzien, aber keinen roten Schaum mehr zeigte, die sogenannte negative Diazoreaktion Ehrlichs. Meine Untersuchungen haben ihren Zusammenhang mit dem physiologischen Urochrom ergeben. Damit waren Reaktionen gewonnen, an der Hand deren das Urochrom beziehungsweise die Harnfarbe weiter verfolgt werden konnte.

Dombrowski<sup>3)</sup> hat aus den Proteinsäuren einen Farbstoff durch Kupferacetatfällung<sup>4)</sup> herausgehoben, den er als Urochrom bezeichnete. Ich habe in früheren Arbeiten<sup>4)</sup> nachgewiesen, daß das Urochrom Dombrowskis nicht der native gelbe Harnfarbstoff, sondern ein sekundäres Produkt sei. Dies gibt Dombrowski auch zu, der die Fällung seines Farbstoffes mit der Reduktion des Kupferacetats in unmittelbarem Zusammenhang bringt, somit sein Urochrom selbst als Oxydationsprodukt hinstellt. Ich habe zeigen können, daß dem unveränderten Urochrom gelbgrüne Farbe zukommt, die sich durch Alkali vertieft, während das Urochrom Dombrowski fahlbraune durch Alkali nicht beeinflussbare Färbung hat, und daß das Urochrom und sein Chromogen an der Diazoreaktion beteiligt sind, während der nach Dombrowski dargestellte Farbstoff diese Reaktionen nicht gibt.

Festhaltend an der Farbe und an der Diazoreaktion des Urochroms habe ich mich in weiteren Untersuchungen bemüht, diesen Farbstoff beziehungsweise sein Chromogen schärfer herauszuheben und seine Beteiligung an der Harnfarbe festzulegen. Hierzu war es nötig, auch die anderen Harnfarbstoffe in den Kreis meiner Arbeit zu ziehen und Abscheidungsverfahren für dieselben ausfindig zu machen. Bei der Charakterisierung der einzelnen Harnfraktionen erwiesen sich außer den genannten Reaktionen auch die aus der Beschäftigung mit der Histidinausscheidung des Harnes gewonnene quantitative Diazo-

---

<sup>1)</sup> Beiträge z. Klin. d. Tuberk. 8, 177; Wiener klin. Wochenschr. 1907, Nr. 33.

<sup>2)</sup> Med. Klin. 1910, Nr. 42.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. phys. Chem. 54, 188.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. 30, 333, 1911 und Sitzungsber. d. Wien. Akad. der Wiss. 3, Januar 1913.

reaktion<sup>1)</sup>, sowie einige neue Reaktionen von Nutzen. Auf diesem Wege glaube ich, dem Wesen der Harnfarbe näher gekommen zu sein. Ich will das Ergebnis meiner Untersuchungen zunächst in den Hauptzügen mitteilen.

Die zur Analyse des Harnes verwendeten drei Fraktionen nenne ich nach der Farbe oder einem wesentlichen Bestandteil:

I. Fraktion der roten Farbstoffe oder Urobilin-Fraktion.

II. Fraktion der gelben Farbstoffe oder Urochrom-Fraktion.

III. Fraktion der ungefärbten Proteinsäuren oder Histidin-Fraktion.

### I. Fraktion der roten Farbstoffe oder Urobilin-Fraktion.

Diese Fraktion besteht aus dem Niederschlage, den man erhält, wenn man 100 ccm des unvergorenen Harnes mit 5 g neutralem Bleiacetat ausfällt. Hat man hochgestellten, also besonders pathologischen Harn vor sich, so fügt man je nach der Konzentration bis zu 10 g Pb-Acetat hinzu. Man löst das Bleisalz durch Umschütteln und erhält beim Abfiltrieren einen mehr oder weniger braunroten Niederschlag, der die Gruppe der roten Farbstoffe fast quantitativ enthält. In das Filtrat geht, wie man an der Farbe und dem spektroskopischen Verhalten erkennt, der gelbe Farbstoff über. Man kann sich durch entsprechenden Zusatz von Pb-Acetat aus einer größeren Harnmenge z. B. 500 ccm die Fraktion I darstellen und ihre Eigenschaften studieren.

Der Niederschlag besteht aus den Pb-Verbindungen der Urate, Carbonate, Phosphate, Sulfate und aus der Verbindung des Pb mit jenen Farbstoffen oder Chromogenen des Harnes, die in verdünnter Essigsäure keine oder nur geringe Löslichkeit besitzen, weshalb sie ja in dieser Fraktion trotz ausgesprochen saurer Reaktion ausfallen. Wie gering die Löslichkeit dieser Fraktion für verdünnte Essigsäure ist, erkennt man, wenn man den mit Wasser gewaschenen Niederschlag auf dem Filter mit 5<sup>0</sup>/<sub>10</sub>iger Essigsäure übergießt. Es geht fast gar nichts in Lösung. Dieses Verhalten gegenüber verdünnter Essigsäure unterscheidet die Fraktion I von der später zu besprechenden Fraktion II, deren Pb-Salze sehr gut

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 58, 119, 1913 und 81, 341, 1917.

in verdünnter Essigsäure löslich sind, weshalb sie auch in das Filtrat übergehen. Erst starke Essigsäure löst nach längerer Einwirkung die Farbstoffe der Fraktion I mit gelbrötlicher Farbe.

Die essigsäure Lösung enthält die Farbstoffe und Chromogene dieser Gruppe verhältnismäßig noch am reinsten. Aber auch hier ist beim Arbeiten im Lichte ein Nachdunkeln möglich, indem z. B. das in dieser Fraktion immer enthaltene farblose Urobilinogen sich in das rötliche Urobilin verwandelt. Wegen der großen Labilität der Farbstoffe und Chromogene des Harnes, wegen der Abhängigkeit ihrer Farbe vom Lichte und von der Reaktion, wegen der leichten Änderung ihrer Löslichkeit ist eine sichere Übertragung der Fraktionierungsergebnisse auf den nativen Harn sehr schwierig.

Die meisten Farbstoffe der Fraktion I sind bei saurer Reaktion rötlich, bei alkalischer aber gelblich gefärbt. Nicht alle diese Farbenänderungen sind reversibel. So ist die Umwandlung des farblosen Urobilinogens in Urobilin von einer absoluten Zunahme des Farbenwertes gefolgt. Chromogene von Alkaptonkörpern, die in dieser Fraktion enthalten sein können, verwandeln sich bei alkalischer Reaktion und Luftzutritt in braunen Farbstoff. Bei schwefelsaurer Reaktion wieder neigen Chromogene der Indolgruppe, die hier nachweisbar sind, zur Bildung roter Farbstoffe.

Leichter als durch Essigsäure läßt sich der Niederschlag dieser Fraktion durch Natriumphosphat zerlegen. Man bringt den Niederschlag aus 500 ccm Normalharn mit dem Filter in eine Reibschale, fügt ca. 5 g  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  und ungefähr 20 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  hinzu, zerreibt und wartet, bis sich das Bleiphosphat absetzt. Diese Lösung hat gegenüber der essigsäuren den Vorteil, daß sie rascher vor sich geht, quantitativ ist und ein von Blei freies Filtrat liefert. Dagegen besteht die Möglichkeit der Einwirkung des alkalischen Natriumphosphats auf Chromogene der Alkaptonkörper. Arbeitet man mit frischen Lösungen und neutralisiert man, so kann man die Fehlerquellen fast völlig ausschalten.

Löst man den Niederschlag in 5%iger Schwefelsäure, wozu meist für 500 ccm Harn etwa 20 ccm genügen, so erhält man auch die Farbstoffe dieser Fraktion bleifrei. Die schwefelsäure Lösung hat ausgesprochen rötliche

Farbe und stammt die Bezeichnung dieser Fraktion von dieser Lösung.

Die eigenartige Färbung dieser Fraktion rührt nicht völlig vom Urobilin her, obgleich es unter den roten Farbstoffen vorherrscht. Neben Urobilin ist immer auch das rötliche Uroerythrin<sup>1)</sup> vorhanden, während Hämatoporphyrin in normalem Harn niemals nachgewiesen werden konnte, weiterhin Chromogene der Indol- oder Skatolgruppe, die sich durch die Einwirkung der Schwefelsäure leicht in rötliche Farbstoffe verwandeln.

Der Anteil der Fraktion I an der Harnfarbe wurde sowohl durch colorimetrischen Vergleich mit dem nativen Harn als auch durch Vergleich mit der Fraktion II, die die gelben Harnfarbstoffe enthält, zu ermitteln gesucht. Es ergab sich das überraschende Ergebnis, daß nicht in der Fraktion des Urochroms, sondern in der Fraktion I der Hauptanteil der Harnfarbe enthalten ist. Der sogenannte normale gelbe Harnfarbstoff ist daher nicht der Träger der Harnfarbe, sondern beteiligt sich an derselben nur in untergeordneter Weise, und die Beibehaltung des Namens Urochrom kann nur in Kenntnis dieser Tatsache erfolgen. Daß die Ansicht, Urochrom sei der Träger der Harnfarbe, sich bilden und so lange erhalten konnte, liegt in der Geschichte dieses Farbstoffes und darin begründet, daß das Urochrom sich bald durch Oxydation braungelb färbt und dadurch der braungelben nativen Harnfarbe, die hauptsächlich durch die Farbstoffe und Chromogene der Fraktion I bedingt ist, sehr ähnlich wird. Der colorimetrische Vergleich der einzelnen Harnfraktionen untereinander und mit dem nativen Harn ist nicht absolut möglich, weil ja keine gleichartigen Farben vorliegen. Doch habe ich versucht, die Verhältnisse zahlen-

---

<sup>1)</sup> Dem Uroerythrin kommt als auffallendste Eigenschaft eine hervorragende Reduktionsfähigkeit für ammoniakalischen Silber zu, die z. B. der gleichen Eigenschaft des Brenzkatechins gar nicht nachsteht. An dieses erinnert auch die eigenartige Grünfärbung bei Alkalizusatz, die beim Ansäuern in eine dem Rot des Uroerythrins ähnliche Farbe umschlagen kann. Man ist daher versucht, an verwandtschaftliche Beziehungen zwischen beiden Körpern zu denken. Von den im Harn vorkommenden Alkaptonchromogenen, die auch Ag reduzieren, unterscheidet sich aber das Uroerythrin durch seine Fällung (und gleichzeitige Zerstörung) mittels Ammonsulfat und das Fehlen der Braunfärbung durch Alkalien.

mäßig durch Untersuchung einer größeren Zahl von Fällen auszudrücken.

Für den Harn des normalen Erwachsenen ergab sich, daß etwa  $\frac{3}{4}$  seiner Farbe auf die Fraktion I und nur ungefähr  $\frac{1}{4}$  auf Fraktion II, das ist die Urochromfraktion, entfällt. Durch frühere colorimetrische Untersuchungen gewonnene Ergebnisse<sup>1)</sup> konnten wieder bestätigt werden. Bei Kindern ist der Anteil des Urochroms an der Harnfarbe größer, bei Greisen geringer als diesem ermittelten Durchschnitt entspricht. In pathologischen Harnen ist das wechselseitige Verhältnis außerordentlich schwankend; die gleichzeitige Tendenz zur Vermehrung und Verminderung der Farbstoffe beider Fraktionen bewirkt, daß auch hier die Fraktion I meistens überwiegt.

Der Vergleich erfolgte zwischen den Lösungen der Fraktion I und II in starker Essigsäure, wobei sowohl untereinander wie mit dem nativen, in dunkler Flasche aufbewahrten Harn, verglichen wurde. Ich habe mich aber nicht bloß auf den Vergleich der essigsäuren Lösungen beschränkt, sondern habe auch die  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösungen beider Fraktionen miteinander und mit dem nativen Harn verglichen. Der auf Fraktion I entfallende Farbstoffwert wurde meist nicht direkt ermittelt, wegen der schweren Vergleichbarkeit mit dem nativen Harn, sondern indirekt durch Subtraktion des in Echtgelbeinheiten<sup>2)</sup> ausgedrückten Wertes der Urochromfraktion von dem in Echtgelbeinheiten ausgedrückten Werte des nativen Harnes. Es wurde eine neue Echtgelblösung hergestellt (Echtgelb 1:50000, 100 ccm, wurden mit 40 ccm Bismarckbraun 1:40000 gemischt) und diese als Standardfarbe verwendet. Sie eignet sich für den Vergleich mit frischen Urochrom- und Urochromogenlösungen sehr gut, für den Vergleich mit dem nativen Harn, solange er nicht nachgedunkelt ist, ausreichend. Der Wert wurde mit einem Dubosq- oder Autenriethschen Colorimeter oder auch makroskopisch durch Verdünnung ermittelt und in Einheiten der obigen Standardlösung ausgedrückt.

Zur Charakterisierung der Fraktion I gegenüber der Frak-

---

<sup>1)</sup> Sitzungsber. d. Wien. Akad. 3, Januar 1913.

<sup>2)</sup> Sitzungsber. d. Wien. Akad. I. c.



tion II wurde außer der Verschiedenheit der Farbe, der Verschiedenheit der Löslichkeit in verdünnter Essigsäure und dem verschiedenen spektroskopischen Verhalten noch herangezogen das Verhalten zu Ammonsulfat. Die Fraktion I ist durch Ammonsulfat (in der Reibschale werden 100 ccm Flüssigkeit mit 80 g Ammonsulfat sorgfältig verrieben und etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde abstehen gelassen) fast völlig zu entfärben. Dies läßt sich sowohl bei der schwefelsauren wie bei der  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung nachweisen. Der Ammonsulfatniederschlag enthält die roten Farbstoffe dieser Fraktion quantitativ. In das Filtrat geht schwach gelbliche Flüssigkeit über, die gewöhnlich kaum zu  $\frac{1}{10}$  am Farbstoffwert der Fraktion I teil hat und aus mitgefälltem Urochrom(ogen) besteht. Dieser Rest zeigt somit schon Beziehungen zur nächsten Fraktion. Er gibt in normalen Fällen eine schwache, in pathologischen aber mitunter eine sehr starke Diazoreaktion nach Ehrlich. Sein kolorimetrischer Wert kann bis 25% des Urochrom(ogen)wertes betragen.

## II. Fraktion der gelben Farbstoffe oder Urochrom-Fraktion.

Versetzt man das Filtrat der Fraktion I tropfenweise mit 10% Lauge, so fällt ein reichlicher Bleihydroxydniederschlag aus, der die in dieser Flüssigkeit enthaltenen gelben Farbstoffe mitreißt. Der Niederschlag ist im Überschuß von Lauge wieder löslich, es muß daher ebenso vermieden werden, zu wenig wie zu viel Lauge hinzuzufügen. Bei genauer Ausfällung ist die überstehende Flüssigkeit absolut wasserfarben. Man filtriert und erhält auf dem Filter den Niederschlag der Fraktion II.

Dieser Niederschlag enthält außer  $\text{Pb}(\text{HO})_2$  in der Hauptsache die Bleiverbindung des Urochroms oder Urochromogens. Er ist gelb beim Urochrom, gelbgrün beim Urochromogen. Abgesehen von der Farbe erweist dieser Niederschlag seinen völlig von Fraktion I verschiedenen Charakter durch seine ausgezeichnete Löslichkeit in verdünnter Essigsäure. Übergießt man das Filter mit 5%iger Essigsäure, so geht schon das erste Filtrat gelb durch, und läßt man es einige Zeit in der genügenden Menge verdünnter Essigsäure, so löst sich der Niederschlag mit rein gelber, von der Lösung der Fraktion I völlig verschiedener Farbe auf. Meist

pfl egt dabei ein kleiner in seiner Farbe der Fraktion I entsprechender, in verdünnter Essigsäure unlöslicher Rückstand zu bleiben, der Spuren von Urobilin, der Lösung entgangenes Urochrom und Uroerythrin zu enthalten pfl egt. Außer geringen Anteilen der Fraktion I sind in der Urochromfraktion auch Anteile der Fraktion III zu finden. Die letzteren — es sind hauptsächlich Tryptophanderivate — beteiligen sich aber nicht an der Farbe.

Zur Reinigung kann man die essigsäure Lösung des Urochroms mit Lauge ausfällen, den Niederschlag wieder in verdünnter Essigsäure lösen usw. Durch diese Umfällung lassen sich mitgerissene Teile der Fraktion I und III beseitigen. Es kann aber, wenn es längere Zeit in Anspruch nimmt, schon von einer Veränderung des Urochroms und von Verlusten an diesem Farbstoff begleitet sein.

Denn das Urochrom stellt einen chromogenen Komplex dar, der bis zur Bildung braunroter Farbstoffe nachdunkeln kann. Dieses Nachdunkeln erfolgt zwar nicht rasch, ist aber um so nachhaltiger, indem das Bleiurochrom bei wiederholter Umfällung und Stehen im Lichte nach einiger Zeit seine ausgezeichnete Löslichkeit in verdünnter Essigsäure verliert, bis es schließlich stark nachgedunkelt, nunmehr in konzentrierter Essigsäure löslich ist (Uromelaninbildung).

Es gelingt daher wohl durch Umfällung das Bleiurochrom zu reinigen und von mitgefällten Anteilen zu befreien, aber zur Grundlage einer quantitativen Bestimmung kann dieses Verfahren wegen der damit verbundenen Verluste nicht gemacht werden. Dagegen leistet die Umfällung bei der Prüfung der qualitativen Eigenschaften des Urochroms ausgezeichnete Dienste.

Es ist auf diese Weise frei von Farbstoffen der Fraktion I zu erhalten, zeigt in seiner Lösung reingelbe, der obigen Standardlösung fast völlig entsprechende Farbe und gibt keine Adamkiewicz-Liebermannsche Probe, ist somit kein Tryptophanderivat. Damit entfällt eine gegenteilige Angabe<sup>1)</sup>. Durch ammoniakalisches Ag tritt im Gegensatz zum Urochromogen nur leichte Braunfärbung auf.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 81, 342, 1917.

Besser eignet sich für colorimetrische Untersuchungen die mit Ammonsulfat ausgesalzene Natriumphosphatlösung der Fraktion II. Aber je weiter man in der Darstellung und Reinigung des Urochroms fortschreitet, um so mehr entschwindet bei allen angewandten Verfahren dieser Farbstoff den Händen. Bei der Umfällung des Bleisalzes wirklich, bei der Ammonsulfataussalzung nur scheinbar. Denn Urochrom wird durch Ammonsulfat nicht gefällt.

Die frische Natriumphosphatlösung der Fraktion II, die ebenso, wie bei Fraktion I beschrieben, hergestellt wird, ist sattgelb. Fügt man zu dieser schwachalkalischen Flüssigkeit einige Tropfen Essigsäure oder noch besser verdünnte Schwefelsäure, so blaßt die charakteristische Urochromfarbe so ab, daß mitunter nur  $\frac{1}{3}$  der ursprüngliche Farbe zurückbleibt. Die hohe Abhängigkeit der Urochromfärbung von der Anionenkonzentration tritt schlagend zutage, wenn man eine  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung in zwei Hälften teilt und die eine mit Ammonsulfat aussalzt. Trotzdem die Reaktion der Lösung keine nennenswerte Verschiebung erfahren hat, ist die Flüssigkeit um mehr als die Hälfte abgeblaßt.

Der erste Gedanke ist, daß dieser Farbstoffverlust auf die Aussalzung zurückzuführen ist. Dies ist aber nicht der Fall. Eine kleine Menge der Fraktion I kann wohl in die Fraktion II übergehen und dann durch Ammonsulfat ausgesalzen werden. Diese Menge ist aber meist so gering, daß sie nicht in Betracht kommt. Ihre genaue Bestimmung in mehreren Fällen ergab, daß sie ebenso wie die Volumvermehrung durch den Salzzusatz den Farbenverlust in keiner Weise zu erklären imstande ist. Dieser merkwürdigen Eigenschaft des Ablassens von Urochromlösungen durch Ammonsulfatzusatz bin ich schon früher begegnet<sup>1)</sup>, ohne sie erklären zu können. Erst jetzt kann ich sie mit Sicherheit auf die Anwesenheit der  $\text{SO}_4$ -Ionen zurückführen.

Die Farbe des Urochroms ist von der Ionenkonzentration außerordentlich abhängig. Sie ist beim unveränderten Farbstoff bei saurer Reaktion blaßgelb, bei alkalischer aber grüngelb. Nachgedunkeltes, also oxydiertes Urochrom hat nicht mehr diese Eigenschaft<sup>2)</sup>.

Die Ammonsulfataussalzung der Fraktion II erwies sich

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 30, 345, 1911.

<sup>2)</sup> Dieselben Eigenschaften findet man beim später zu besprechenden Urochromogen.

als vorteilhaft, weil dadurch auch Spuren der roten Farbstoffe beseitigt werden können. Den Einfluß der Reaktion habe ich dadurch eliminiert, daß ich die  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung mit einigen Tropfen verdünnter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ansäuerte, hierauf mit  $\text{BaCO}_2$  in Substanz versetzte, wodurch ich immer neutrale Reaktion erhielt und dann erst mit Ammonsulfat aussalzte. Die neutrale mit Ammonsulfat ausgesalzene Fraktion II wurde zu colorimetrischen Bestimmungen benützt. Da sich aber zeigte, daß in der Fraktion I bis zu 25% des Urochroms mitgerissen werden können, so habe ich zur quantitativen Bestimmung dieses Körpers Fraktion I und II hintereinander in derselben Flüssigkeit gefällt, den Niederschlag abfiltriert, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  zerlegt, leicht mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert, mit  $\text{BaCO}_2$  neutralisiert und in der beschriebenen Art mit Ammonsulfat ausgesalzen. Erst die so erhaltene Urochromlösung konnte zur Grundlage für genaue quantitative Bestimmungen genommen werden. Es ergab sich in der Norm für ein und dasselbe Individuum eine bedeutende Konstanz des in Einheiten obiger Standardlösung ausgedrückten Farbstoffwertes, der aber von Fall zu Fall variierte. So betrug bei meinem eigenen Harn der kolor. Wert des Urochroms p. d. 110 bis 130, bei einem anderen normalen Fall 80 bis 100. Bei Tuberkulose ohne Ehrlichsche Diazoreaktion fand ich Werte, die das Doppelte des Normalen und darüber betrogen. Ebenso war beim Carcinom ein erhöhter Urochromwert in der Regel festzustellen. Auf diese Verhältnisse genauer einzugehen, behalte ich mir für später vor. Störend machte sich mitunter bei der Verfolgung des Urochromwertes Nachdunkeln geltend, das auf die Anwesenheit eines alkaptonartigen Chromogens zurückgeführt werden konnte und besonders in pathologischen Harnen nach längerer Alkalieinwirkung gesehen wurde. Die Fraktion II kann daher nur so lange bezüglich ihrer Farbe als Einheit angesehen werden, als darin enthaltenes Alkaptochromogen noch nicht zum Nachdunkeln der Flüssigkeit geführt hat.

Die Fraktion II enthält die Ursache des physiologischen, sogenannten negativen, und das Prinzip der eigentlichen Diazo-reaktion Ehrlichs. Ich will beide Körper wie bisher auch weiterhin als Urochrom und Urochromogen bezeichnen, da auch

jetzt noch ihre Farbstoffnatur aller Wahrscheinlichkeit nach zu Recht besteht. Sowohl die physiologische wie die pathologische Diazoreaktion zeigen eine rote Flüssigkeit. Nur bei pathologischer Diazoreaktion aber ist der charakteristische Rosaschaum und die von mir beschriebene Kaliumpermanganatprobe<sup>1)</sup> vorhanden. Durch die Darstellung der Fraktion II sind wir imstande, die physiologische und pathologische Diazoreaktion Ehrlichs besser zu beurteilen und zu verfolgen als es bisher beim Arbeiten mit dem nativen Harn möglich war. Besonders intensiv fällt in den Fraktionen der positiven Harne die Permanganatprobe aus. Schon ein Tropfen einer einpromilligen  $\text{KMnO}_4$ -Lösung genügt, um in der mehrfach verdünnten Flüssigkeit eine exquisite, äußerst charakteristische Gelbfärbung zu erzeugen. Aber auch die Diazoreaktion fällt in dieser Fraktion besonders intensiv aus. Ich empfehle daher in allen Fällen, wo die Ehrlichsche oder Permanganatprobe im nativen Harn zweifelhaft sind, 200 bis 300 ccm Harn auf die Fraktion II zu verarbeiten und die Reaktionen anzustellen. Abermals konnte ich mich vom Parallelismus der Permanganat- und Diazoreaktion überzeugen.

Die Darstellung der Fraktion II gestattet aber auch einen Einblick in die quantitativen Verhältnisse der pathologischen Diazoreaktion. Hierzu stehen zwei Wege zu Gebote. 1. Die Bestimmung des sogenannten Permanganatwertes, d. h. jener Menge einer genau auf Oxalsäure eingestellten Permanganatlösung (am besten 1 ccm = 0,001 Oxalsäure), die nötig ist, um in der mit reinem Ammonsulfat ausgefällten  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung die Ehrlichsche Diazoreaktion zum Verschwinden zu bringen. Die Werte, die in der Urochromogenfraktion sich ergeben, sind, entsprechend der von anderen reduzierenden Substanzen bedeutend gereinigten Fraktion, weit niedriger als die früherer Arbeiten<sup>2)</sup>, wo mit nativem Harn gearbeitet wurde. 2. Die Bestimmung des Diazowertes der Ehrlichschen Reaktion durch Vergleich mit einer eine ähnliche Diazoreaktion gebenden Substanz. Zu diesem Zwecke eignet sich eine Tyrosinlösung

<sup>1)</sup> Med. Klin. 1910, Nr. 42 und Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 25.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 81, 342, 1917.

1 : 3000 sehr gut. Die Fraktion II wird nach Ausfällung mit Ammonsulfat so lange verdünnt, bis die Verdünnung eine Reaktion gibt, die der Ehrlichschen Diazoreaktion dieser Tyrosinlösung entspricht<sup>1)</sup> (Tyrosin 0,1, 0,5 %ige  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung 300).

Die Relation zwischen dem Diazowert, ausgedrückt in Tyrosin, und dem Permanganatwert in den Fällen positiver Ehrlichscher Diazoreaktion erwies sich im großen und ganzen als so konstant, daß die schon aus früheren Untersuchungen festgestellte Zusammengehörigkeit beider Reaktionen hierdurch bestätigt wurde. Die Permanganatprobe und die pathologische Diazoreaktion gehören daher zusammen und sind einem Körper zuzuschreiben, dem von mir sogenannten Urochromogen. Im Gegensatz zu pathologischen Harnen zeigen die Fraktionen normaler Harne nur die negative Diazoreaktion und keinerlei Permanganatprobe. Obgleich demnach verwandtschaftliche Beziehungen zwischen dem Urochrom und Urochromogen bestehen, sind beide Körper doch voneinander verschieden.

Die Fraktion II gibt in den Fällen positiver Diazoreaktion noch eine weitere Reaktion, die als charakteristisch für das Urochromogen angesehen werden kann. Sie reduziert ammoniakalische Silberlösung. Uroerythrin hat zwar die gleiche Eigenschaft, jedoch viel stärker ausgesprochen. Während Uroerythrin fast augenblicklich Schwarzfärbung erzeugt, entsteht beim Urochromogen zunächst ein grauer, erst allmählich schwarz werdender Niederschlag. Vom Uroerythrin kann jedoch das Urochromogen durch Ammonsulfatausfällung getrennt werden, durch welches außerdem die reduzierende Fähigkeit des Uroerythrins vollständig vernichtet wird. Diese Eigenschaft des Urochromogens erinnert an die gleiche Fähigkeit von in pathologischen Harnen mitunter gefundenen, sich mit Alkali braunfärbenden Substanzen, die ich mit dem gemeinsamen Namen „Alkaptochromogene“ bezeichne. Während aber die Substanzen meistens durch die sofortige

---

<sup>1)</sup> Die Ehrlichsche Diazoreaktion führe ich jetzt immer in folgender Weise aus: Zu 5 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit kommen 3 ccm der frisch diazotierten Sulfanilsäure (für 25 ccm Sulfanilsäurelösung  $\frac{1}{2}$  ccm  $\frac{1}{2}$  %iges  $\text{NaNO}_2$ ) und nach dem Herummischen 1 ccm *Ammonia pura liquida*.

Braunfärbung mit Alkali ihren Charakter als Alkaptonchromogen unmittelbar erkennen läßt, gelingt dies beim Urochromogen erst mittelbar nach 24 Stunden. Mischt man eine Probe mit positiver Diazo- oder Permanganatreaktion mit etwas Ammoniak, so tritt sofort eine intensiv gelbgrüne Färbung auf, nach 24 Stunden aber Braunfärbung. Überschichtet man eine gleiche Probe mit Ammoniak, so hat sich nach dieser Zeit ein brauner Ring gebildet. Mit Urochromfraktionen tritt bei Alkalizusatz nur die Vertiefung der gelben Farbe, aber keine analoge Braunfärbung nach 24 Stunden auf. Das Urochromogen ist somit ein Alkaptonchromogen, das aber der längeren Alkaliwirkung bedarf, um Braunfärbung zu ergeben. Verwendet man bei Vornahme der Permanganatprobe statt einpromilliger 1%ige  $\text{KMnO}_4$ -Lösung, so erhält man, namentlich bei leicht alkalischer Reaktion, sofort Braunfärbung.

Diese Tatsachen werfen auf die Permanganatprobe ein neues Licht. Dieselbe ist eine Alkaptonreaktion. Die starke Abhängigkeit dieser Probe von der Reaktion, indem dieselbe nur bei neutraler oder sehr schwach saurer Reaktion gelingt, regelmäßiges Nachdunkeln anfangs mit  $\text{KMnO}_4$  stark reagierender Fraktionen mit späterem Zurücktreten dieser Reaktion bis zu ihrem völligen Verschwinden, ferner Ausfallen eines braunen melaninartigen Farbstoffes in diesen Fraktionen, dessen Darstellung colorimetrisch seine Beziehungen zur restlichen Fraktion ergab, erhärtet diese Annahme zur Sicherheit<sup>1)</sup>. Der aus dem Urochromogen sich abspaltende Farbstoff, den ich vorläufig allgemein als ein Alkaptochrom bezeichnen will, womit seine Abstammung aus einem sich durch Alkaliwirkung braunfärbenden, Ag reduzierenden Chromogen angedeutet sein soll, erweist schon durch seinen Geruch den Phenolcharakter. Seine daneben vorhandene hohe chromogene Tendenz läßt ihn fernerhin mit großer Wahrscheinlichkeit als ein Polyphenolderivat ansprechen.

<sup>1)</sup> Die ausführliche Darstellung dieser Verhältnisse würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten und muß daher späteren Publikationen vorbehalten bleiben.

Als einen Bestandteil des Urochromogens müssen wir somit ein Phenolderivat ansehen und steht dasselbe im Besonderen zur Farbe des Körpers in unmittelbarer Beziehung. Der colorimetrische Vergleich dieses nach seiner Abspaltung aus dem Urochromogen entstandenen Alkaptochroms erweist seine Beziehungen zum Urochrom. Das Urochromogen gibt aber nicht nur die von mir als Alkaptone-reaktion erkannte Permanganatprobe, sondern auch die Ehrlichsche Diazoreaktion.

Welcher Art der die letztere verursachende Kern ist, darauf war das Studium lange Zeit gerichtet und verweise ich diesbezüglich auf meine früheren Arbeiten<sup>1)</sup>. Nachdem Ehrlich das Tyrosin und die Oxysäuren selbst ausgeschaltet hatte, wurde an einen Körper anderer Art gedacht, und so habe ich das Histidin und das Tryptophan, dessen höhere Oxydationsstufe, das Oxytryptophan, möglicherweise in Betracht kommen konnte, daraufhin untersucht, ob sie an dieser Reaktion beteiligt seien. Keiner dieser Körper bot die notwendigen quantitativen Beziehungen zur Ehrlichschen Diazoreaktion. In der letzten Zeit habe ich an ein Tyrosinderivat gedacht, aber auch diese Beziehungen konnten nicht aufrecht erhalten werden. Es ist wahrscheinlich, daß der die Diazoreaktion verursachende Kern in engster Beziehung zu dem polyphenolartigen Kern steht, der die Permanganatprobe bewirkt, somit vielleicht mit ihm identisch ist. Diese sehr schwer zu beurteilenden Verhältnisse sind noch Gegenstand weiterer Untersuchung.

Über die Stickstoffmenge, die in der Fraktion II enthalten ist, gibt die Tabelle am Schlusse der Arbeit einigermaßen Aufschluß. Die auf das Urochromogen entfallende Stickstoffmenge muß sehr gering sein. Eine Vorstellung hierüber gewährt die Rubrik „N des Hg-Acetatniederschlags bei saurer Reaktion in Fraktion II<sup>4</sup>“. Durch Hg-Oxydsalze wird das Urochrom und Urochromogen schon bei saurer Reaktion quantitativ gefällt. Das Filtrat ist farblos. Bei Zerlegung des Quecksilberniederschlags mittels  $H_2S$  enthält man die charakteristisch gefärbte Flüssigkeit, die bei positiven Harnen Diazo- und  $KMnO_4$ -Re-

<sup>1)</sup> Beiträge z. Klin. d. Tuberk. 8, 177 und diese Zeitschr. 81, 341, 1917.



aktion und die Ag-Reduktion noch gibt, aber einen großen Teil des Urochromogens schon im oxydierten Zustande enthält. Auch aus dieser Flüssigkeit fällt beim Stehen das früher erwähnte Alkaptochrom als Spaltprodukt des Urochromogens aus.

### III. Die Fraktion der ungefärbten Proteinsäuren (Histidin-Fraktion).

Das farblose Filtrat nach Ausfällung der gelben Farbstoffe durch Lauge stellt die III. Fraktion des Harnes dar. Sie enthält normalerweise fast völlig den sogenannten quantitativen Diazowert nach Pauly<sup>1)</sup>. Frühere Untersuchungen<sup>2)</sup> haben den Zusammenhang der an der Diazoreaktion Ehrlichs und an der quantitativen Diazoreaktion Paulys sich beteiligenden Substanzen mit der Proteinsäurefraktion des Harnes ergeben. Die Proteinsäuren enthalten neben einem gefärbten auch einen ungefärbten Anteil. Der gefärbte Anteil entspricht dem Urochrom(ogen). Die in der Diazoreaktion nach Pauly reagierenden andersartigen Substanzen beteiligen sich bei der Ehrlichechen Probe in keiner Weise. Im ungefärbten Anteil der Proteinsäuren habe ich neben der charakteristischen Diazoreaktion Paulys auch Knoopsche Reaktion gefunden und schon in einer früheren<sup>3)</sup> Arbeit daraus geschlossen, daß die Paulysche Diazoreaktion des ungefärbten Anteiles der Proteinsäuren durch ein Histidinderivat bewirkt wird. Neuerdings hat sich Fürth<sup>4)</sup> mit derselben Frage beschäftigt und ist zu dem gleichen Ergebnis gelangt.

Durch das neue Fraktionsverfahren sind wir imstande, die gefärbten von den ungefärbten Diazoreaktion gebenden Proteinsäuren im Harn abzuschneiden. In die Fraktion III gehen die farblosen Proteinsäuren über. Ihr qualitativer und quantitativer Nachweis gelingt durch die von mir und Szobelew<sup>5)</sup> angegebene Reaktion. Der quantitative Diazowert dieser Frak-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 58, 119, 1913.

<sup>2)</sup> Bondzynski, Dombrowski und Panek, Zeitschr. f. phys. Chem. 54, 83, 1905; M. Weiß, diese Zeitschr. 81, 348, 1917.

<sup>3)</sup> l. c.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. 96, 269, 1919.

<sup>5)</sup> Diese Zeitschr. 58, 119, 1913.

tion ist normalerweise um ein Geringes niedriger als der gesamte quantitative Diazowert des Harnes. Obgleich in der Fraktion II Teile der Histidinfraction mitgerissen werden, so ist, wie eigens darauf gerichtete Untersuchungen ergaben, die Menge dieses mitgefällten Anteiles recht gering.

Vom Gesamtdiazowert meines eigenen Harnes, der in der Tagesmenge 0,500 betrug, wurden 0,450 in der ungefärbten Fraktion gefunden. Die Relation zwischen dem Gesamtdiazowerte und dem der ungefärbten Proteinsäuren kann sich natürlich bei Harnen mit stark positiver Ehrlichscher Reaktion verschieben. So betrug in einem solchen Falle der Diazowert des ungefärbten Anteiles 0,300 von 0,450 Gesamtwert. Es ist wahrscheinlich, daß wir der Frage bezüglich des Ursprunges des einen Imidazolring enthaltenden Anteiles der Proteinsäuren näherkommen werden, wenn wir den ungefärbten Anteil für sich betrachten.

Außer Histidinderivaten sind in der Fraktion III auch immer Tryptophanderivate enthalten, nachweisbar durch die Adamkiewicz-Liebermannsche Probe. Häufig finden wir hier Uroroseinreaktion, besonders, wie ich in einer früheren Arbeit mit Smieczuszewski<sup>1)</sup> gefunden habe, bei Carcinomen des Digestionstraktes. Außer dem Urorosein enthält aber der Harn auch noch andere Tryptophanderivate. Die Tryptophanderivate lassen sich durch die Fraktionierung des Harnes nicht so scharf abscheiden, wie etwa die Histidinderivate. Wir finden meistens auch in der Fraktion II das Chromogen des Uroroseins. Zwar ist dasselbe durch Ammonsulfat aussalzbar, aber nicht so vollständig, wie es für die Abscheidung dieses Körpers wünschenswert wäre. Da aber dieses Chromogen ungefärbt ist, so kommt ihm für die Farbstoffanalyse des Harnes keine Bedeutung zu. Doch darf nicht außer acht gelassen werden, daß es durch Schwefelsäurewirkung leicht, wie alle Tryptophanderivate, in roten Farbstoff übergeht.

In der Fraktion III finden wir den größten Teil des Harnstoffes wieder. Weder im normalen, noch im pathologischen Harn ergaben sich mir aus der Stickstoffbestimmung der drei Fraktionen irgendwelche wertvolle Schlüsse, was vielleicht daran liegt, daß immer etwas Harnstoff mitgerissen wird. Einige Bestimmungen mögen hier Platz finden, weil sie über die Verteilung des Stickstoffes Aufschluß gewähren.

<sup>1)</sup> Wiener klin. Wochenschr. 1912, Nr. 52.

**Tabelle.**  
Stickstoffverteilung in den Farbstoff-Fractionen des Harnes.

Nr.	Name	Ehrlichsche Diazoreaktion	Gesamt-N pro die g	N der Fraktion I und in $\frac{1}{10}$ vom Ges.-N	N der Fraktion II und in $\frac{1}{10}$ vom Ges.-N	N der Fraktion III und in $\frac{1}{10}$ vom Ges.-N	N des Hg- Acetat-Nieder- schlags bei saurer R. in Fraktion II $\frac{1}{10}$	Nicht definierter Rest <sup>1)</sup> $\frac{1}{10}$
1	Eigener Harn	negativ	10,836	0,0854 = 0,78	0,470 = 4,34	9,884 = 92,13	—	0,297 = 2,75
2	Hurenowicz	pos. 2	3,94	0,0935 = 2,4	0,276 = 7,3	3,270 = 83,0	—	0,29 = 7,3
3	Derselbe	" 2	6,370	0,080 = 1,2	0,388 = 5,3	5,85 = 91,9	—	0,102 = 1,6
4	Stockhammer	" 3	6,74	0,156 = 2,3	0,712 = 10,5	5,175 = 76,6	—	0,70 = 10,6
5	Derselbe	" 4	6,518	0,212 = 3,2	0,352 = 5,4	5,677 = 87,0	—	0,277 = 4,4
6	Sayer	" 2	8,505	—	—	—	0,0164 = 0,19	—
7	Derselbe	" 2	4,38	—	—	—	0,0108 = 0,25	—

Bei der Durchführung meiner Arbeit wurde ich von Herrn cand. med. Otto Kretz und Fräulein Gertrud Blumer, Laboratoriumsassistentin des Kriegsspitals 4 in Wien, wo diese Arbeit begonnen wurde, in dankenswerter Weise unterstützt.

### Zusammenfassung.

1. Der Harn läßt sich in drei Hauptfraktionen zerlegen die als Grundlage für die Analyse seiner Farbe dienen können.

2. Den Hauptanteil an der Farbe nimmt nicht, wie bisher angenommen wurde, das Urochrom, sondern die Summe von Farbstoffen und Chromogenen, die in der durch neutrales Bleiacetat fällbaren Fraktion enthalten sind.

3. Demgegenüber beteiligt sich normalerweise das Urochrom, dessen Name nur in Kenntnis dieser Tatsache beibehalten werden darf, bloß in untergeordneter Weise an der Harnfarbe.

4. Der Harn kann, besonders in pathologischen Fällen, leicht nachdunkelnde Substanzen enthalten, die sich mit

<sup>1)</sup> Wahrscheinlich größtenteils Harnsäure, die in der Schwefelsäurelösung der Fraktion I ungelöst blieb.

Alkali braun färben und Silberalze reduzieren, von mir so genannte Alkaptonchromogene; diese können sich, besonders wenn sie nachgedunkelt sind, auch an der Harnfarbe beteiligen.

5. Das mit der Ehrlichschen Diazoreaktion ursächlich in Beziehung stehende Urochromogen ist auch ein Alkaptonchromogen und enthält eine sich bei längerem Stehen unter starkem Nachdunkeln abspaltende melaninartige Gruppe, die als Phenolderivat angesehen wird und die Permanganatprobe bewirkt. Die letztere ist eine Alkaptonreaktion.

6. Das physiologische Urochrom unterscheidet sich vom Urochromogen durch eine mattere Gelbfärbung, das Fehlen der Permanganat- und pathologischen Diazoreaktion und das Fehlen der Silberreduktion. Es dunkelt auch beim Stehen, aber weniger als das Urochromogen nach.

7. Die Darstellung der gelben Farbstofffraktion erlaubt einen wesentlich verbesserten qualitativen und quantitativen Nachweis des Urochromogens (Anreicherungsverfahren).

8. Die ungefärbte Fraktion des Harnes enthält diejenigen Proteinsäuren, die ein Histidinderivat darstellen und daher auch durch die Diazoreaktion nach Pauly nachweisbar sind.

9. Der Harn enthält Tryptophanderivate, die nicht immer mit dem Chromogen des Uroroseins identisch sind.

---

# Über Wirkungen der Radiumstrahlung auf Rohrzucker und Agar.

Von  
**A. Fernau.**

(Aus der Radiumstation im allgemeinen Krankenhause in Wien.)

(Eingegangen am 15. November 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

In einer Reihe gemeinschaftlich mit Wo. Pauli veröffentlichter Arbeiten<sup>1)</sup> wurden Wirkungen der durchdringenden Radiumstrahlung auf einige anorganische Kolloide, sowie auf Albumin und Glutin mitgeteilt. Über Veränderungen von Kohlenhydraten durch Strahlungswirkung liegen verschiedene Angaben in der Literatur vor. Neuberg<sup>2)</sup> hat die Hydrolyse des Rohrzuckers durch Photokatalyse beschrieben und Euler und Ohlsen<sup>3)</sup> konnten durch ultraviolettes Licht in neutraler Rohrzuckerlösung Inversion hervorrufen. Kailan<sup>4)</sup> erhielt in neutraler Rohrzuckerlösung Invertzucker als Wirkung der durchdringenden Radiumstrahlung. Dieser Autor bestimmte die in 890 Stunden durch die durchdringende Strahlung von 77 mg Radiumelement gebildete Säuremenge und fand, daß die Abnahme des Drehungsvermögens der Rohrzuckerlösung annähernd der aus der Säuremenge berechneten Inversion entspricht.

Auch Zerstäubung wäßriger Rohrzuckerlösung führt nach Abelous und Abeloi<sup>5)</sup> zu einer stärkeren Inversion derselben,

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 70, 426, 1915, und Kolloid-Zeitschr. 20, H. 1, 20, 1917, und eine dritte Arbeit erscheint demnächst in dieser Zeitschr.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 13, 305, 1908 u. 29, 279, 1910.

<sup>3)</sup> Journ. de Chim. phys. 9, 416, 1911.

<sup>4)</sup> Sitzungsber. d. Wien. Akad. 1912.

<sup>5)</sup> Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 168, 1125—28, und Chem. Centralbl. 1919, 111/IV, 488.

welche die Autoren auf einen gesteigerten OH- und H-Gehalt des Wassers durch das Zerstäuben beziehen.

Da die durchdringende Radiumstrahlung in jeder wäßrigen Flüssigkeit Wasserstoffsperoxyd bildet, lag die Annahme nahe, daß die Säurebildung durch Einwirkung des Wasserstoffsperoxyds auf Rohrzucker hervorgerufen werde. Es sei hier auf die von Neuberg und Mitarbeitern angegebene hydrolysierende Wirkung des Wasserstoffsperoxyds auf Polysaccharide<sup>1)</sup> sowie Lecithin<sup>2)</sup> verwiesen.

Um die Frage zu entscheiden, ob die Inversion eine primäre, das heißt eine Wirkung der Strahlung selbst, oder ein durch Wasserstoffsperoxyd bzw. Säuren hervorgerufener sekundärer Prozeß sei, wurde die folgende Reihe von Versuchen durchgeführt:

1. 20 ccm Wasser, 1 ccm Perhydrol wurden auf Acidität geprüft. Der Verbrauch an 0,05 n-Lauge betrug 0,20 ccm.

2. 20 ccm 2%ige Rohrzuckerlösung und 0,1 ccm Perhydrol wurden 2 Stunden bei 98° erhitzt. Zur Neutralisation der Säuren waren 5 ccm 0,05 n-Lauge nötig, die Flüssigkeit reduzierte Fehlingsche Lösung, die Drehung im Laurentschen Apparat war von 2,54° auf 0,25° zurückgegangen.

3. 20 ccm Rohrzuckerlösung wurden für sich allein 2 Stunden in gleicher Weise erhitzt. Eine Reduktion der Fehlingschen Lösung sowie eine Änderung der Polarisation war kaum festzustellen.

Auf Grund dieser Ergebnisse ist die Annahme begründet, daß Wasserstoffsperoxyd eine Umwandlung des Rohrzuckers in Invertzucker auf dem Wege der Säurebildung verursacht. Ein Bestrahlungsversuch, bei welchem eine Anhäufung nachweisbarer Mengen von Wasserstoffsperoxyd durch Platinmoor ausgeschlossen ist, sollte daher eine sehr verminderte Invertzuckerbildung ergeben.

Nachdem sich zeigte, daß Rohrzuckerlösung mit 0,05 g Platinmoor erhitzt, Fehlingsche Lösung stark reduziert, indem der verdichtete Sauerstoff offenbar Säure und Invertzuckerbildung hervorruft, so mußte in folgender Weise gearbeitet werden:

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 36, 34, 1911.

<sup>2)</sup> Radium in Biologie und Heilkunde 1913, 116.

3,2 ccm Wasser und 0,05 g Platinmoor wurden zunächst in einer Eprouvette im Dampfsterilisator eine Viertelstunde erhitzt, hierauf 0,8 ccm 10%ige sterile<sup>1)</sup> heiße Rohrzuckerlösung zugesetzt und das 80 mg Radiumelement in Form von 210 mg Radiumbariumsulfat enthaltende Glasröhrchen von 1,1 mm Wandstärke eingesenkt. Zur Kontrolle dienten 2 Eprouvetten mit demselben Inhalt. Nach 4 Tagen reduzierte die bestrahlte Lösung stark Fehlingsche Lösung, während die Kontrollen nur wenige Milligramm Kupferoxydul abschieden. Diese geringfügige Reduktion in den Kontrollen dürfte auf Platinmoor-oxydation zurückzuführen sein.

Zur Überprüfung der Aktivität des Platinmoors, das durch Reduktion von Platinchlorwasserstoffsäure mittels alkalischer Formaldehydlösung hergestellt worden war, wurde zu einer Mischung von 4 ccm Wasser und 1 ccm Perhydrol 0,05 g Platinmoor gebracht. Die katalytische Wirkung trat sofort ein, nach wenigen Minuten war Wasserstoffsperoxyd nicht mehr nachweisbar. Durch einen weiteren Versuch wurde auch festgestellt, daß Platinmoor durch Erhitzen mit Wasser seine katalytische Wirkung nicht vollständig eingebüßt hatte.

Die Bestrahlungsversuche wurden auch in alkalischer Lösung, bei der die Wasserstoffsperoxydanhäufung gegenüber der in neutraler Lösung erheblich herabgesetzt ist, durchgeführt. 5 ccm einer 2%igen Rohrzuckerlösung von 0,02 n-Alkalität (NaOH) kamen in 3 Eprouvetten und wurden sterilisiert. In eine dieser Proben wurde das Radiumröhrchen eingesenkt und steril verschlossen 4 Tage bestrahlt. Die bestrahlte Flüssigkeit zeigte eine starke Reduktion der Fehlingschen Lösung, während die Kontrollen unverändert blieben.

In einem zweiten Versuche wurde die gebildete Säuremenge bestimmt. 5 ccm der bestrahlten Flüssigkeit verbrauchten bei Verwendung von Phenolphthalein als Indicator 4,02 ccm einer ca. 0,02 n-Salzsäure, während die beiden Kontrollen 5,02, bzw. 5,05 ccm benötigten. In einem dritten Versuche wurde die Alkalität auf 0,2 n erhöht und trotzdem nach 4 tägiger Bestrahlung Invertzucker nachweisbar.

<sup>1)</sup> Auf Sterilität der Flüssigkeit ist streng zu achten, da nicht sterile Rohrzuckerlösung infolge Fermentwirkung hineingelangter Mikroorganismen invertiert wird.

Ein Analogon zu dieser Feststellung dürfte in den Versuchen von Neuberg<sup>1)</sup> vorliegen, der durch Gleichstrom auch in alkalischer Lösung (0,5 n) eine komplette Inversion des Rohrzuckers erzielen konnte, wobei eine hydrolytische Wirkung durch geringfügige Überschreitung der H-Ionenneutralität nach der sauren Seite ausgeschlossen war.

Die Inversion des Rohrzuckers tritt demnach mit oder ohne Anwesenheit von Platinmoor nach der gleichen Bestrahlungsdauer, ebenso in alkalischer Lösung ein, so daß auf Grund der ausgeführten Versuche mit hoher Wahrscheinlichkeit der Satz ausgesprochen werden kann: Die Inversion ist eine primäre Wirkung der durchdringenden Radiumstrahlung und erfolgt nicht sekundär auf dem Wege der Wasserstoffsperoxyd- resp. Säurebildung.

\* \* \*

Mit Rücksicht auf die Möglichkeit, die geringsten Zustandsänderungen von Agar durch Änderung der Fluidität, demnach mittels viscosimetrischer Messungen zu erkennen, wurde Agarlösung unter zeitlicher Verfolgung der inneren Reibung mehrere Tage im Ostwaldschen Viscosimeter bestrahlt. Je 4 ccm einer 0,1%igen Agarlösung, die unmittelbar vorher im Wasserbad erhitzt worden war, wurden in 2 Reibungsröhren von fast gleichem Wasserwert gefüllt und in einem durchsichtigen Thermostaten bei 35° gehalten. In eine Röhre kam das mit einem Häkchen versehene Radiumröhrchen, das während der viscosimetrischen Messung mittels eines Seidenfadens aus der Flüssigkeit herausgezogen werden konnte. Die unbestrahlte Reibungsröhre diente als Kontrolle. Bereits nach 4 Tagen war die bestrahlte Flüssigkeit nahezu bis zum Wasserwert verflüssigt, reduzierte sehr kräftig Fehlingsche Lösung, woraus die hydrolytische Spaltung des Kohlenhydrates Agar in reduzierende Zuckerarten — wahrscheinlich Galaktose und Arabinose — hervorgeht. Die Ergebnisse sind in untenstehender Tabelle I und graphisch in Fig. 1 zusammengestellt.

Wasserstoffsperoxyd löst, wie Versuche erwiesen, wohl dieselbe Wirkung aus, dennoch ist auf Grund der bei Rohr-

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 17, 271, 1909.



Tabelle I.

0,10% Agar zunächst auf 190° erhitzt, hierauf bei 35° gehalten. Wasserwert des Viscosimeters der bestrahlten Probe 256, der Kontrolle 253.

Datum	$\eta_1$	$\eta_2$ Kontrolle
24. II. 1917 kurz nach Erhitzung auf 100°	1,520	1,537
25. II. 12 <sup>h</sup> Radiumröhrchen eingesenkt	1,570	1,628
28. II. . . . .	1,250	1,628
2. III. . . . .	1,200	1,628
5. III. . . . .	1,171	1,628
	Fehling stark reduzierend	nicht reduzierend

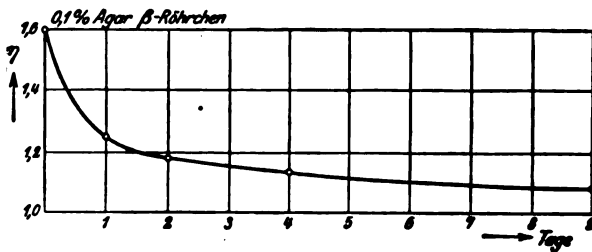


Fig. 1.

zucker gemachten Erfahrungen auch für die Hydrolyse des Agar eine primäre Strahlenwirkung nicht auszuschließen.

Tabelle II.

Zeitliche Änderung der Viscosität von 0,1% Agar (4 ccm Agarlösung versetzt mit 0,2 ccm  $\frac{1}{100}$  n NaOH<sup>1)</sup> nach Zusatz von Wasserstoffsperoxyd (Perhydrol). Wasserwert des Viscosimeters = 256 Fünftelsekunden.

Zeit	Durchströmungszeit in Fünftelsekunden	
		Kontrolle ohne H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
0 <sup>h</sup>	342	342
— <sup>h</sup>	0,2 ccm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> zugesetzt	—
— <sup>h</sup> 5'		335
17 <sup>h</sup>	270	—
46 <sup>h</sup>	260	—
68 <sup>h</sup>	260	342

<sup>1)</sup> NaOH wurde zwecks Neutralisierung der schwach sauer reagierenden Perhydrol-Agarlösung zugesetzt, wenngleich ein Kontrollversuch ergab, daß Säurezusatz (0,4 ccm  $\frac{1}{100}$  n-HCl pro 4 ccm Agarlösung) keine Reibungsänderung bewirkt und demnach die Neutralisation nicht unbedingt nötig ist.

## Ein Beitrag zur Narkosefrage.

Von  
Gerhard Denecke.

(Aus der Medizinischen Klinik Greifswald.)

(Eingegangen am 18. November 1919.)

Die Lipoidtheorie von Overton und Meyer ist in letzter Zeit mehrfach angegriffen worden. Vor allem ist es der Versuch Hans Meyers<sup>1)</sup> über den Einfluß der Temperatur, dessen Nachprüfung mehrfach abweichende Resultate ergeben hat. Hans Meyer stellte zwei Gruppen von Narkoticis einander gegenüber, deren Teilungskoeffizienten sich bei wechselnder Temperatur verschieden verhielten. Während bei der einen Gruppe, an deren Spitze das Chloralhydrat steht, der Teilungskoeffizient für Öl und Wasser mit steigender Temperatur sich zugunsten des Öls verschiebt, tut er das bei der Gruppe Salicylamid usw. zugunsten des Wassers. Und analog diesem Verhalten fand er nun für den Schwellenwert der ersteren Gruppe geringere Werte bei hoher Temperatur, als bei niedriger, und umgekehrt bei der zweiten. Seine Kaulquappen in warmem Chloralhydrat von der Konzentration des Schwellenwertes narkotisiert, erwachten, wenn die Lösung um 30° abgekühlt wurde, hatte er sie aber in warmem Salicylamid bei einer bestimmten Konzentration noch nicht betäuben können, so schiefen sie sofort ein, wenn er die Lösung in gleichem Grade abkühlte.

Dieser Versuch stellte eine Hauptstütze der Theorie dar, wonach die narkotische Wirkung der Substanzen abhängig ist von ihrer Lipoidlöslichkeit. Helene Nothmann-Zucker-

---

<sup>1)</sup> Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 338.

kandel<sup>1)</sup> untersuchte die Wirkung der genannten Narkotica auf die Plasmaströmung der Blätter von Vallisneria und fand immer eine gesteigerte Wirkung bei höherer Temperatur; auch Salicylamid usw. wirkten bei gleicher Konzentration schneller bei 38 als bei 17°. Jedoch besagen diese Versuche kaum etwas gegen Meyers Versuch, weil es sich bei der Plasmaströmung und ihrer Hemmung nicht sicher um einen narkotischen Prozeß handelt, sondern wahrscheinlich um eine irreparable Fällung, und weil die Pflanzenzellen ja im Verhältnis zu den tierischen Nervenzellen sehr lipoidarm sind. Das letztere Bedenken äußert die Verfasserin bereits selbst.

Der Meyersche Versuch ist dann von Unger<sup>2)</sup> und Bierich<sup>3)</sup> wiederholt worden. Unger konnte ihn für Kaulquappen, die auch Meyers Objekt darstellten, bestätigen, für eine kleine Goldorfenart aber nicht. Für diese Fische fand er auch bei Salicylamid eine Steigerung der Wirkung durch Erwärmen. Bierich fand auch für Kaulquappen andere Resultate. Seine Tiere wurden, wenn sie in der Wärme eingeschlafen waren, nach längerem Aufenthalt in der Kälte alle wieder beweglich, gleichgültig ob sie in Chloralhydrat oder Salicylamid gewesen waren, und auch den Schwellenwert fand er für alle Narkotica in der Wärme geringer als in der Kälte. Schließlich hat Redonnet<sup>4)</sup>, ausgehend von Untersuchungen Genslers<sup>5)</sup> die Verteilung der bromhaltigen Narkotica in den verschiedenen Organen des Tierkörpers studiert und kommt auch zu einer, wenigstens teilweisen, Ablehnung der Lipoidtheorie. Nachdem er festgestellt hat, daß jedem Narkosestadium ein bestimmter Gehalt des Tierkörpers an dem Narkoticum entspricht, findet er dieses Verhältnis auch bei Erhöhung der Temperatur konstant, wiewohl sich der Verteilungsquotient mit der Temperatur ändert. Immerhin bemerkt Redonnet, daß ein gewisser Grad von Lipoidlöslichkeit für das Eindringen der Substanzen in den Körper der Frösche von Bedeutung ist. So enthalten seine Tiere in tiefer Narkose so viel Brom, als ob sie in einer Lösung von 78 mg Bromgehalt gesessen hätten, während sie nur 50 mg enthielt. Man könnte vermuten, daß der Wassergehalt der Frösche beim Eintritt in den Versuch und regulatorische Vorgänge wie sie Durig<sup>6)</sup> beschreibt, hier mitgespielt haben. Aber die Kontrolle mit dem lipoidunlöslichen Bromnatrium und Magnesiumbromid hat ergeben, daß bei Lösungen mit gleichem Bromgehalt nichts in den Froschkörper über-

<sup>1)</sup> Nothmann-Zuckerkandel, diese Zeitschr. 45, 412.

<sup>2)</sup> Unger, diese Zeitschr. 89, 238.

<sup>3)</sup> Bierich, Arch. f. d. ges. Physiol. 174, 202.

<sup>4)</sup> Redonnet, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 84, 339.

<sup>5)</sup> Gensler, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 77, 161.

<sup>6)</sup> Durig, Arch. f. d. ges. Physiol. 85, 401.

geht. Nach Redonnets Ansicht ist nur die raschere Resorption des Narkoticums durch die Haut die Ursache für den schnellen Eintritt der Narkose in der Wärme. Wenn also in der Kälte während der langsamen Resorption bereits die Ausscheidung wieder einsetzt, so erklärt sich daraus der höhere Schwellenwert für niedrigere Temperaturen. Denn wenn, wie Redonnet fand, der Bromgehalt im Blute am höchsten ist, eine Speicherung in den Gehirnzellen also nicht stattfindet, so muß notwendig zur Erreichung des erforderlichen Narkoticumspiegels, die Ausfuhr in einem gewissen Verhältnis zur Einfuhr stehen, Änderungen der Zeit also Änderungen der Konzentration bedingen. Damit würden Meyers Beobachtungen nicht zu vereinigen sein.

Ich habe daraufhin das Verhalten von lipoidunlöslichen Narkoticis bei Temperaturänderung untersucht, um festzustellen, ob tatsächlich nur Unterschiede in der Schnelligkeit der Resorption die Erscheinungen bei Temperaturerhöhung erklären können. Ich wählte lipoidunlösliche Mittel, um eine Begünstigung der Resorption, wie sie Redonnet erwähnte, auszuschalten und benutzte das Magnesiumsulfat, das von Meltzer und Auer<sup>1)</sup> <sup>2)</sup> als gutes Narkoticum empfohlen wurde und das Bromkali. Versuche, eine reine Resorptionsnarkose an Quappen durchzuführen, schlugen fehl. Die Kaulquappen ertrugen eine 2,5%ige Lösung von Magnesiumsulfat ohne Narkose und ohne Störungen über 24 Stunden, und in 5% starben sie alle, offenbar durch Wasserentziehung, in der hypertonischen Lösung. Ich ging dann zu Injektionen des Narkoticums in den Lymphsack von Fröschen über. Bei der Auswertung des Mittels zeigte sich, daß bei Fröschen von 10 g Gewicht mit 0,4 ccm einer 5%igen Magnesiumsulfatlösung eben eine gute Narkose erzielt wurde, bei der der Cornealreflex erlosch und Kneifen der Extremitäten mit der Pinzette keine Bewegungen mehr auslöste. Das Vertragen der Rückenlage allein kann noch nicht als Narkose angesehen werden. Der Schwellenwert stimmt mit Meltzers und Auers Angabe überein, die 1,5 bis 2,0 g pro Kilo Frosch für nötig halten. Die Frösche wurden in feuchten Kammern auf Fließpapier sitzend gehalten und der Versuch wurde begonnen, sobald sie 3 Tage konstantes Gewicht gezeigt hatten. Das ist nötig, weil die Frösche sonst bei hoher Temperatur durch Wasserabgabe an Gewicht verlieren. Auf die geschilderte Weise

---

<sup>1)</sup> Meltzer und Auer, Amer. Journ. of physiol. 14, 366.

<sup>2)</sup> Meltzer, Berl. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 3.

geht aber der Versuch bei gleichem Wassergehalt des Frosches vor sich, denn nach Durig vermögen die Frösche von feuchtem Fließpapier Wasser aufzunehmen.

Die Tiere wurden also zunächst 3 Tage in Eis gehalten, dann erhielten sie für je 10 g Gewicht 0,4 ccm einer 5%igen  $MgSO_4$ -Lösung in die Lymphsäcke des Rückens injiziert und wurden von 2 zu 2 Minuten auf Cornealreflex, Verhalten gegen Kneifen und Vertragen der Rückenlage geprüft. Die Zeit in Minuten bis zum Eintritt der Narkose ist unter A in der Tabelle eingetragen. Nach dem Erwachen wurde eine Ruhezeit von 3 Tagen abgewartet. Dann kamen die Tiere in den Brutschrank bei 28 bis 30° und wurden nach 3 Tagen, wenn Gewichtskonstanz eingetreten war, wiederum narkotisiert und beobachtet wie vorher (siehe die Zeiten unter B). Es fand sich, wie zu erwarten war, daß die Narkose in der Wärme viel schneller eintrat als in der Kälte. Da das Mittel injiziert worden war, war die raschere Resorption durch die Haut zwar ausgeschaltet, aber die Zeitdifferenz konnte sich durch den mehr oder weniger raschen Übertritt des Mittels in das Blut erklären.

Nunmehr wurden die Tiere nach einer abermaligen Erholungspause wieder im Brutschrank narkotisiert, aber kurz vor dem Eintritt der Narkose, nämlich 5 Minuten post injectionem herausgenommen, in Eiswasser abgekühlt und im Eisschrank weiter beobachtet. Der Versuch wurde nur dann verwendet, wenn noch keine Zeichen von Narkose aufgetreten waren. In allen diesen Fällen trat die Narkose viel später auf, siehe die Zeiten unter C, die denen unter A nicht nachstehen. Während die Narkose bei weiterem Verbleiben in der Wärme in 1 bis 2 Minuten zu erwarten gewesen wäre, trat sie nun in der Kälte erst so spät auf, als ob die Tiere von vornherein im Eis gesessen hätten. Es muß noch bemerkt werden, daß die Reihenfolge der Versuche gewechselt wurde um einer Gewöhnung an das Mittel keinen Einfluß auf den Ausfall zu gestatten.

Tabelle I.

Frosch	Gewicht	Eintritt der Narkose in Minuten		
		A	B	C
G	10,5	22	7	—
H	11,5	27	5	—
I	11,5	keine Narkose	7	18
K	12,5	18	7	18
L	15,5	48	5	26
M	15,0	keine Narkose	5	21
P	10,0	16	6	18
Q	11,0	27	6	13
R	10,5	21	9	keine Narkose
S	10,0	42	7	58

Die gleiche Versuchsanordnung wurde mit Bromkali wiederholt. Beim Versuch einer Resorptionsnarkose durch die Haut zeigte sich in

Übereinstimmung mit Redonnet keine Narkose. Die Ergebnisse der Injektionsnarkose zeigt die Tabelle II. Es wurde als eben narkotisierende Dosis 0,5 ccm einer 2%igen Lösung gefunden.

Tabelle II.

Frosch	Gewicht	Eintritt der Narkose in Minuten		
		A	B	C
G	10,5	35	18	29
H	11,5	35	10	keine Narkose
I	11,5	51	—	40
K	12,5	51	—	40
L	14,5	65	15	22
M	14,0	65	13	keine Narkose
P	10,0	60	16	32
Q	10,5	60	14	40

Nach diesen Resultaten erscheint es unwahrscheinlich, daß lediglich die Schnelligkeit der Resorption den rascheren Eintritt der Narkose in der Wärme verursacht. 5 Minuten post injectionem muß der bei weitem größte Teil des Narkoticums bereits resorbiert und an seiner Wirkungsstelle sein, denn in der 6. sehen wir bereits die Narkose auftreten. Wenn die Abkühlung eine Verzögerung von wenig Minuten zur Folge hätte, könnte man annehmen, daß gerade der letzte, zum Schwellenwerte nötige minimale Bruchteil verlangsamt resorbiert würde, aber bei den starken Verzögerungen ist diese Deutung ausgeschlossen. Man könnte aber der Kälte in diesem Falle, oder besser der plötzlichen Abkühlung der erhitzten Tiere eine allgemein erregende Wirkung zuschreiben, die dann der Narkose entgegenwirkt. Gensler fand ja, daß seine künstlich aufgeregten Hunde schwerer zu narkotisieren waren als die ruhigen. Jedoch stimmen unsere Versuchsergebnisse nicht mit Gensler überein; die Frösche bei 30° befinden sich in höchster Aufregung; sie springen dauernd ohne Rücksicht auf ihren Kopf gegen den Deckel ihres Glases, reagieren bei jeder Prüfung der Reflexe äußerst lebhaft und sind immer bestrebt zu entkommen, solange die Narkose noch nicht eingetreten ist, und trotzdem schlafen sie ein im dritten Teile der Zeit, die die phlegmatisch im Eise sitzenden Tiere brauchen. Und wenn sie beim Greifen im Brutschrank noch so sehr zappelten und mit den Beinen stießen, unter dem kalten Wasser beruhigten sie sich sofort

und saßen dann still im Glase, so daß man versucht wäre, von der „narkotisierenden Wirkung der Kälte“, wie Unger, zu sprechen, wenn es sich eben nicht nur um eine Beruhigung gehandelt hätte und die Narkose gerade durch die Abkühlung hinausgezögert worden wäre.

Es muß also angenommen werden, daß, wie alle Zellfunktionen, auch der narkotisierende Prozeß in der Wärme bei der allgemeinen Steigerung aller Stoffwechselforgänge rascher vor sich geht, und daß er nicht allein von der Schnelligkeit der Resorption abhängig ist. Dieser Befund scheint für die Theorie der Narkose zu sprechen, die eine Verminderung der Zellpermeabilität auf Grund kolloidaler Prozesse (Höber<sup>1)</sup>, Hans Winterstein<sup>2)</sup>, Bierich, v. Knaffel-Lenz<sup>3)</sup> annimmt, weil wohl nur durch physikalische Zustandsänderungen, Beeinflussung der elektrischen Leitfähigkeit oder des Quellungs-zustandes, eine so nachhaltige Verzögerung der Narkose, gewissermaßen in letzter Minute, wenn alle wirksame Substanz bereits an Ort und Stelle ist, erklärt werden kann. Wenn diese Erwägung richtig war, so war es von vornherein unwahrscheinlich, daß die Narkose in Abhängigkeit vom Verteilungsquotienten, Öl zu Wasser beim selben Tier mit Chloralhydrat in der Wärme und mit Salicylamid in der Kälte leichter erreichbar sein sollte, wie es Meyers eingangs erwähnter Versuch zeigt. Denn der Stoffwechsel des Kaltblüters steigt immer in der Wärme und mit ihm scheint der Narkosevorgang Schritt zu halten.

Es wurden deshalb in einer weiteren Versuchsreihe Kaulquappen und kleine Weißfischchen mit Chloralhydrat und Salicylamid nach Meyers Vorschrift narkotisiert. Daß der Schwellenwert für beide Stoffe bei 30° niedriger ist als bei 0°, hat Bierich bereits im Gegensatz zu Meyer festgestellt. Auch ich fand für

Chloralhydrat bei 0°  $n/_{50}$ , bei 30°  $n/_{250}$ ,

Salicylamid . bei 0°  $n/_{600}$ , bei 30°  $n/_{1300}$ ,

also beide in der Wärme geringer als in der Kälte. Und die Wirkung war, daß die Tierchen, die in der Wärme eingeschlafen

<sup>1)</sup> Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 166, 531.

<sup>2)</sup> Winterstein, diese Zeitschr. 51, 143 und 75, 71.

<sup>3)</sup> v. Knaffel-Lenz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 84, 66.

waren, in der Kälte nicht wieder erwachten, gleichgültig, ob sie in Chloralhydrat oder Salicylamid schwammen. Auch in Adalin genügt z. B. ein Gehalt von 0,025% zur Narkose bei 30°, während im Eisschrank 0,04% nötig sind. Jedoch erwachen die Tiere nicht, wenn sie aus der Wärme in die Kälte gebracht werden. Wurden Tiere im kalten Chloralhydrat und Salicylamid narkotisiert und auf 30° erwärmt, so reagierten in beiden Mitteln einige Tiere nach etwa einer Minute wieder auf Kneifen des Schwanzes mit Zuckungen, wurden aber bald wieder reflexlos; die Erklärung, die Bierich diesem Vorgange gibt, stützt unsere obigen Erwägungen. Die Tiere, die mit tragem Stoffwechsel im kalten Narkoticum schwimmen, erliegen der Kombination von Kälte und Narkoticum, noch ehe sie so viel Narkoticum resorbiert haben, daß die Narkose allein dadurch unterhalten werden könnte. Infolgedessen erwachen sie, wenn der eine Faktor durch das Erwärmen wegfällt und schlafen wieder ein, sobald sie, nunmehr mit lebhaftem Stoffwechsel, mehr Narkoticum aufgenommen haben.

Zusammenfassend kann also gesagt werden: daß in Bestätigung der Beobachtungen von Unger und Bierich die Narkose immer beim Kaltblüter in der Wärme rascher und mit geringerer Dosis eintritt als in der Kälte, und daß dieser Prozeß durch plötzlichen Wechsel der Temperatur so beeinflußt werden kann, daß eine Abhängigkeit von der Geschwindigkeit der Resorption unwahrscheinlich, wohl aber ein Zusammengehen mit dem Stoffwechsel des Tieres zu vermuten ist.

---



# Zur Kenntnis der Hefe *Saccharomyces Thermantitonum*.

## II. Mitteilung.

Von

**Hans von Euler und Ingvar Laurin.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 19. November 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

Auf Grund einer vorhergehenden Untersuchung haben wir vor kurzem mitgeteilt<sup>1)</sup>, daß eine aus dem Laboratorium von A. Joergensen, Kopenhagen, stammende Kultur der Hefe *Saccharomyces Thermantitonum* hinsichtlich der charakteristischen Temperaturpunkte erheblich von der ursprünglichen. 1905 gezüchteten Kultur, wie sie Johnson beschrieben hatte, abweicht.

Während nämlich nach Johnson<sup>2)</sup> die Optimaltemperatur für Vermehrung und Gärung dieser Hefe zwischen 40° und 45° liegt, fanden wir das Maximum des Zuwachses bei 33° und beobachteten bei 38° überhaupt keinen Zuwachs mehr. Was die Gärungsgeschwindigkeit betrifft, so war dieselbe nach unseren Versuchen bei 35° und 40° annähernd gleich und nahm von diesem Temperaturgrad an ab; jedenfalls lag das Gärungsoptimum also unterhalb 40° und auch unterhalb des Gärungsoptimums unserer Oberhefe SB II.

Sind die Angaben von Johnson im wesentlichen richtig, was kaum bezweifelt werden kann, so muß in den 15 Jahren,

---

<sup>1)</sup> Euler und Laurin, diese Zeitschr. 97, 156, 1919.

<sup>2)</sup> Johnson, Journ. Inst. of Brewing 11, 1905; Woehenschr. f. Brauerei 28, Nr. 16, 1906.

während der die Hefe in Bierwürze bei etwa 16° aufbewahrt worden war, eine Anpassung (Adaption) an diese Temperatur der ursprünglich an höhere Temperaturen gewöhnten Hefe eingetreten sein.

Da über Temperaturanpassungen zwar verhältnismäßig zahlreiche Beobachtungen vorliegen, aber wenige Untersuchungen, in denen man einigermaßen vollständige Angaben über den Anpassungsverlauf findet, so haben wir, um den vorliegenden Fall möglichst genau festzulegen, noch einen zweiten Stamm der Johnsonschen *Thermantitonum*-Hefe vom Jahr 1905 untersucht, der uns aus dem Institut für Gärungsgewerbe von Herrn Prof. P. Lindner überlassen wurde.

Über Änderungen der charakteristischen Temperaturgrenzen bei Hefen ist recht wenig bekannt.

Nach einer Angabe von Schmidt-Nielsen<sup>1)</sup> zeigte ein Stamm von *Saccharomyces Pastorianus* I aus dem Carlsberg-Laboratorium, der von E. Chr. Hansen längere Zeit im Eisschrank gezüchtet worden war, bei 0° „in 17 Tagen schönes Wachstum auf Bierwürzegeleatine“. Anhaltspunkte für eine Anpassung können nur aus der Angabe entnommen werden, daß ein anderer Stamm derselben Hefe aus dem Laboratorium von A. Joergensen bei 0° in 40 Tagen kein Wachstum zeigte.

Häufiger und eingehender untersucht sind in dieser Hinsicht die Bakterien.

So konnte Dieudonné<sup>2)</sup>, um nur ein Beispiel anzuführen, durch allmähliche Temperaturniedrigung bei der Züchtung des Milzbrandbacillus eine Anpassung an Temperaturen bis herunter zu 10° erzielen. Wir werden an anderer Stelle Gelegenheit haben, näher auf die sehr bemerkenswerte Untersuchung Dieudonné's einzugehen.

Es ist unsere Absicht, durch Fortsetzung unserer Untersuchung für den vorliegenden Fall alle Angaben zu liefern, die für die Beurteilung einer Temperaturanpassung erforderlich sind, und zwar durch

1. zahlenmäßige Festlegung der in Betracht kommenden Eigenschaften vor und nach der Anpassung,
2. Verfolgung des zeitlichen Verlaufs der Anpassung unter möglichst genauer Angabe des Generationswechsels,
3. zahlenmäßige Festlegung der Konstanz des durch die Anpassung erreichten Zustandes.

---

<sup>1)</sup> Schmidt-Nielsen, *Centralbl. f. Bakt.* II, 9, 145, 1902.

<sup>2)</sup> Dieudonné, *Arch. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt* 9, 432, 1894.

Durch die hier mitzuteilenden Versuche wollten wir zunächst feststellen, ob die aus derselben Hefe gewonnenen, unabhängig voneinander, aber ziemlich gleichartig behandelten Stämme der Thermanittonum-Hefe bei der Anpassung die gleichen Änderungen erfahren haben.

Die vorliegende Mitteilung II bezieht sich also auf die gleichen Faktoren wie die I. Mitteilung und ist auch in ganz ähnlicher Weise durchgeführt worden, so daß wir uns hinsichtlich der Versuchsanordnungen unter Hinweis auf die I. Mitteilung kurz fassen können.

Die Hefe wurde aus der uns übersandten Gelatinekultur in Nährlösungen übergeimpft, die auch für den Kopenhagener Stamm in Anwendung gekommen waren, nämlich teils Hefenwasser (1% Trockengewicht + 2% Rohrzucker), teils Bierwürze. Die Heranzüchtung der Hefe in diesen Nährlösungen geschah bei 23°, und hierbei zeigte sich ein recht auffallender Unterschied des Berliner Stammes gegenüber dem Kopenhagener Stamm. Der Berliner Stamm setzte sich nämlich bedeutend fester auf dem Boden der Kulturkolben ab, so daß die überstehende Flüssigkeit leicht quantitativ abdekantiert werden konnte. Überhaupt zeigt der Berliner Stamm eine bedeutend stärkere Neigung zur Flockenbildung, was die Zellenzählung an dieser Hefe außerordentlich erschwert.

#### Untersuchung der Inversionsfähigkeit.

Die in Kolben herangezogene Hefe wurde nach Entfernung der Nährlösung wiederholt mit Wasser gewaschen und abzentrifugiert. Schließlich wurde eine wäßrige Hefesuspension in folgender Weise verwendet:

8 g Rohrzucker	4,8 g Rohrzucker
15 ccm 4%ige $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lös.	10 ccm 4%ige $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lös.
10 " Hefesuspension	10 " Hefesuspension
75 " Wasser	40 " Wasser
<u>100 ccm Lösung</u>	<u>60 ccm Lösung</u>
Zellenzahl: $5,3 \cdot 10^9$	Zellenzahl: $5,15 \cdot 10^9$ .

Die Flockung der Hefe trat bei diesen Zellenzählungen nicht störend auf, so daß diese Werte besonders zuverlässig sind. Wir nehmen als Mittelwert:

Zellenzahl:  $5,2 \cdot 10^9$ .

Die Inversionsversuche gaben die Konstanten (siehe Beilagen, Versuchsreihe I):

$$k \cdot 10^4 = 33 \text{ und } 56.$$

Somit ergeben sich für die Inversionsfähigkeit<sup>1)</sup> Inv. die Werte (19<sup>0</sup>)

$$\text{Inv.} = \frac{k \times g \text{ Zucker}}{\text{Zellenzahl}} = \frac{33 \times 10^{-4} \times 8}{5,2 \cdot 10^9} = 5,1 \cdot 10^{-12} \text{ und}$$

$$\frac{56 \times 10^{-4} \times 4,8}{5,2 \cdot 10^9} = 5,2 \cdot 10^{-12}.$$

Der Kopenhagener Stamm hatte ergeben:  $5 \cdot 10^{-12}$ .

### Temperaturempfindlichkeit der Thermantitonum-Saccharase.

Da die Thermantitonum-Hefe von Johnson als besonders resistent gegen höhere Temperaturen beschrieben worden war, so lag die Möglichkeit vor, daß auch ihre Enzyme eine erhöhte Temperatur-Toleranz zeigen. Geringe Unterschiede scheinen in dieser Beziehung bei der Saccharase vorzukommen, wie eine eingehende Untersuchung gezeigt hat<sup>2)</sup>. Unter Hinweis auf diese Untersuchung erinnern wir nur daran, daß der Unterschied in der Inaktivierungskonstanten  $k_c$  der Saccharase aus unserer Brennerei-Oberhefe und aus dem Kopenhagener Stamm von Sacch. Thermantitonum einer Temperaturdifferenz von etwa 3<sup>0</sup> entspricht.

### Zuwachsversuche.

**Methodik.** Bierwürze wurde gereinigt durch Auflösen des Eiweißes eines Hühnereies und Ausfällung durch mehrstündiges Kochen. Von der so gereinigten Würze wurden 20 ccm in eine größere Anzahl 50-ccm-Kolben einpipettiert und 2mal in Zwischenräumen von 1 bis 2 Tagen sterilisiert. In jedem solchen Kolben wurde Saccharomyces Thermantitonum aus der Kultur des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe überimpft und ca. 40 Stunden bei 24<sup>0</sup> stehen gelassen.

Die Hefe hatte sich in dieser Zeit bis auf eine Zellen-

<sup>1)</sup> Euler und Svanberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 106, 220, 1919.

<sup>2)</sup> Euler und Laurin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 108, 64, 1919.

anzahl von  $(1 - 2) \cdot 10^5$  per  $\text{mm}^3$  vermehrt. Von dieser Hefensuspension wurde nach intensivem Umschütteln je 1 ccm steril in vier andere Kolben übergeführt, von denen drei in verschiedenen Thermostaten auf die Temperaturen  $24^\circ$ ,  $30^\circ$ ,  $40^\circ$  vorgewärmt worden waren, während der vierte Kolben bei  $18^\circ$  verblieb.

Die Zellenzählungen wurden in der Weise ausgeführt, daß 1 ccm steril entnommen und mit 1 ccm Sodalösung gemischt wurde. Die Hefeflocken lösten sich in der Regel hierdurch nicht ohne weiteres, sondern erst nach gelinder Erwärmung. Nachdem der Zuwachs längere Zeit (ca. 8 Stunden) fortgeschritten war, erwies es sich nahezu unmöglich, die Flocken zu verteilen, weshalb eine Schätzung der schließlichen Ernten nicht ausgeführt werden konnte.

Das Resultat findet man in folgenden Tabellen, in denen auch der Versuch gemacht ist, die Zuwachsgeschwindigkeit durch eine Konstante auszudrücken; die Genauigkeit der erhaltenen Mittelwerte geht unmittelbar aus der Betrachtung der einzelnen Konstanten jeder Versuchsreihe hervor.

18°

Stunden	$z =$ Zellenzahl $\times 10^{-3}$ per cmm	$k = \frac{1}{t} \log \frac{z_0}{z_t}$
0	5,5	—
2	10,7	(0,145)
4	15,8	0,115
6	18,0	0,086
8	? (Flocken)	?
23	ca. 55	—
Mittel: $k = 0,10$		

24°

Stunden	$z =$ Zellenzahl $\times 10^{-3}$ per cmm	$k = \frac{1}{t} \log \frac{z_0}{z_t}$
0	4,9	—
2	12,4	(0,202)
4	—	0,120
6	28,0	0,126
8	59,7	0,135
23	? (Flocken)	—
Mittel: $k = 0,13$		

30°

Stunden	$z =$ Zellenzahl $\times 10^{-3}$ per cmm	$k = \frac{1}{t} \log \frac{z_0}{z_t}$
0	8,2	—
2	15,2	0,134
4	38,1	0,164
6	42,0	0,118
8 u. 23	Flocken	—
Mittel: $k = 0,14$		

40°

Stunden	$z =$ Zellenzahl $\times 10^{-3}$ per cmm	$k = \frac{1}{t} \log \frac{z_0}{z_t}$
0	9,3	—
4	(6,2)	—
8	9,0	0
Mittel: $k = 0$		

Für den Stamm aus dem Laboratorium von Jörgensen wurde in der vorhergehenden Mitteilung die Zuwachstemperaturkurve angegeben. Zum Vergleich stellen wir hier die obigen Resultate graphisch mit den früher erhaltenen zusammen.<sup>1)</sup>

Nach den gewonnenen Ergebnissen scheint also der Berliner Stamm einen geringeren Temperaturkoeffizienten des Zuwachses und ein weniger ausgeprägtes Maximum zu besitzen, das jedoch wie das des Kopenhagener Stammes nur wenig über 30° liegt

Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die von uns gefundenen Zuwachskonstanten des Berliner-Stammes bedeutend unsicherer sind als die entsprechenden Zahlen für den Kopenhagener Stamm, wegen der viel stärkeren Flockenbildung; die Tabellen ergeben ja auch eine bedeutend geringere Konstanz der  $k$ -Werte.

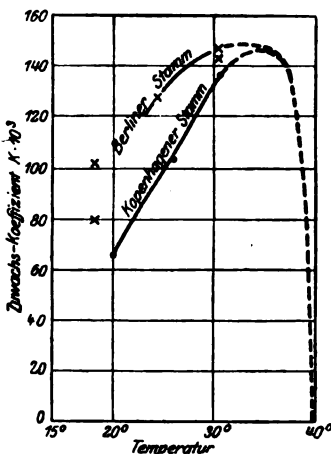


Fig. 1.

### Gärungsversuche.

Zu den Gärungen wurden folgende Lösungen verwendet:

- 6 g Rohrzucker
  - 80 ccm 4%ige  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lösung
  - 10 " Hefensuspension
  - 60 " Wasser
- 150 ccm.

Die Gärungen wurden bei zwei verschiedenen Temperaturen 35° und 40° ausgeführt, jedesmal mit Parallelversuchen. In beiden Versuchsreihen wurden einem Parallelversuchskolben vor Beginn und am Schluß des Versuches je 5 ccm zur Zellenzählung entnommen (dieselben wurden mit dem doppelten Volumen Soda verdünnt), wodurch also diese beiden Versuche B und D mit 5 ccm = 3,3% weniger Lösung ausgeführt sind.

<sup>1)</sup> In Figur 1 ist Punkt  $k \cdot 10^3 = 80$ , Temp. = 18° zu streichen.

ccm CO<sub>2</sub>, 35°.

Stunden	A. 150 ccm Lösung		B. 145 ccm Lösung	
	Gesamtmenge ccm	per 30 Min. ccm	Gesamtmenge ccm	per 30 Min. ccm
1	143	—	130	—
1,5	290	147	265	135
2	420	130	388	123
3	660	120	600	112
3,5	780	120	721	121
4	884	104	822	101
5,5	1108	—	1064	—

Zellenzahl vor der Gärung:  $1,27 \times 10^{10}$ " nach " "  $1,20 \times 10^{10}$ ccm CO<sub>2</sub>, 40°.

Stunden	C. 150 ccm Lösung		D. 145 ccm Lösung	
	Gesamtmenge ccm	per 30 Min. ccm	Gesamtmenge ccm	per 30 Min. ccm
1	181	—	189	—
1,5	303	122	311	122
2	437	134	432	121
3	657	110	650	109
3,5	783	126	758	108
4	893	110	858	100
5,5	1151	—	1115	—

Die Zellenzahl veränderte sich während der Vergärung nicht.

Die Tabellen zeigen, daß die Gärung bei 40° höchstens sehr unbedeutend schneller verläuft als bei 35°. Es ergab sich also bezüglich des Temperaturkoeffizienten in diesem Gebiet eine recht vollständige Übereinstimmung mit dem Kopenhagener Stamm. Bei beiden Stämmen ist also das Gärungstemperatur-Optimum auf eine Temperatur unter 40° gesunken.

Die Gärkraft des Berliner Stammes war bei unseren Versuchen etwa doppelt so groß wie die der Kopenhagener Hefe.

Letztere entwickelte in 3 Std. (zwischen der 2. und 4. Std.):

	35°	40°
bei Zellenzahl . $1,5 \cdot 10^{10}$	457	476 ccm CO <sub>2</sub>
also per $10^{10}$ Zellen:	305	317 " "

Der Berliner Stamm entwickelte in 3 Stunden

	35°	40°
Zellenzahl . $1,2 \cdot 10^{10}$	713	702 ccm CO <sub>2</sub>
also per $10^{10}$ Zellen:	594	585 " "

Hieraus ergibt sich das Verhältnis der Gärkraft (35° u. 40°)  
 Berliner St. : Kopenhagener St. 1,95 : 1      1,85 : 1

### Übersicht.

Es hat sich also durch die mitgeteilten Versuche ergeben, daß die beiden untersuchten, 1905 von der Johnsonschen Hefe abgeimpften Stämme von Sacch. Thermantitonum während etwa 15 jähriger Kultur auf Bierwürze ihre charakteristischen Temperaturgrenzen in nahezu gleicher Weise geändert haben.

Wir können nun davon ausgehen, daß die an der Kopenhagener Hefe festgestellte Änderung nicht als Fluktuation aufzufassen ist, sondern als Anpassung an eine veränderte konstante Temperatur.

Wir wollen bei dieser Gelegenheit die zahlenmäßig festgestellten Eigenschaften der beiden Stämme vergleichen:

1. Zuwachskoeffizienten	20°	30°	Obere Wachstumsgrenze
Kopenhagener St.	6	13	ca. 38°
Berliner St.	12	14	ca. 38°
2. Inversionsfähigkeit			
Kopenhagener St.	5 · 10 <sup>-12</sup>		
Berliner St.	5 · 10 <sup>-12</sup>		
3. Gärkraft			
(ccm CO <sub>2</sub> per 3 Stunden und 10 <sup>10</sup> Zellen, 35°)			
Kopenhagener St.	305		
Berliner St.	594.		

Die zu vergleichenden Zahlenpaare wären — wenn die beiden Stämme vollkommen gleichartig behandelt worden wären — als Fluktuationsgrenzen zu bezeichnen, wenn wir darunter diejenigen Grenzwerte verstehen wollen, innerhalb welcher ein Stamm von Mikroorganismen hinsichtlich einer Eigenschaft bei gleichen äußeren Bedingungen und gleicher Vorgeschichte schwankt<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Streng genommen müssen wir bei Mikroorganismen zweierlei Fluktuationsgrenzen unterscheiden. Die eine Angabe betrifft die Differenzen, die — gleiche Behandlung immer vorausgesetzt — zwischen den Nachkommen einer einzigen Zelle auftreten.

Anders werden diejenigen Fluktuationsgrenzen ausfallen, die sich bei Vergleich von Kulturen ergeben, die in größerer Zahl, etwa mit Platinaöse, aus dem gleichen Stamm übergeimpft sind.



Dabei ist zu betonen, daß die Eigenschaften eines Mikroorganismenstammes immer durch einen Mittelwert angegeben werden, und daß die Fluktationsgrenzen um so geringer ausfallen werden, ein je vollständigeres Mittel wir nehmen und je genauer wir die äußeren Bedingungen konstant halten. Es ist sogar zu fragen, ob wir nicht nur von den Fluktationsgrenzen der einzelnen Zellen sprechen können, und ob nicht die Fluktation bei Stämmen von größerer Zellenzahl (etwa über  $10^6$ ) nur auf der unvollständigen Konstanz der äußeren Bedingungen beruht. So wurden beispielsweise in einer Untersuchung von Euler und Svanberg für eine Unterhefe H die Grenzen der Inversionsfähigkeit (bei bestimmter Temperatur) zu  $(10 \pm 2) \cdot 10^{-12}$  angegeben. Dabei waren die untersuchten Proben dieser Hefe keineswegs genau gleich vorbehandelt und würden schon ohne außerordentliche Maßnahmen zu weit größerer Übereinstimmung gebracht werden können.

#### Zusammenfassung.

Wie früher an einem aus dem Laboratorium von Jörgensen erhaltenen Stamm von *Saccharomyces Thermantitonus* so wurde nun an einem Stamm dieser Hefe aus dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin Zuwachsgeschwindigkeit, Gärkraft und Inversionsfähigkeit untersucht.

Bezüglich der charakteristischen Temperaturpunkte und -grenzen zeigt sich eine bemerkenswerte Übereinstimmung, so daß die Abweichung, die diese Stämme von der ursprünglichen Hefe zeigen, als eine Temperaturanpassung anzusehen ist.

#### Beilagen.

Versuchsbedingungen	Minuten	Drehung	$k \times 10^4$	
Versuchsreihe 1. Inv.-Temp. 19°				
1. 8 g Zucker	0	2,63	—	$k \times 10^4 = 33$
	30	2,04	28	
	41	1,65	34	
	50	1,43	36	
	$\infty$	— 0,91	—	
2. 4,8 g Zucker	0	2,63	—	$k \times 10^4 = 56$
	20	1,84	55	
	30	1,56	52	
	41	1,10	60	

Versuchsbedingungen	Minuten	Drehung	$k \times 10^4$	
Versuchsreihe 2. Inv.-Temp. 16°.				
3. Nicht erhitzt	0	2,64	—	
	20	1,94	53,0	
	27	1,70	53,4	
	40	1,31	53,3	$k \times 10^4 = 53,2$
	$\infty$	— 0,95	—	Rel. = 100
4. 1 St. auf 60,0° ± 0,4 erhitzt	0	2,64	—	
	27	2,53	29,3	$k \times 10^4 = 27,3$
	40	2,00	24,4	Rel. = 51
	50	1,72	23,1	$k_e \times 10^3 = 4,8$
5. 1 St. auf 65,4° ± 0,5 erhitzt	0	2,64	—	$k \times 10^4 = 4,9$
	28	2,52	5,3	Rel. = 9
	60	2,43	4,4	$k_e \times 10^3 = 17$

# **Die Adsorbierbarkeit der oberflächenaktiven Stoffe durch verschiedene Adsorbenzen sowie ein Versuch zur Systematik der Adsorptionserscheinungen.**

Von

**L. Michaelis und P. Rona.**

(Aus den biologischen Laboratorien des Krankenhauses am Urban,  
Berlin.)

*(Eingegangen am 20. November 1919.)*

Bei den Untersuchungen über die Adsorbierbarkeit der Elektrolyte stellten wir fest, daß die Kohle als Adsorbens eine Sonderstellung einnimmt. Sie war bisher das einzige Adsorbens, bei dem sich die Adsorptionsaffinitäten nicht auf die bisher bekannten chemischen Affinitäten zurückführen lassen, bei dem elektropolare Eigenschaften des Adsorbens keine Rolle spielen, bei dem Anion und Kation des Elektrolyten in äquivalenter Menge adsorbiert werden. Wir wiesen bei dieser Gelegenheit auch darauf hin, daß die Kohle auch bei der Adsorption von Nichtelektrolyten eine Sonderstellung einnimmt, und kein anderes Adsorbens ihr gleichkommt. Das wollen wir nunmehr näher erörtern.

Unsere Versuche erstrecken sich in dieser Arbeit nur auf solche Adsorbenda, die praktisch als zweifellose Nichtelektrolyte zu betrachten sind. Die besten Beispiele sind die höheren Alkohole und Ester. Für diese hat Freundlich festgestellt, daß ihre Adsorbierbarkeit mit steigender Oberflächenaktivität zunimmt, und J. Traube hatte gefunden, daß die Oberflächenaktivität mit steigendem Molekulargewicht zunimmt. Wir können diese beiden Sätze für die Reihe der Alkohole in dem einen zusammenfassen, daß ein einwertiger Alkohol mit Verlängerung der Kohlenstoffkette immer besser adsorbierbar wird.

Freundlich hatte ferner die Regel aufgestellt, daß die Adsorbierbarkeit der verschiedenen Stoffe weitgehend unabhängig von der Natur des Adsorbens ist, so daß er zu dem Schluß kam, als das adsorbierende Agens nur die Oberfläche des adsorbierenden Pulvers, die Phasengrenzfläche zu betrachten, während die chemische Natur des Adsorbens in weitestem Maße gleichgültig sei.

Daß diese letztere Regel auf die Adsorption der Elektrolyte nicht anwendbar ist, zeigten wir in den früheren Arbeiten. Was ihr Zutreffen für die höheren Alkohole anlangt, so können wir die Regel in einer gewissen Beziehung bestätigen. Es ist nämlich die Reihenfolge der Adsorbierbarkeit der Alkohole, für die wenigen Fälle, in denen sich diese überhaupt feststellen läßt, in der Tat unabhängig von der Natur des Adsorbens. Aber das Adsorptionsvermögen der verschiedenen Adsorbentien überhaupt ist in denkbar weitestem Umfange von der chemischen Natur des Adsorbens abhängig. Wir finden auf der einen Seite Stoffe von höchstem Adsorptionsvermögen, auf der anderen Seite Stoffe ohne jede Spur von Adsorptionsvermögen selbst für die höchsten Alkohole, soweit sich bei ihnen überhaupt noch eine Löslichkeit in Wasser nachweisen läßt.

Eine solche Löslichkeit läßt sich stalagmometrisch bis zum n-Oktylalkohol nachweisen, Nonylalkohol stand uns nicht zur Verfügung. Über n-Decylalkohol können wir folgendes berichten: Schüttelt man ihn mit Wasser und filtriert, so erhält man eine leicht opaleszierende Flüssigkeit von geringerer Oberflächenspannung als Wasser<sup>1)</sup>. Es hat sich eine durchaus stabile, äußerst feine Emulsion gebildet. Verdünnt man diese mit gleichen Teilen Wasser, so bleibt im ersten Augenblick eine der Verdünnung entsprechende geringere Opalescenz bestehen. Diese klärt sich aber bald beinahe völlig auf. Erst jetzt haben wir eine wirkliche Lösung. Diese aber hat eine kaum mehr nachweisbar geringere Oberflächenspannung als Wasser. Wir können daraus schließen: 1. daß Decylalkohol in Wasser schon so wenig löslich ist, daß er nicht mehr stalagmometrisch

---

<sup>1)</sup> Nach heftigem Schütteln gibt auch oft schon Oktylalkohol eine ganz leicht opaleszierende Lösung.

nachweisbar ist, 2. daß der Decylalkohol als Emulsion die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt. Wir wollen nun gleich vorwegnehmen, daß der Decylalkohol in emulsoider Form von allen Pulvern adsorbiert wird, in derselben Weise, wie z. B. suspendierte Bakterien von allen Pulvern adsorbiert werden. Es handelt sich hier nicht um die Adsorption eines molekulardispersen, gelösten Stoffes, sondern um die Adsorption eines kolloid gelösten Stoffes. Wir berühren hiermit eine Frage, die bisher in der Lehre der Adsorption noch nicht systematisch berücksichtigt worden ist, und wir werden in einer besonderen Arbeit auf diese Frage näher eingehen. In dieser Arbeit wollen wir nur die Adsorption echter Lösungen behandeln, und hierfür ist der Decylalkohol bei Anwendung unserer Methode kein geeignetes Objekt mehr. Die Fälle, an denen sich die Freundlichsche Regel experimentell feststellen läßt, sind beschränkt. Sie läßt sich eigentlich nur nachweisen für Kohle, Talk und Schwefel. Bei diesen war in der Tat die Reihenfolge der verschiedenen Alkohole bezüglich ihrer Adsorbierbarkeit die gleiche. Bei allen anderen Adsorbentien sind die Ausschläge der Adsorption zu gering, um etwas Sicheres aussagen zu können. Immerhin fand sich kein Widerspruch zu dieser Regel.

Wenn wir das Adsorptionsvermögen verschiedener Pulver miteinander vergleichen wollen, so müßten wir dies auf die Oberflächeneinheit, nicht die Masseneinheit des Pulvers beziehen. Es ist aber schwierig, das Adsorptionsvermögen verschiedener Pulver zahlenmäßig miteinander zu vergleichen. Wir haben keine Methode, um Oberflächen von Pulvern zu messen. Die Unterschiede des Adsorptionsvermögens bei den verschiedenen Pulvern sind aber so gewaltig, daß wir auch ohne das ausreichende Angaben machen können. Z. B. erweist sich der amorphe Kohlenstoff in jeder Form als das bei weitem beste Adsorbens für Alkohole. Je nach der Feinheit der Kohle ist natürlich das Adsorptionsvermögen von 1 g Kohle, wie lange bekannt, ganz verschieden. So sind z. B. 1 g Mercksche Blutkohle mit 45 g zerstoßener Retortenkohle (Bogenlampenstift) gleichwertig, und trotzdem ist zerstoßene Retortenkohle immer noch ein viel besseres Adsorptionsmittel, als selbst das zweitbeste Adsorptionsmittel, das wir überhaupt fanden, der

Talk selbst in feinstpulvriger Form. Und selbst dieses sehr geringe Adsorptionsvermögen des Talks ist im Vergleich mit allen anderen adsorbierenden Pulvern, außer allenfalls dem Schwefel, außergewöhnlich groß. Es gibt zahlreiche Adsorbentien, die nicht das allergeringste Adsorptionsvermögen für gelöste Alkohole haben, selbst in der denkbar feinsten Form, nämlich wenn die Adsorbentien in Form der kolloidalen Lösungen gegeben sind. Dies ließ sich am kolloidalen Eisenhydroxyd und am Arsensulfid, als Adsorbentien angewendet, zeigen, und zwar mit Hilfe einer Dialysiermethode. Die kolloidale Lösung dialysierte gegen eine wäßrige Lösung eines höheren Alkohols, und bei der Dialyse nahm diese kolloidale Lösung nicht mehr Alkohol auf als reines Wasser, nicht einmal bei dem Octylalkohol, dem am besten adsorbierten Alkohol, den wir noch für die stalagmometrische Analyse benutzen konnten.

Als Adsorbendum benutzten wir Aceton, Tributyrin, Heptylalkohol, sekundären und normalen Octylalkohol in wäßriger Lösung. Das Aceton wurde jodometrisch, die anderen Stoffe stalagmometrisch bestimmt. Die Alkohole und das Tributyrin wurden meist in  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{4}$  gesättigter Lösung angewendet. Die stalagmometrischen Ausschläge sind hier bei geringen Konzentrationsunterschieden größer, als wenn man von der gesättigten Lösung ausgeht.

Als Adsorbentien wandten wir zahlreiche verschiedene unlösliche Pulver und die beiden genannten kolloidalen Lösungen an. Um überhaupt Ausschläge zu erhalten, mußten wir so viel Pulver wie irgend möglich anwenden. Hierbei mußte der Feuchtigkeitsgehalt der Pulver berücksichtigt werden, der aber nur in wenigen Fällen als meßbare Verdünnung der zugesetzten Alkohollösung berücksichtigt zu werden brauchte. Diese Berücksichtigung geschah in der Weise, daß wir den Feuchtigkeitsgehalt der Pulver an einer besonderen Probe durch Trocknen bei 105 bis 115° bestimmten und in Rechnung zogen. Wir vermieden es aber, diese getrockneten Pulver selbst als Adsorbentien zu benützen, um dem Einwand zu begegnen, daß die Pulver durch das scharfe Trocknen ihr Adsorptionsvermögen eingebüßt hätten.

Unter den Adsorbentien, die wir anwandten, befand sich außer dem elementaren Kohlenstoff und außer  $\text{CaCO}_3$  keine

C-haltige Verbindung, weil wir beabsichtigen, über diese in einer besonderen Arbeit mit Hinblick auf die Biologie ausführlicher zu berichten. Bei unseren Adsorbenzien war, wo eine Adsorption überhaupt deutlich nachweisbar war, d. h. bei Kohle, Talk und Schwefel, die Reihenfolge der Adsorbierbarkeit der verschiedenen oberflächenaktiven Stoffe, unter den gleichen Versuchsbedingungen, stets dieselbe und zwar in aufsteigender Reihenfolge: Aceton, Tributyrin, n-Heptylalkohol, sekundärer Octylalkohol, n-Octylalkohol.

Die Adsorbenzien lassen sich nach ihrem Adsorptionsvermögen in folgende Reihe bringen: Allen weit voraus die Kohle. In weitem Abstände folgt dann als bestes Talk, sodann Schwefel. Die lösliche Modifikation adsorbiert weit besser als die unlösliche<sup>1)</sup>. Nicht nachweisbar, in zweifelhaften Spuren adsorbiert Osmosil, sodann Kieselguhr und gar nicht adsorbieren Kieselsäure (Kahlbaum), amorphes Silicium, Kaolin<sup>2)</sup>, Eisenhydroxyd als Pulver und als kolloidale Lösung, Arsensulfid als kolloidale Lösung, frischgefälltes  $MnO_2$ , Kalomel,  $BaSO_4$ , Calciumcarbonat, basisches Wismutnitrat, Eisenphosphat.

Das beste Adsorbens nach der Kohle ist der Talk. Da dieser nun auch ein Adsorptionsmittel für basische Farbstoffe ist, lag es nahe, das Verhältnis der Adsorbierbarkeit von Methylenblau und Heptylalkohol einerseits für Kohle, andererseits für Talk zu bestimmen. Gegen Methylenblau waren 50 g Talk ebenso wirksam wie 1 g Kohle. Gegen Heptylalkohol und Octylalkohol sind aber erst etwa 500 g Talk 1 g Kohle äquivalent. Noch krasser ist das Mißverhältnis beim Kaolin. Dieses dürfte nach der Kohle das beste Adsorbens für basische Farbstoffe sein. 12 g Kaolin waren 1 g Kohle gegenüber Methylenblau

---

<sup>1)</sup> Es liegt nahe, das Adsorptionsvermögen gerade der in organischen Solvenzien löslichen Schwefelmodifikationen als das reciproke Verhalten zu dieser Löslichkeit zu betrachten. Da wir aber die Oberfläche der beiden Arten von Schwefelpulver schwer vergleichen können und auch die Schwefelarten bisher nicht in reiner Form untersucht haben, wollen wir uns mit dem Hinweis begnügen.

<sup>2)</sup> Gegen Tributyrin zeigt Kaolin scheinbar etwas Adsorption. Wir möchten aber vermuten, daß es sich nicht um Adsorption, sondern um Verseifung handelt, da von den Alkoholen nicht einmal der Octylalkohol adsorbiert wird.

gleichwertig. Gegenüber Heptyl- und Octylalkohol sind dagegen mit Bestimmtheit viele Tausende Gramm Kaolin noch nicht im entferntesten mit 1 g Kohle gleichwertig.

Im ganzen erkennen wir deutlich, daß das Adsorptionsvermögen der verschiedenen Pulver stark von ihrer chemischen Natur abhängt. Die Reihenfolge der Adsorbierbarkeit der Nichtelektrolyte bleibt allerdings, soweit sich das feststellen läßt, bei allen Adsorbentien die gleiche, d. h. bei der von uns angewendeten, für die Stalagmometrie geeigneten, für jeden einzelnen Stoff besonderen Konzentration war der Adsorptionsgrad immer in der Reihenfolge abfallend: n-Octylalkohol, sek. Octylalkohol, Heptylalkohol.

Wollen wir diese Tatsachen mit der Erklärung der Adsorption durch das Gibbssche Theorem in Einklang bringen, so können wir das nur unter einer Hilfsannahme. Die Ursache der Adsorption ist ja nach diesem Theorem, daß die Grenzflächenspannung durch die Adsorption vermindert wird. Wir müssen also annehmen, daß der Einfluß einer etwaigen Anreicherung der Oberfläche mit einem „oberflächenaktiven“ Stoff auf die Grenzflächenspannung verschieden groß ist, je nach der Natur des Adsorbens. Am größten ist dieser Einfluß bei der Kohle, bei vielen anderen Stoffen aber = 0. Bei diesen findet dann keine Adsorption statt.

Ansaulicher ist es allerdings, wie wir in der früheren Arbeit schon betonten, wenn wir nicht den abgeleiteten Begriff der Oberflächenspannung, sondern die Vorstellung von einer zwischen den Molekülen herrschenden Anziehung zugrunde legen, die z. B. auch der Smoluchowskischen Theorie der Flockung von Suspensionen zugrunde liegt, und schließlich auch schon in der van der Waalschen Konstante  $a$  bei Gasmolekülen ihren Ausdruck findet<sup>1)</sup>. Wir neigen der Ansicht zu, daß diese Anziehung im Wesen nicht zu trennen ist von den „Restaffinitäten“. Was diese allgemeinen molekularen Anziehungskräfte heute noch von den „echten“ chemischen Affinitäten

<sup>1)</sup> Titoff (Zeitschr. f. physikal. Chem. 74, 641, 1910) hat darauf hingewiesen, daß die van der Waalsche Konstante  $a$  der Gase und die Adsorbierbarkeit der Gase durch Kohle parallel gehen. Vgl. hierüber besonders S. Arrhenius, Das Hauptgesetz der Adsorptionserscheinungen, Meddelanden från k. vetenskapsakademiens Nobelinstitut 2, Nr. 7, 1911.



trennt, ist der Mangel der Spezifität. Wir können uns die Sache am besten unter folgendem Bilde vorstellen. Jedes Molekül oder jeder Molekularkomplex des Adsorbens hat einen ganz bestimmten Grad von Anziehungsvermögen zu fremden Molekülen; die Reihenfolge, in der die Adsorbentien hiernach geordnet werden können, ist gegenüber allen Adsorbenden von chemisch indifferentem Charakter dieselbe: also Kohle, Talk, Kieselsäure, Eisenoxyd. Andererseits haben auch die Adsorbenda von chemisch-indifferentem Charakter einen ganz bestimmten Grad von Anziehungsvermögen zu einem Adsorbens; die Reihe der Adsorbierbarkeit steigt z. B. bei den einwertigen Alkoholen mit wachsender Kohlenstoffkette. Diese Reihe ist gegen alle Adsorbentien die gleiche. Der Grad der Adsorption setzt sich also additiv zusammen aus dem allgemeinen Adsorptionsvermögen des Adsorbens und der allgemeinen Adsorbierbarkeit des Adsorbendum. Analytisch nachweisbaren Umfang erreicht die Adsorption aber nur bei den besten Adsorbentien und den besten Adsorbenden. Besonders gibt es nur wenige Adsorbentien, die niedere Alkohole überhaupt noch merklich adsorbieren, und zahllose, die selbst die höheren Alkohole nicht mehr nachweisbar adsorbieren.

Es muß natürlich auch die molekulare Anziehung zwischen dem Adsorbens und dem Lösungsmittel berücksichtigt werden. Da wir uns dieses molekulare Anziehungsvermögen als eine additive Eigenschaft der beiden Molekulararten vorstellten, und das Lösungsmittel in allen unseren Versuchen immer nur Wasser ist, können wir die Rolle des Lösungsmittels vernachlässigen, wenn es sich nur darum handelt, die verschiedenen Adsorbenda nach ihrer Adsorbierbarkeit in einer bestimmten Reihe zu ordnen. Wenn man aber die Adsorption auch in anderen Lösungsmitteln als Wasser mit berücksichtigt, darf die Rolle des Lösungsmittels selbstverständlich nicht vernachlässigt werden.

In diesem beschränkten Sinne behält die Freundliche'sche Regel von der Unabhängigkeit der Adsorption von der chemischen Natur des Adsorbens ihre Gültigkeit; dagegen ist es nicht richtig, die stoffliche Natur der Phasengrenzfläche als belanglos für den Betrag der Adsorption zu betrachten. Freundlich hat zwar diese Behauptung nicht aufgestellt, aber seine Regel hat doch besonders bei Biologen diese irrtümliche Deutung erfahren.

Aber alles das gilt nur, wenn entweder das Adsorbens

(Kohle) oder das Adsorbendum (Alkohole, Ester) ein nicht zur Ionenbildung befähigter Körper ist und sich in echter Lösung befindet. Man könnte diese Regel etwa so aussprechen: Die Adsorptionsgröße zwischen einem Adsorbens und einem gelösten Nichtelektrolyten setzt sich additiv zusammen aus dem allgemeinen „Adsorptionsvermögen“ des Adsorbens und der „Adsorbierbarkeit“ des gelösten Stoffes.

Sind Adsorbens und Adsorbendum ionogen, so treten an die Stelle dieser Gesetze die Gesetze des Ionenaustausches, die wir in der früheren Arbeit entwickelt haben. Ist das Adsorbendum ein Kolloid, so treten wiederum neue Gesetze auf, die wir in einer späteren Arbeit entwickeln werden.

Für die Systematik der Adsorptionserscheinungen erscheint es uns geboten, auch die hier studierte Form der Adsorption mit einem besonderen Namen zu belegen, ebenso wie wir die verschiedenen denkbaren Formen der Adsorption der Elektrolyte schon einzeln benannt haben. Wir schlagen die Bezeichnung *apolare Adsorption* vor. Das System der Adsorptionserscheinungen ist demnach folgendes:

**A. Adsorption echt gelöster Stoffe.**

**B. Adsorption kolloid gelöster Stoffe.**

Die Gruppe A umfaßt folgende Fälle.

I. Das Adsorbens ist nicht ionogen, das Adsorbendum ist nicht ionogen:

„Einfache apolare Adsorption“.

Beispiel: Kohle — Octylalkohol.

II. Adsorbens nicht ionogen, Adsorbendum ionogen (d. h. elektrolytisch dissoziiert):

„Apolare Ionen-Adsorption“.

Beispiel: Kohle — NaCl

oder Kohle — Methylenblauschlorid.

Auch diese Adsorption ist apolar. Denn wir haben ja nachgewiesen, daß die Adsorbierbarkeit eines Ions durch Kohle nicht von dem Vorzeichen der Ionenladung abhängt, sondern von anderen spezifischen Eigenschaften der Ionen, die ihren Ausdruck auch in den anderen bekannten Ionenreihen

finden. Die apolare Ionen-Adsorption, soweit sie sich auf eine einzelne Ionenart bezieht, läßt sich nur erschließen. In Wirklichkeit werden aus Gründen elektrostatischer Natur immer nur analytisch gleiche Mengen positiver und negativer Ionen adsorbiert. Die apolare Ionen-Adsorption tritt also praktisch immer nur in Form der „äquivalenten Ionen-Adsorption“ in Erscheinung.

III. Adsorbens ionogen, Adsorbendum nicht ionogen:

„Combinierte apolare Adsorption“.

(Ampolar, weil die polare Eigenschaft des Adsorbens nicht zur Geltung kommen kann, weil sie nicht die Ursache der Adsorption ist.)

Beispiel: Talk — Octylalkohol.

Diese Form der Adsorption führt nur sehr selten zu einem analytisch nachweisbaren Umsatz.

IV. Adsorbens ionogen, Adsorbendum ionogen:

„Polare Adsorption“.

a) Das Adsorbens hat den Charakter einer Säure oder Base, das Adsorbendum den Charakter einer Base oder Säure:

„einfache heteropolare Adsorption“.

Beispiel: Kieselsäure — Methylenblaubase.

b) Das Adsorbens hat den Charakter eines Salzes (d. h., es enthält ein ionogenes Säure- und Basenradikal), das Adsorbendum ist Base oder Säure:

(Erster Fall der)

„Austauschadsorption“.

Beispiel: Basisches Eisenchlorid + Pikrinsäure = Eisenpikrat + HCl.

Dieser Fall ist noch nicht genügend untersucht.

c) Das Adsorbens ist eine Säure oder Base, das Adsorbendum ist ein Salz.

Es sind 2 Fälle denkbar:

1. Das Salz wird als Ganzes adsorbiert. In diesem Falle würde eine apolare Adsorption vorliegen. Ein Fall von apolarer Adsorption bei ionogenem Adsorbens und ionogenem Adsorbendum ist aber bisher nicht beobachtet worden.

2. Die Adsorption führt zu einer Hydrolyse des Salzes:

„Hydrolytische Adsorption“; kommt nur selten vor, und zwar nur dann, wenn das entstehende Salz an Unlöslichkeit mit der freien Säure wetteifert.

Beispiel: Mangandioxyd (d. h. Anhydrid der manganigen Säure) + NaCl = unlösliches Natriummanganit + HCl<sup>1)</sup>.

d) Adsorbens und Adsorbendum sind salzartig.

Es sind wiederum 2 Fälle denkbar.

1. Das gelöste Salz wird als Ganzes adsorbiert. In diesem Falle würde es sich um eine besondere Form der apolaren Adsorption handeln. Ein solcher Fall ist noch nicht beobachtet worden.

2. (Zweiter Fall der)

„Austauschadsorption“.

Beispiel: Calciumsilikat + Methylenblauchlorid = Methylenblausilikat + CaCl<sub>2</sub>.

### Experimenteller Teil,

I. Vergleich des Adsorptionsvermögens von Kohle und Kaolin gegenüber Methylenblau. a) 40 ccm <sup>m</sup>/<sub>400</sub>-Methylenblaulösung mit 0,2 g Kohle geschüttelt. Das Filtrat ist nahezu völlig entfärbt. Eine ebensolche Lösung mit 0,1 g Kohle geschüttelt: Filtrat an Farbstoff stark verarmt, aber noch dunkelblau. Eine ebensolche Lösung mit 2,5 g Kaolin geschüttelt, die Filtration wird fortgesetzt, bis der Farbstoffgehalt des Filtrats konstant bleibt: Die Färbung des Filtrats steht in der Mitte zwischen der mit 0,1 und der mit 0,2 g Kohle. Also adsorbieren 2,5 g Kaolin ungefähr ebenso stark wie 0,15 g Kohle, oder 1 g Kohle entsprechen rund 17 g Kaolin. — b) Gegenüber 50 ccm einer <sup>m</sup>/<sub>800</sub>-Methylenblaulösung wirken 0,80 g Kaolin schwächer als 0,080 g Kohle, aber stärker als 0,061 g Kohle. Es dürften etwa 0,07 g Kohle und 0,8 g Kaolin gleichwertig sein, oder 1 g Kohle entspricht rund 12 g Kaolin.

Vergleich des Adsorptionsvermögens von Talk und Kohle gegen Methylenblau.

a) 50 ccm <sup>m</sup>/<sub>800</sub>-Methylenblaulösung mit 5 g Talk geschüt-

---

<sup>1)</sup> van Bemmelen, Die Adsorption, Theod. Steinkopff, 1910. Die Richtigkeit der Beobachtungen können wir bestätigen. Bei der Farbstoffadsorption kommt ein solcher Fall nie vor.

telt: Filtrat noch hellblau. Eine ebensolche Lösung mit 0,08 g Kohle geschüttelt: Filtrat dunkler als vorher; mit 0,15 g Kohle geschüttelt: Filtrat viel heller als vorher. Also 1 g Kohle entspricht etwa 50 g Talk. — b)  $\frac{m}{1000}$ -Methylenblaulösung, 50 ccm. werden bis eben zur völligen Entfärbung des Filtrats mit Talk geschüttelt. Verbrauchte Menge Talk: 8,0 g. Dasselbe mit Kohle verbrauchte Menge Kohle 0,147 g. Also entspricht 1 g Kohle 55 g Talk.

II. Wassergehalt der Adsorbentien. Alle Adsorbentien enthalten adsorbiertes Wasser, das auf die zugefügte Lösung als Verdünnungsmittel wirkt. Um das Adsorptionsvermögen der Stoffe in keiner Weise zu ändern und dem Einwand zu begegnen, daß das Adsorptionsvermögen durch das Trocknen verhindert worden sei, zogen wir es vor, die nur lufttrockenen Präparate zu verwenden und ihren Wassergehalt durch Trocknen bei 105 bis 115° besonders zu bestimmen und dann in Rechnung zu setzen. Die hierdurch sich ergebende Korrektur der bisherigen Resultate ist nur gering. Der Wassergehalt der Präparate war folgender:

Tabelle  
über den Wassergehalt der Adsorbentien.

	%	%	%
Kohle (an drei verschiedenen Tagen . . . . .)	26,7	26,7	27,0
MnO <sub>2</sub> . . . . .	32,0	33,0	—
Eisenoxyd . . . . .	6,8	6,3	—
Talkum . . . . .	0	—	—
Osmosil . . . . .	7,0	—	—
Kaolin . . . . .	1,5	—	—
Amorphes Silicium . . . . .	1,1	—	—
Kieselguhr . . . . .	8,6	—	—

Die Trocknung geschah im Luftkasten bei 105 bis 115°, sie wurde bis zur praktischen Konstanz des Gewichts fortgesetzt. Die Zahlen geben den Gehalt des lufttrockenen Pulvers an adsorbiertem Wasser an.

Versuche mit Aceton.

Adsorbens	Volumen der Gesamtlösung.	Konzentration von Aceton vorher ausgedrückt in cc m. verbr. Jod- lsg. pro cc m. des Filtrats	Konzentrat. von Aceton im Filtrat	Nach dem Wassergehalt d. Adsorbens korrig. Wert	Adsorbierte Menge Aceton in % der ursprünglichen Menge	
g	ccm			%		
Talkum . . . . .	15,0	100	7,20 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	7,13 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	7,13	1,0
Osmosil . . . . .	10,0	100	7,20 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	6,68 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	6,72	6,7
Kaolin . . . . .	10,0	100	5,31 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	5,26 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	5,26	0,9
" . . . . .	10,0	100	0,550 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,554 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,554	- 0,8
" . . . . .	10,0	100	6,95 <sup>a</sup> / <sub>10</sub>	6,85 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	6,96	0
" . . . . .	10,0	100	7,97 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	7,55 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	7,68	3,5
" . . . . .	10,0	100	0,814 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,805 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,818	- 0,5
Eisenoxyd . . . . .	25,0	100	6,95 <sup>a</sup> / <sub>10</sub>	6,70 <sup>a</sup> / <sub>10</sub>	6,77	1,0
" . . . . .	25,0	100	7,97 <sup>a</sup> / <sub>10</sub>	7,52 <sup>a</sup> / <sub>10</sub>	7,63	4,2
" . . . . .	25,0	100	0,814 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,802 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,815	- 0,3
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	10,0	100	8,70 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	8,40 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	—	3,5
" . . . . .	10,0	100	0,890 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	0,890 <sup>a</sup> / <sub>100</sub>	—	0

Versuche mit Tributyrin.

(Ausgangslösung: 1 Teil gesättigte wäßrige Tributyrinlösung + 1 Teil dest. Wasser.)

Adsorbens	Volumen d. Gesamtlösung	Tropfenzahl		Adsorbiert in d. ursprüngl. Menge	Korrigierter Wert mit Berücksichtigung des Wassergeh. d. Adsorbens	
		vor	nach			
g	ccm	der Adsorption		% <sup>a)</sup>	%	
Talkum . . . . .	10,0	50	129	99,8	85	85
Kaolin . . . . .	5,0	25	129	119,7	30	30
Osmosil . . . . .	10,0	100	129	116,6	37	37
Eisenoxyd . . . . .	10,0	25	129	123,7	11	8 <sup>1)</sup>
MnO <sub>2</sub> . . . . .	3,0	10	129	124,0	11	annähernd 0
Silicium amorph. . . . .	5,0	30	129	125,0	10	10
Blut-Kohle . . . . .	0,0217	100	130	100,5	84	84

<sup>1)</sup> Da wir bei dem gleich zu beschreibenden Dialyseversuch mit kolloidem Eisenhydroxyd absolut keine Adsorption für Heptylalkohol und sogar Octylalkohol fanden, so erscheint uns möglich, daß die hier beobachtete Adsorption des Tributyrin von nur 8% auf Versuchsfehler zu beziehen ist. Mit Sicherheit können wir es nicht sagen, da ein entsprechender Dialysierversuch mit kolloidalem Eisenhydroxyd sich nicht durchführen läßt; das Tributyrin wird bei dem dabei notwendigen mehr-tägigen Stehen verseift. Es ist wahrscheinlich, daß die beobachteten 8% Verlust durch Verseifung zustande kommen und nicht durch Adsorption. Die gleichen Bedenken bestehen bei Kaolin, das Octylalkohol absolut nicht adsorbiert.

<sup>2)</sup> Diese Bestimmung erfolgte auf Grund vorangegangener Eichung des Stalagmometers für verschiedene Verdünnungen der Ausgangslösung.

## Versuche mit Heptylalkohol.

(1 Teil gesättigte wäßrige Heptylalkohol-Lösung + 1,80 Teile dest. Wasser.)

Adsorbens g	Volumen d. Gesamt- lösung ccm	Tropfenzahl		Adsor- biert in d. ursprüngl. Menge %	Korrigierter Wert mit Berücksich- tigung des Wassergeh. d. Adsorbens %
		vor	nach		
Talkum . . . . . 10,0	50	131,5	119,0	30	30
Kaolin . . . . . 5,0	25	131,5	130,6	3	3
Kieselguhr . . . . . 10,0	100	137,0	134,0	9	8,2
Osmosil . . . . . 10,0	100	131,5	127,8	10	10
Eisenoxyd . . . . . 10,0	25	131,5	130,5	0	0
MnO <sub>2</sub> . . . . . 3,0	10	131,5	129,0	7	0
Silicium amorph. . . . . 5,0	30	131,5	130,3	0	0
Blutkohle . . . . . 0,025	100	130,0	115,0	43	43
" . . . . . 0,0136	100	130,0	123,5	24	24
" . . . . . 0,0063	100	130,0	127,5	10	10
Retortenkohle <sup>1)</sup> . . . . . 1,0	100	137,0	133,0	12	12
" . . . . . 3,0	100	137,0	126,0	30	30

Eine Adsorption von 10% wird hervorgebracht durch etwa

0,01 g Blutkohle > 10 g Kieselguhr  
 0,9 g Retortenkohle 10 g Osmosil.  
 3 g Talk

Eine Adsorption von 30% durch

0,02 g Blutkohle  
 3 g Retortenkohle  
 10 g Talk.

## Versuche mit sekundärem Octylalkohol.

(Gesättigte wäßrige Lösung 5fach mit dest. Wasser verdünnt.)

Adsorbens g	Volumen d. Gesamt- lösung ccm	Tropfenzahl		Adsorbiert in der ursprüngl. Menge <sup>2)</sup> %
		vor	nach	
Talkum . . . . . 10,0	50	137	118	50
Kaolin . . . . . 10,0	30	137	136,5	0
Kieselguhr . . . . . 10,0	100	137	136,5	0
Osmosil . . . . . 10,0	100	137	133	13
CaCO <sub>3</sub> (gef.) . . . . . 10,0	50	137	138	0
BaSO <sub>4</sub> . . . . . 10,0	25	137	138	0
Kalomel . . . . . 10,0	25	137	138	0
Schwefel <sup>3)</sup> . . . . . 10,0	50	137	129	20
Schwefel <sup>4)</sup> . . . . . 10,0	50	137	135	0
Silicium (amorph.) . . . . . 5,0	30	137	136	0
Blutkohle (Merck) . . . . . 0,0248	100	137	126	30

<sup>1)</sup> Zerstoßener Bogenlampenstift.<sup>2)</sup> Die Berücksichtigung des Feuchtigkeitsgehaltes des Adsorbens hat keinen außerhalb der Fehlerquellen fallenden Einfluß auf diese Zahlen.<sup>3)</sup> Sulf. praecipitat. (löslich in Schwefelkohlenstoff).<sup>4)</sup> Floressulfuris (nur zum geringen Teil löslich in Schwefelkohlenstoff).

**Versuche mit normalem Octylalkohol.**  
(Halbgesättigte wäßrige Lösung.)

Adsorbens	g	Volumen d. Gesamt- lösung %	Tropfenzahl		Adsorbiert von der ursprüngl. Menge <sup>1)</sup> %
			vor	nach	
Talk . . . . .	10,0	50	139	109	55
Kaolin . . . . .	10,0	30	124	124	0
Kieselguhr . . . . .	10,0	100	137	132	10
Osmosil . . . . .	10,0	100	137	126	20
Kalomel . . . . .	10,0	25	139	139	0
Bismut. subnitr. . . . .	10,0	25	139	139	0
Schwefel (gefällt) . . . . .	10,0	30	137	108	60
„ (Flores) . . . . .	10,0	30	137	127	20
Calciumcarbonat . . . . .	10,0	50	137	136	0
„ phosphat . . . . .	10,0	100	137	136	0
BaSO <sub>4</sub> . . . . .	10,0	25	138	137	0
Silicium . . . . .	5,0	30	137	131	10
Kohle (Merck) . . . . .	0,0237	100	137	110	50

**Der Dialyseversuch.**

In ein kleines, nach oben leicht konisch verjüngtes Becherglas werden 25 ccm 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>ige kolloidale Eisenhydroxydlösung (Liquor ferri oxychlorati dialysati duplex Kahlbaum) eingefüllt. In eine Dialysierhülse von Schleicher und Schüll werden 5 ccm einer gesättigten Lösung von Heptylalkohol eingefüllt und die Dialysierhülse dann in die Eisenlösung eingesenkt. Das Becherglas wird mit einem paraffinierten Korken luftdicht verschlossen. Ein zweiter Versuch wird genau ebenso, nur mit dest. Wasser statt Eisenlösung angesetzt. Nach 2- bis 3 tägigem Stehen im Zimmer wird der Inhalt der Dialysierhülse stalagmometrisch untersucht. Die Tropfpipette gab bei reinem Wasser 85 Tropfen.

Vers. I	Tropfenzahl nach 2 Tagen	Im Fe-Versuch	Im Kontrollversuch
„ II	„ „ 3 „	116	116
		113	112,5

Durch besonderen Eichungsversuch wird folgendes ermittelt. Eine Heptylalkohollösung mit einer anfänglichen Tropfenzahl von 116<sup>2)</sup> hat nach Verdünnung mit Wasser im Betrag von 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ihres Volumens die Tropfenzahl 114; nach

<sup>1)</sup> s. Anmerkung <sup>2)</sup> auf der vorigen Seite.

<sup>2)</sup> d. i. eine etwa 6fach verdünnte gesättigte Lösung.



Verdünnung mit 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub> die Tropfenzahl 111. Es sind also aus einer Lösung von 30 ccm einer <sup>1</sup>/<sub>6</sub> gesättigten Heptylalkohollösung durch 2,5 g (trocken berechnetes) Eisenoxyd keine nachweisbaren Mengen Heptylalkohol adsorbiert worden; die Genauigkeit der Bestimmung ist derart, daß eine Adsorption von nur 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> der Gesamtmenge des Heptylalkohols deutlich nachweisbar gewesen wäre.

Derselbe Versuch mit n-Octylalkohol. Anordnung des Versuches wie beim Heptylkohol.

	Im Fe-Versuch	Im Kontrollversuch mit Wasser
Vers. I Tropfenzahl nach 3 Tagen	116	116
" II " " 3 "	116	116

Dialysierversuch mit kolloidalem Arsensulfid und n-Octylalkohol.

(Gesättigte wäßrige Lösung von arseniger Säure, mit H<sub>2</sub>S-Gas gesättigt, das überschüssige SH<sub>2</sub> durch H<sub>2</sub>-Durchleiten entfernt.)

	Im Versuch mit As <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	Im Kontrollversuch mit Wasser
Tropfenzahl nach 2 Tagen	106	106

Ein entsprechender Versuch mit Kohle, um die Methode zu prüfen: Außenflüssigkeit 25 ccm Wasser + 1 g Kohle; Innenflüssigkeit n-Octylalkohollösung.

Wasserwert der Tropfpipette: 98 Tropfen.

	Im Versuch mit Kohle	Im Kontrollversuch mit Wasser ohne Kohle
Tropfenzahl nach 3 Tagen	98	116

### Zusammenfassung.

Die Adsorption der höheren Alkohole in wäßriger Lösung läßt sich bis zum n-Octylalkohol durch stalagmometrische Analyse bestimmen. Adsorptionsvermögen zeigen Kohle, in weitem Abstand Talk und Schwefel, während keines der anderen untersuchten Adsorbentien ein sicher nachweisbares Adsorptionsvermögen besitzt; allenfalls in zweifelhafter Spur Osmosil und Kieselguhr, die zahlreichen anderen gar nicht, nicht

einmal in feinsten Verteilung als kolloidale Lösung [ $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $\text{As}_2\text{S}_3$ ].

Soweit sich feststellen läßt, setzt sich der Umfang der Adsorption additiv aus dem spezifischen Adsorptionsvermögen des Adsorbens und der spezifischen Adsorbierbarkeit des Adsorbendum zusammen; die Gesamterscheinung dieser Form der Adsorption ist also unspezifisch.

Es wird ein System der Adsorptionsercheinungen aufgestellt, in dem die hier beschriebene Form der Adsorption als „apolare“ Adsorption eingereiht wird.

# Die Änderung der diastatischen Wirksamkeit der Froschleber durch starke Durchspülung mit Ringerlösung.

Von

G. Kerner und E. J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 22. November 1919.)

Der eine von uns<sup>1)</sup> hat früher auf Grund von Zerkleinerungsversuchen die Anschauung entwickelt, daß ebenso wie in der Eizelle des Frosches, auch in der Leberzelle eine räumliche Trennung von Glykogen und Diastase nachweisbar sei. Dem ist von Bang<sup>2)</sup> widersprochen worden. Wir haben daraufhin neue Versuche angestellt, die infolge unserer Tätigkeit im Heeresdienste erst jetzt zur Veröffentlichung kommen.

Die Streitfrage, um die es sich zwischen Bang und uns handelt, war die folgende:

Wenn man bluthaltige Froschlebern mechanisch zerkleinert, so nimmt die Hydrolyse des Glykogens sehr stark zu. Spült man vor der Zerkleinerung die Leber mit Ringerlösung blutfrei, so tritt diese Vermehrung der Glykogenhydrolyse, wie Bang angibt, nicht mehr ein. Es kann daher diese Versuchsanordnung nicht dazu dienen, die von uns behauptete räumliche Trennung von Glykogen und Diastase in der Leberzelle des Frosches zu beweisen. Zwei Versuche, in denen der eine von uns (trotz Ausspülung der Blutdiastase aus der Leber) durch Zerkleinerung vermehrte Glykogenhydrolyse erhalten hatte, sind von Bang zurückgewiesen worden, mit der Bemerkung, daß die Ausspülung der Blutdiastase nicht gründlich genug gewesen sei. Die Zuckerbildung in der intakten herausgeschnittenen Froschleber ist nach Bang völlig unabhängig von der Blutdiastase. In ausgespülten und nicht ausgespülten Leberlappen ist die Zuckerbildung bei Bangs Versuchsanordnung gleichgroß<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 52, 471, 1913.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 56, 153, 193.

<sup>3)</sup> Bang, diese Zeitschr. 49, 61.

Bei dieser Sachlage konnte eine weitere Aufklärung nur durch neue Versuche erwartet werden, die wir in den ersten Monaten des Jahres 1914 angestellt haben. In diesen Versuchen sollten 2 Fragen untersucht werden: 1. die Frage, ob sich die diastatische Wirksamkeit der Froschleber durch Ausspülung ändert, und 2. die Frage, ob die diastatische Wirksamkeit der ausgespülten Leber durch Störung der Zellstruktur erhöht wird.

I.

Bei den früheren Versuchen wurde in jedem Versuch eine größere Anzahl von Leberlappen auf einmal untersucht. Da die Lebern vor dem Versuch gründlich ausgespült werden sollten, konnte jetzt zu jedem Versuche immer nur eine Leber benutzt werden. Man mußte daher zunächst die verschiedenen Lappen einer einzigen Froschleber ohne jede weitere Beeinflussung auf ihren Glykogengehalt vergleichen. Das Ergebnis von 13 derartigen Versuchen zeigt die Tabelle I.

Tabelle I.

Datum	Schwererer Seitenlappen		Leichterer Seitenlappen		Mittellappen		Differenz des Maximalglykogengehaltes	
	Ge- wicht	Gly- kogen	Ge- wicht	Gly- kogen	Ge- wicht	Gly- kogen	Seiten- lappen	Seiten- u. d. Mitt- lappens
	g	%	g	%	g	%	%	%
16. X. 1913	1,09	5,83	1,01	5,92	—	—	1,5	—
4. I. 1914	0,92	9,67	0,80	10,28	0,52	10,15	5,9	1,7
6.	0,62	11,23	0,32	12,37	0,46	7,97	9,1	33,7
4.	1,00	8,58	0,90	8,22	0,58	8,80	4,2	4,5
9.	0,75	5,36	0,50	5,55	0,33	5,99	3,4	9,1
13.	0,49	5,73	0,47	5,82	0,28	6,73	1,5	14,3
14.	1,46	12,82	0,97	12,36	0,45	12,30	3,6	2,3
16.	1,13	12,63	—	—	0,56	13,09	—	3,5
19.	0,54	8,33	0,51	8,29	0,41	9,42	0,5	11,8
20.	0,59	5,20	0,48	5,06	0,15	6,15	2,7	16,6
21.	0,92	14,42	0,67	14,60	0,51	15,12	1,2	4,4
26.	1,23	15,34	0,87	15,05	0,52	15,01	1,2	1,2
4. II.	0,41	5,95	0,34	5,34	0,23	7,63	10,2	24,7
Mittelwert ohne den Versuch vom 16. X. 1913 und 16. I. 1914:	—	9,33	—	9,36	—	9,57	0,3	2,3

Die Tabelle zeigt, daß die beiden Seitenlappen einer Leber im allgemeinen gut in ihrem Glykogengehalt übereinstimmen. Meist betragen die Differenzen unter 5% des Gesamtglykogengehaltes; nur 2mal sind sie größer und betragen 9 und 10%. Dagegen sind die Abweichungen der Seitenlappen von den Mittellappen bisweilen erheblich größer; 2mal betragen sie 24 und sogar 33%, 2mal 14 bis 17%, 2mal etwa 10%. Die übrigen 6 Versuche zeigten die gleiche Übereinstimmung wie die Seitenlappen. Die Mittelwerte aus 11 Versuchen, in denen alle 3 Leberlappen untersucht wurden, stimmen gut überein. Die größte Abweichung (Seitenlappen zu Mittellappen) beträgt 2,3%.

Spült man die Froschleber am lebenden Tiere aus, so ändert sich in bezug auf die Übereinstimmung der verschiedenen Leberlappen in ihrem Glykogengehalt nichts. Die Ausspülung wurde in folgender Weise bewirkt: Das eisgekühlte Tier wurde auf dem Rücken liegend aufgebunden, eine Kanüle in die Bauchvene leberwärts eingebunden und mit eisgekühlter Ringerlösung so durchspült, daß die Spülfüssigkeit nach Passieren des ganzen Tieres wieder aus der durchschnittenen Bauchvene austrat. Durchspült wurde mit 200 bis 300 cem Ringerlösung; die Durchspülung dauerte etwa 1 Stunde. 5 in dieser Weise ausgespülte Leberlappen wurden ohne weitere Beeinflussung gleichzeitig analysiert. Die erhaltenen Werte gibt die Tabelle II.

Tabelle II.

Datum	Schwererer Seitenlappen		Leichterer Seitenlappen		Mittellappen		Differenz des Maximalglykogengehaltes	
	Ge- wicht g	Gly- kogen %	Ge- wicht g	Gly- kogen %	Ge- wicht g	Gly- kogen %	Seiten- lappen %	Seiten- u. d. Mitt- lappens %
2. I. 1914	1,39	14,00	1,31	15,04	0,74	15,93	6,6	9,0
2. II.	0,94	18,40	0,86	17,14	0,65	17,53	7,1	2,0
3.	0,70	—	0,61	15,55	0,44	15,71	—	1,2
5.	1,00	10,95	0,975	10,40	0,63	11,09	5,0	4,0
9.	0,875	17,26	0,85	17,32	0,34	17,07	0,5	1,5
Mittelwert ohne den Versuch vom 3. II. 1914:	—	15,05	—	14,98	—	15,405	0,5	2,3

Die Tabelle II zeigt bezüglich des Glykogengehaltes der verschiedenen Lappen der ausgespülten Froschleber das gleiche Verhalten wie die ungespülten Leberlappen. Die maximale Differenz ist 7 bis 9%, meist sind die Differenzen kleiner, unter 5%. Die Mittelwerte aus 4 Versuchen, in denen alle 3 Leberlappen untersucht wurden, stimmen bis auf 2,3% miteinander überein.

Nachdem auf diese Weise der Nachweis geliefert war, daß die Mittelwerte aus einer größeren Anzahl von Einzelversuchen eine genügende Übereinstimmung zeigen, wurde zwischen dem 10. II. und 24. III. die diastatische Wirksamkeit gespülter und ungespülter Lebern miteinander verglichen. Unter der diastatischen Wirksamkeit der Froschleber verstehen wir die Abnahme des Glykogens eines herausgeschnittenen Leberlappens, der in Ringerlösung bei 22° unter Sauerstoffdurchleitung 4 Stunden lang gehalten wird. Die Abnahme des Glykogens wird alsdann in Gramm auf 100 g Leber berechnet. Eine Übersicht über 11 derartige Bestimmungen der diastatischen Wirksamkeit gespülter und ungespülter Lebern gibt Tabelle III

Tabelle III.

Datum	Ungespülte Leber		Gespülte Leber	
	Glykogen- gehalt zu Beginn des Versuches %	Diastatische Wirksamkeit	Glykogen- gehalt zu Beginn des Versuches %	Diastatische Wirksamkeit
10. II. 1914	15,75	2,21	14,36	1,79
13.	14,94	2,97	15,64	0,81
17.	6,51	2,98!	0,35	0,10!
19.	6,48	1,95	8,20	2,62
27.	11,68	2,19	13,17	2,37
4. III.	13,33	1,85!	6,67	1,02!
6.	14,45	2,86	12,11	0,54
10.	18,83	8,14!	16,84	1,75!
13.	10,71	1,67	9,83	1,40
20.	5,75	0,85!	13,93	3,77!
24.	7,70	3,38!	2,56	0,98!
Mittelwert:	11,47	2,82	10,33	1,56
Mittelwert ohne die mit versehenen Versuche:	12,37	2,31	12,24	1,59

Obwohl für die Versuche mit gespülter und ungespülter Leber stets nur Esculenten gleichen Geschlechts und gleicher Vorbehandlung (Aufbewahrungsort, Gefangenschaftsdauer) verwendet wurden und beide Versuche stets am gleichen Tage vorgenommen worden, weicht doch in 4 von 11 Versuchen der Glykogengehalt der beiden Lebern vor Anstellung des Versuches erheblich voneinander ab. Die Mittelwerte aus allen 11 Versuchen ergeben für die ungespülte Leber einen Anfangswert von 11,47% Glykogen und eine diastatische Wirksamkeit von 2,82 g. Während die gleichen Werte bei den gespülten Lebern 10,33% Glykogen am Anfang und eine diastatische Wirksamkeit von 1,56 g ergeben. Bilden wir die Mittelwerte unter Fortlassung der in der Tabelle mit einem ! versehenen Versuche, also aus nur 6 Versuchen, so erhalten wir für die ungespülte Leber einen mittleren Glykogengehalt von 12,37% und eine diastatische Wirksamkeit von 2,31 g. Während wir bei den gespülten Lebern einen Anfangsgehalt von 12,24% und eine diastatische Wirksamkeit von 1,59 g finden. Die mit einem ! versehenen Versuche sind solche, bei denen die Glykogenwerte in der gespülten und ungespülten Leber zu Beginn des Versuches stark differieren und außerdem der Versuch vom 10. III., bei dem in der ungespülten Leber ein abnorm hoher Wert für die diastatische Wirksamkeit gefunden wurde.

In beiden Fällen, wie auch die Mittelwerte gezogen werden, ist das Ergebnis das gleiche. Die Ausspülung des Blutes aus der Leber beim lebenden Tier bewirkt eine sehr erhebliche Herabsetzung der diastatischen Wirksamkeit der herausgeschnittenen Leber, auf etwa  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{2}{3}$  des Wertes der ungespülten Leber. Dieser Befund widerspricht vollständig den von Bang gemachten Angaben, denn bei Bang sollte die gespülte und die ungespülte Leber die gleiche Zuckermenge bilden. Dieser Widerspruch hängt nicht damit zusammen, daß Bang den gebildeten Traubenzucker (genauer: reduzierende Substanz) und wir das verschwundene Glykogen bestimmt haben. Diese beiden Größen gehen einander, wie besondere noch nicht veröffentlichte Versuche ergeben haben, parallel, wenn sie auch nicht einander gleich sind. Die Ursache liegt vielmehr darin, daß die Versuche Bangs nicht richtig angeordnet waren. Bang bestimmt den Leberzucker am Ende des Ver-

suches, ohne sich darum zu bekümmern, welcher Teil von diesem bereits am Anfange des Versuches vorhanden war und welcher Teil während der Aufbewahrung in Ringerlösung neu gebildet wurde. Er spült nun nicht wie wir die ganze Leber blutfrei, sondern nur einen Leberlappen. Aus diesem spült er nicht nur das Blut, sondern auch den zu Beginn des Fermentversuches bereits vorhandenen Zucker heraus, der nach seinen Angaben bis  $5\frac{0}{100}$  betragen kann. Er berücksichtigt dabei gar nicht, daß in den Versuchen mit ungespülter Leber, sehr viel früher als in den gespülten Lebern, eine Hemmung durch die Produkte der Hydrolyse eintreten muß, sondern er vergleicht die Zuckerbildung eines blut- und zuckerhaltigen Leberlappens mit der Zuckerbildung eines blut- und zuckerfreien Leberlappens. Nach 7 bis 10 Stunden findet er dann in beiden ungefähr gleiche Zuckermengen enthalten. Im ganzen wird also in seinen Versuchen von den ausgespülten Lebern mehr Traubenzucker gebildet, als von den nicht ausgespülten; und zwar um einen unbekanntem Betrag mehr, nämlich um den Gehalt des ungespülten Leberlappens an präformiertem Zucker. In unseren Versuchen findet sich das Gegenteil. Bei Bang beginnt aber die Zuckerbildung des bluthaltigen Leberlappens mit dem Tode des Tieres. Die Zuckerbildung des blutfreien Leberlappens beginnt später, erst nach beendeter Durchspülung, die Bang nach Herausnahme der Leber aus dem getöteten Tier ausführt. Auf die Dauer seiner Versuche legt Bang keinen besonderen Wert. Sie dauern 7 bis 10 Stunden. Alle diese Fehlerquellen sind in unseren Versuchen vermieden. Stets beginnt bei gespülten und ungespülten Lebern der Versuch, ohne daß merkliche Mengen der Produkte der Hydrolyse in der Leberzelle angehäuft sind. Bei gespülten und nicht gespülten Lebern beginnt ferner der Versuch ganz kurze Zeit nach Entnahme der Leber aus dem soeben getöteten Tier. Tiere und herausgeschnittene Organe sind ferner bis zum Beginn des Fermentversuches stets auf  $0^{\circ}$  abgekühlt. Der Moment, in dem der Fermentversuch beginnt und in dem er aufhört, sind genau bestimmt. Daher zeigt sich denn in unseren richtig angeordneten Versuchen, daß durch die Ausspülung der Leber die Hydrolyse sehr stark abnimmt. Die ausgespülte Leber enthält nur noch die Hälfte oder  $\frac{2}{3}$  der



nicht ausgespülten Leber an Diastase. Es wird nicht nur die Blutdiastase aus den Gefäßen ausgespült, sondern auch die Leberdiastase aus der Leberzelle. Diese Annahme ist die einfachste Erklärung der Tatsache, daß die diastatische Wirksamkeit der ausgespülten Leber so erheblich kleiner ist, als die der bluthaltigen. Man könnte nun daran denken, daß in der herausgeschnittenen Leber die Blutdiastase in die Leberzelle eindringt, was beim lebenden Tiere nicht der Fall wäre. Diese Annahme würde voraussetzen, daß im Augenblicke der Herausnahme der Leber aus dem Tiere die Durchlässigkeit der Zellwand für Diastase sich verändert. Im Leben fließt nämlich das Blut mit seinem großen Diastasegehalt dauernd an der Leberzelle vorbei. Soviel Blutdiastase, als bei gegebenen Membranverhältnissen in die Leberzelle eindringen kann, muß also in der Leberzelle bereits enthalten sein. Fröhlich und Pollak haben aber gezeigt, daß die Durchspülung der herausgeschnittenen Leber mit Speicheldiastase keinen Einfluß auf die Zuckerbildung der Froschleber hat. Das gleiche gilt, wie der eine von uns gefunden hat, auch für Pankreasdiastase. Dabei enthielt die Durchströmungsflüssigkeit eine 5mal so große Menge an Diastase als das gleichzeitig untersuchte Blutserum des betreffenden Tieres. Nun hat aber Wohlgemuth<sup>1)</sup> gezeigt, daß beim Warmblüter die Pankreasdiastase nach Unterbindung der Ausführungsgänge des Pankreas ins Blut übergeht, in die Leber eindringt und sie glykogenfrei macht. In diesem Falle erreicht aber die Blutdiastase, wie Wohlgemuth gezeigt hat, den 70- bis 100fachen Wert des normalen Diastasegehaltes des Blutes. Bei der herausgeschnittenen, künstlich durchströmten Froschleber findet aber ein Übertritt von Diastase in die Leber selbst dann nicht statt, wenn die Spülflüssigkeit 5mal mehr Diastase enthält als das Blut des Tieres. Ein leichteres Eindringen der Blutdiastase in die Leberzelle nach Herausnahme der Leber aus dem Tiere ist also nicht nachweisbar. Zum mindesten dringt die Diastase in diesem Falle in der Leberzelle nicht bis zum Glykogen vor.

Als einfachste Erklärung der Tatsache, daß die diastatische

<sup>1)</sup> Wohlgemuth, Berl. klin. Wochenschr. 50, 339. — Wohlgemuth u. Fukushi, Virchows Archiv 218, 249.

Wirksamkeit durch forcierte Ausspülung stark abnimmt, bleibt daher nur die Annahme, daß hierbei Leberdiastase aus der Zelle herausgewaschen wird. Die Richtigkeit dieser Annahme wird in den folgenden Abhandlungen dadurch gezeigt werden, daß in blutfreien Spülflüssigkeiten der „blutfreien“ Froschlebern stets Diastase nachgewiesen werden kann.

II.

Wir haben nun ferner bei gespülten und ungespülten Lebern den Einfluß der Strukturstörung der Zelle auf die diastatische Wirksamkeit untersucht. Zu diesem Zwecke wurden Seitenlappen miteinander verglichen, von denen der eine 4 Stunden in Ringerlösung, der andere gleichzeitig bei gleicher Temperatur in destilliertem Wasser gehalten wurde. In einigen Versuchen wurden auch die Leberlappen, die in das destillierte Wasser verbracht werden sollten, vorher mehrfach im Eiskochsalzgemisch gefroren und schnell wieder zum Auftauen gebracht. Eine Übersicht über diese Versuche zeigt die Tabelle.

Tabelle IV.

Datum	Ungespülte Leber		Gespülte Leber	
	Diastatische Wirksamkeit der		Diastatische Wirksamkeit der	
	Ringer-Leber	dest. Wasserleber	Ringer-Leber	dest. Wasserleber
10. II. 1914	2,21	3,50	1,79	1,19
13.	2,97	3,14	0,81	1,41
17.	2,98	2,70	—	—
19	1,95	3,00	2,62	2,25
27.	2,19	3,17	2,36	0,93
4. III.	1,85	0,99	1,02	1,02
6.	2,86	3,06	0,54	1,12
10.	8,14	8,18	1,75	2,75
13.	1,67	6,06	1,40	1,82
20.	0,85	2,20	3,77	3,92
29.	3,38	3,45	—	—
Mittelwert:	2,82	3,61	1,78	1,8

Das Ergebnis bei den ungespülten Lebern ist eine starke Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit durch Strukturstörung. Bei 5 von 11 Lebern ist im destillierten Wasser die diastatische Wirksamkeit ganz erheblich gesteigert. In 5 Lebern

ist die diastatische Wirksamkeit in beiden Lappen nicht wesentlich verschieden. Einmal ist die diastatische Wirksamkeit im Lappen im destillierten Wasser deutlich geringer. Bei den gespülten Lebern ist bei 4 unter 9 Lebern eine Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit durch Einbringen in destilliertes Wasser zu ersehen. In 4 weiteren Fällen ist die diastatische Wirksamkeit in der Ringerlösung und in destilliertem Wasser nicht außerhalb der Fehlergrenzen verschieden. In einem Falle ist die diastatische Wirksamkeit im destillierten Wasser deutlich kleiner als in Ringerlösung. Die Mittelwerte ergeben für die ausgespülten destillierten Wasserlebern eine Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit um 0,08 oder 5% der diastatischen Wirksamkeit in Ringerlösung. Für die ungespülten Lebern dagegen eine Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit durch Einbringen in destilliertes Wasser um 0,79 oder 28% der diastatischen Wirksamkeit in Ringerlösung<sup>1)</sup>. Eine deutliche Zunahme der diastatischen Wirksamkeit durch Strukturlösung ist demnach bei gespülten Lebern nicht festzustellen. Eine geringe Zunahme ist aber nach dem vorliegenden Material auch nicht auszuschließen. Bang ist mithin im Recht, wenn er die quantitative Differenz hervorhebt, die zwischen der Eizelle des Frosches und der gespülten Leber bezüglich der Wirkung der Strukturzerstörung auf die Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit besteht. Diese Differenz kommt dadurch zustande, daß in der Eizelle des Frosches eine vollständige Trennung der Diastase und des Glykogens voneinander besteht. Ferner dadurch, daß bei Spülung des Ovariums Diastase aus der Eizelle nicht herausgeht, während bei Ausspülung der Leber die Hälfte bis ein Drittel der in ihr enthaltenen Diastase in die Spülflüssigkeit übergeht. An der Eizelle kann die räumliche Trennung von Ferment und Substrat durch Strukturzerstörung oder Einbringen in destilliertes Wasser erwiesen werden. An der Leberzelle ist dies mit der gleichen

---

<sup>1)</sup> Dieses Resultat ist in einem zusammenfassenden Referat in den Ergebnissen f. inn. Medizin und Kinderheilkunde 16, 287 bereits mitgeteilt. Die dort angegebenen Zahlen für die gespülten Lebern haben sich bei erneuter Durchsicht der Versuchsprotokolle als nicht völlig zutreffend erwiesen. Zur Zeit der Abfassung des Artikels für die Ergebnisse war mir mein Versuchsmaterial nicht vollständig zugänglich.

Versuchsordnung nicht möglich. Spült man die Leber nur leicht aus, so kann die vermehrte Hydrolyse, die man nach Strukturzerstörung erhält, auf zurückgebliebenes Blutferment bezogen werden. Spült man so lange aus, bis man sicher sein kann, den größten Teil des Blutes wirklich entfernt zu haben, so spült man auch gleichzeitig einen beträchtlichen Teil der Leberdiastase heraus. Damit wird aber die Wirkung der Strukturzerstörung aufgehoben, denn nur dann muß die Strukturzerstörung die Hydrolyse befördern, wenn in der Zelle eine vollständige Trennung von Ferment und Substrat stattfindet, wie dies in der Eizelle der Fall ist. Kommt ein Teil des Fermentes stets mit dem Substrat in Berührung, wie dies in der herausgeschnittenen Leber der Fall ist, so wirkt die Strukturzerstörung nur dann fördernd auf die Hydrolyse, wenn das Ferment im Überschuß über das Substrat vorhanden ist, so daß vor der Strukturzerstörung nur ein Teil des Fermentes mit dem Substrat reagieren konnte. Dieser Fermentüberschuß geht durch die Ausspülung infolge Austretens von Diastase aus der Leberzelle verloren.

Das Ergebnis der Versuche ist kurz zusammengefaßt das folgende:

1. Durch energische Ausspülung der Froschleber wird ihre diastatische Wirksamkeit auf die Hälfte bis zwei Drittel herabgedrückt.

2. Nach Ausspülung der Leber ist durch Störung der Zellstruktur eine deutliche Vergrößerung der diastatischen Wirksamkeit nicht mehr zu erzielen.

3. Die Hypothese der räumlichen Trennung von Glykogen und Diastase in der Leberzelle wird durch diese Befunde nur insofern beeinflußt, als neue Beweise für die Richtigkeit dieser Hypothese für die Leberzelle gesucht werden müssen.

# Die Zuckerabgabe der Froschleber bei kontinuierlicher Durchströmung mit Ringerlösung.

Von  
E. J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 22. November 1919.)

Mit 6 Figuren im Text.

A. Fröhlich und L. Pollack haben eine ebenso schöne wie einfach auszuführende Methode zur Untersuchung der Zuckerbildung der herausgeschnittenen Froschleber bei kontinuierlicher Durchströmung mit Ringerlösung angegeben<sup>1)</sup>.

Sie machen dabei über das Verhalten der Froschleber unter diesen Bedingungen folgende Angaben: In den Monaten November bis Mitte März gibt die Froschleber während der ersten halben Stunde der Durchströmung immer Zucker an die durchströmende Ringerlösung ab. Nach 30 Minuten langer Durchströmung hört diese Zuckerabgabe völlig auf, wenn die Durchströmung so rasch geschieht, daß in 5 Minuten 20 bis 30 ccm Ringerlösung durch die Leber geschickt werden. „Wird die Verlangsamung der Durchströmung so weit getrieben, daß in 5 Minuten nur 5 bis 10 ccm die Leber passieren, so scheiden manchmal (also nicht immer, L.) Lebern, die bei der gewöhnlich gewählten Durchströmungsgeschwindigkeit keinen Zucker abgeben, geringe Mengen Zucker aus (Absterbeerscheinung?).“

Diesen Befund der Wiener Forscher habe ich nicht bestätigen können, als ich die von ihnen mitgeteilte Methode an der Froschleber anwendete. Es ist mir weder im Frühjahr noch im Herbst noch im Winter gelungen, die Froschleber mit Ringerlösung zu durchspülen, ohne daß in der Ringerlösung

<sup>1)</sup> Centralbl. f. Physiol. 26, 1326. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 77, 265.

nach dem Austreten aus der Leber reduzierende Substanz nachweisbar gewesen wäre. Bezüglich der Tötungsart der Tiere und der Präparation der Lebergefäße habe ich mich nach den Angaben der Wiener Forscher gerichtet. Dagegen bin ich hinsichtlich der Versuchsdauer und der Methode der Zuckerbestimmung von ihnen abgewichen. Ich habe stets die während einer Stunde durchgeflossene Ringerlösung vereinigt und der Zuckerbestimmung unterworfen. Fröhlich und Pollack wählten sehr viel kürzere Perioden (5 Minuten) und drückten damit die zu findende Zuckermenge auf  $\frac{1}{13}$  der meinigen herab. Ferner habe ich die Durchströmungsflüssigkeit stets vor der Zuckerbestimmung mit Quecksilberacetat nach Neuberg<sup>1)</sup> gereinigt. Die Ringerlösung wurde zu diesem Zweck gemessen und mit Quecksilberacetat in Substanz versetzt. Nach 12stündigem Stehen wurde filtriert. Das klare Filtrat mit Schwefelwasserstoff entquecksilbert. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wurde durch Durchleiten von Luft vom Schwefelwasserstoff befreit, eine gemessene, möglichst große Menge des letzten Filtrates wurde eingengt und darin die reduzierende Substanz nach Bertrand in der Modifikation von Möckel und Frank bestimmt. Die in der zweiten Stunde abgegebenen Zuckermengen betragen für eine Leber zwischen 3 und 12 mg Traubenzucker; auf 5 Minuten umgerechnet ergeben sich daher nur 0,3 bis 1 mg, Mengen, die nicht mehr sicher bestimmbar sind; denn Fröhlich und Pollack geben an, daß sie jeder zu untersuchenden Lösung 100 mg Traubenzucker zugesetzt haben, um sicher gegen Substanzen zu sein, die den Ausfall des Kupferoxyduls stören können. Die von mir gefundenen Zuckerwerte betragen in 5 Minuten nur 0,3 bis 1% dieser Menge. Sie fallen also in die Fehlergrenzen der Bestimmungsmethoden. Ich habe sowohl mit als ohne Traubenzuckerzusatz zur Bertrandschen Kupferlösung gearbeitet, ohne daß in den Resultaten eine Differenz eingetreten wäre. Ich habe aber kleinere Traubenzuckermengen hinzugesetzt. Meist auf 20 ccm Kupferlösung 2 mg Traubenzucker. In allen Fällen aber habe ich der Reduktionsanalyse eine Reinigung der Durchströmungsflüssigkeit mit Quecksilberacetat vorausgehen lassen. Man muß in

---

<sup>1)</sup> Neuberg, diese Zeitschr. 24, 430, 1910; 43, 505, 1912.

diesem Falle natürlich durch gründliche Durchlüftung dafür sorgen, daß der Schwefelwasserstoff völlig vertrieben wird.

Durch besondere Kontrollversuche habe ich mich davon überzeugt, daß traubenzuckerfreie Ringerlösung mit Quecksilberacetat und Schwefelwasserstoff wie gewöhnlich behandelt, eingedampft usw. die Eigenreduktion der Bertrandschen Lösungen entweder nur ganz geringfügig oder gar nicht vermehrt. Diese Eigenreduktion der Bertrandschen Flüssigkeit wurde häufig bestimmt und stets von den erhaltenen Werten bei den Analysen abgezogen. Sie betrug zwischen 0,2 und 0,4 ccm Permanganatlösung. Es findet sich häufig in der Literatur die, durch Versuche nicht belegte, Behauptung, daß sich mit der Bertrandschen Methode Traubenzuckermengen unter 10 mg nicht bestimmen ließen. Diese Behauptung ist gänzlich unbegründet. Zum Beweise, daß die Methode in der Modifikation von Möckel und Frank sehr wohl geeignet ist, Mengen bis zu 1,5 mg zu bestimmen, dient folgender Versuch vom 28. XII. 18. Es wurden je 50 ccm nach Quecksilberacetatbehandlung analysiert und gefunden:

Lösung	I	50 ccm	enthalten	3,7 mg	Traubenzucker
"	II	50 "	"	1,65 "	"
"	III	50 "	"	1,75 "	"
"	IV	50 "	"	2,0 "	"
"	V	50 "	"	1,8 "	"

Von Lös. I werden 47 ccm entsprechend 3,5 mg Traubenzucker abgemessen

"	"	II	"	43 "	"	1,4 "	"	"
"	"	III	"	95 "	"	3,0 "	"	"
"	"	IV	"	82 "	"	3,3 "	"	"
"	"	V	"	84 "	"	3,0 "	"	"

und vereinigt, auf 50 ccm konzentriert und auf Zucker analysiert. Gefunden wurden 13,6 mg Traubenzucker, während die Berechnung auf Grund der Einzelanalysen 14,2 mg Traubenzucker ergibt.

Die Durchströmungsperioden habe ich, mit Ausnahme der ersten, immer genau 60 Minuten dauern lassen. Die erste Periode ist stets kürzer, weil hier die 60 Minuten nicht vom Beginn der Durchströmung, sondern vom Augenblick der Tötung des Tieres an gerechnet sind. Operation und Herrichtung der Leber dauerte meist zwischen 12 und 20 Minuten, so daß in der ersten Periode nur 40 bis 48 Minuten lang durchströmt wurde.

Bei dieser Versuchsanordnung erhält man nun stets reduzierende Substanz in den Durchströmungsflüssigkeiten. Die Menge derselben steht bei den von mir gewählten Durchströmungsgeschwindigkeiten von 50 bis 250 ccm Ringerlösung pro 1 g Leber und Stunde in keiner einfachen Beziehung zur durchgeströmten Menge, wie aus den folgenden Versuchen und Kurven hervorgeht.

Versuch vom 24. XII. 18.

R. escul. ♂ 60 g. Lebergewicht am Ende des Versuches 2,72 g.  
 Operationsdauer 25'. Temperatur der durchfließenden Lösung 18,5 bis 19,1°. Druck 11,5 bis 9,5 cm Wasser.

Periode I 35'		8,4 mg	durch-	} 336
" II 60'	Trauben-	7,6 "	geflossene	
" III 60'	zucker in der	7,7 "	Ringer-	
" IV 60'	durch-	8,4 "	lösung in ccm	
" V 60'	geflossenen	9,5 "	pro Periode	
" VI 60'	Ringerlösung	9,2 "		

Versuch vom 9. XII. 18.

R. fusca ♂. Lebergewicht 1,33 g. Temperatur 19,0 bis 20°.

Periode I 40'	7,1 mg Tz.	210 ccm	Ringerlösung
" II 60'	3,8 " "	208 " "	
" III 60'	2,6 " "	205 " "	
" IV 60'	3,4 " "	135 " "	

Versuch vom 16. XII. 18.

R. escul. ♂ 81 g. Lebergewicht 3,57 g. Temperatur 20 bis 22°.

Periode I 31'	8,8 mg Tz.	170 ccm	Ringerlösung
" II 60'	5,7 " "	256 " "	
" III 60'	5,5 " "	194 " "	
" IV 60'	— " "	240 " "	
" VI 60'	7,2 (?)	202 " "	
" VII 60'	5,3 " "	150 " "	

Versuch vom 28. XII. 18.

R. escul. ♂ 64 g. Lebergewicht 3,3 g. Temperatur 18,2 bis 18,8°  
 Druck 8,5 cm Wasser.

Periode I 9,3 mg Tz.	282 ccm	Ringerlösung
" II 5,7 " "	173 " "	
" III 5,6 " "	170 " "	
" IV 6,3 " "	190 " "	
" V 5,8 " "	176 " "	

Versuch vom 19. II. 19.

R. escul. ♂ 66 g. Lebergewicht 2,6 g. Temperatur 17,4 bis 17,8°.

Periode I 7,0 mg Tz.	188 ccm	Ringerlösung
" II 9,2 " "	209 " "	
" III 11,2 " "	200 " "	
" IV 11,7 " "	200 " "	



## Versuch vom 25. II. 18.

R. escul. (vorher auf Eis) 60 g. Lebergewicht 3,3 g. Temp. 20 bis 21°.

Periode I 11,6 mg Tz. 270 ccm Ringerlösung

"	II	7,5	"	"	338	"	"
"	III	5,3	"	"	317	"	"
"	IV	4,4	"	"	314	"	"
"	V	4,7	"	"	338	"	"
"	VI	2,8	"	"	305	"	"

## Versuch vom 26. II. 19.

R. escul. 25 g. Lebergewicht 0,92 g. Temperatur 16,2 bis 17,8°.

Druck 13 cm Wasser.

Periode I 4,5 mg Tz. 221 ccm Ringerlösung

"	II	3,0	"	"	202	"	"
"	III	3,6	"	"	192	"	"
"	IV	4,6	"	"	205	"	"
"	V	5,3	"	"	198	"	"
"	VI	5,4	"	"	198	"	"

Der zeitliche Verlauf der Abgabe von reduzierender Substanz, im folgenden kurz Zuckerkurve genannt, ist nicht in allen Versuchen gleichmäßig.

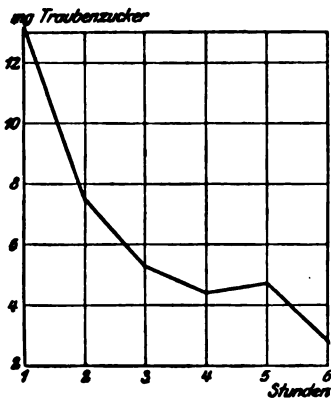


Fig. 1.

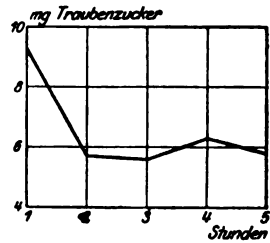


Fig. 2.

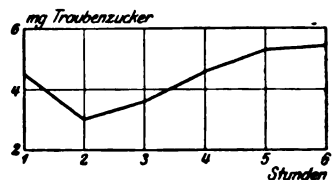


Fig. 3.

Es kommt vor, wie am 25. II. 18 (Fig. 1), daß die Zuckerkurve dauernd sinkt, aber auch bei 6ständiger Dauer nicht auf 0. Meist verläuft die Zuckerkurve wie am 2. XII. 18 (Fig. 2), wo sich in der zweiten Stunde ein erhebliches Absinken der Zuckerabgabe geltend macht, die dann stationär bleibt oder auch später wieder ansteigt (26. II. 19 [Fig. 3]). Endlich kommen aber auch Fälle vor, bei denen sich von der ersten bis zur vierten oder

sogar fünften Stunde ein langsames Steigen der Zuckerkurve geltend macht (19. II. 19, Fig. 4). Diese Fälle sind selten. In der Regel hat die Zuckerkurve in der ersten Stunde ihr Maximum, in der zweiten oder dritten Stunde ihr Minimum. Insofern also, als die Zuckerabgabe im Beginn der Durchströmung fast immer am größten ist und später ziemlich schnell absinkt, manchmal um nahezu 50% (27. XII., 28. XII. 18) befinde ich mich mit Fröhlich und Pollack in Übereinstimmung, wenn ich auch niemals ein Absinken der Zuckerabgabe auf 0 beobachten konnte.

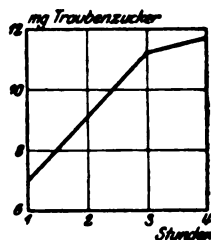


Fig. 4.

Als Grund für diese, in den meisten Fällen stattfindende Abnahme der Zuckerabgabe ist die Tatsache anzuführen, daß bei der sehr starken Perfusion der Leber dauernd Diastase aus der Leberzelle ausgewaschen wird, die sich in der wasserklaren Flüssigkeit, die vom Beginn der zweiten Stunde an bei der Leberdurchströmung abfließt, stets nachweisen läßt. (Über eine Reihe quantitativer Bestimmungen der Diastase in den Spülflüssigkeiten der Leber vergleiche man die nächstfolgende Abhandlung.)

Die von Fröhlich und Pollack gewählte Durchströmungsgeschwindigkeit erscheint nämlich sehr hoch, wenn man die Zahlen vergleicht, die Barcroft und Shore<sup>1)</sup> für die Perfusionsgeschwindigkeit der Katzenleber *intra vitam* anführen. Diese beträgt im Mittel pro Gramm Leber und Stunde 18 ccm. In den angeführten Versuchen, in denen ich absichtlich die gleiche Durchströmungsgeschwindigkeit wie Fröhlich und Pollack anwendete, beträgt die pro Gramm Leber und Stunde durchgeflossene Menge 50 bis 240 ccm, durchschnittlich etwa das 7 fache. Eine solche Durchströmungsgeschwindigkeit zu wählen, liegt kein Grund vor. Es wird in Zukunft richtiger sein, erheblich langsamer zu durchspülen. Ein Absterben der Leber ist dabei nicht zu befürchten. Zum mindesten kann ein solcher Vorgang nicht aus dem Sauerstoffverbrauch der Leber hergeleitet werden. Der höchste Wert, der für den Sauerstoffverbrauch der herausgeschnittenen Froschleber angegeben wird, beträgt pro Gramm und Stunde 0,3 ccm [Meyerhof<sup>2)</sup>], d. h. etwa ebensoviel als in 50 ccm Ringerlösung gelöst sind. Würde

<sup>1)</sup> Barcroft und Shore, Journ. of Physiol. 45, 296, 1912 bis 13.

<sup>2)</sup> Meyerhof, Arch. f. d. ges. Physiol. 175, 28, 1919.

man die Froschleber mit Sauerstoff-gesättigter Ringerlösung durchspülen, so würde schon mit 10 ccm Ringerlösung der Sauerstoffverbrauch pro Gramm Leber und Stunde gedeckt sein. Zudem ist von mir früher gezeigt worden, daß Anoxybiose in den Wintermonaten im herausgeschnittenen Organ die Glykogenhydrolyse nicht beschleunigt (was in Parnas und Wagners Versuchen bei 12,5° und 22 stündiger Versuchsdauer sich am Frostmuskel bestätigt findet). Außerdem dringt beim Fröhlich- und Pollackverfahren ja auch noch Sauerstoff durch die Leberoberfläche aus der Luft in die Leber ein. Es ist mithin kein Grund, so große Mengen zur Durchströmung der Froschleber zu benutzen, wie dies Fröhlich und Pollack tun. Diese starke Perfusion führt zu einer allmählichen Verringerung der Zuckerbildung, nicht weil sie ein „Absterben“ der Leber verhütet, sondern weil aus der Leber Diastase herausgewaschen wird. Ebenso wie das Ferment werden aber auch die Produkte der Fermentwirkung aus der Zelle herausgewaschen, und darin liegt wiederum ein die Zuckerbildung erheblich beschleunigendes Moment; so erhält man bei der Durchströmung der Froschleber mit großen Mengen Ringerlösung keine ganz einfachen Verhältnisse. Am ehesten untereinander vergleichbar ist dabei bei verschiedenen Lebern die anfängliche Zuckerbildung in den ersten beiden Stunden nach Tod des Tieres. Die Tötungsart spielt keine Rolle. Ich habe in einigen Versuchen, um den Einwand auszuschließen, daß die anfängliche Zuckerbildung auf eine Reizung des Zentralnervensystems bei der Tötung des Tieres zurückzuführen sei, die Leber aus dem lebenden eisgekühlten Tiere herausgenommen. Diese Versuche verliefen in genau derselben Weise wie diejenigen, bei denen das Tier vorher getötet war.

Besonders deutlich werden diese Verhältnisse, wenn man die bei kontinuierlicher Durchströmung gefundenen Werte an reduzierender Substanz mit den früher von mir gefundenen Werten für die Glykogenabnahme der nicht durchströmten Leber vergleicht. Im Mittel der 5 Dezemberversuche beträgt die Zuckerabgabe pro 100 g Leber 4 Stunden und 19° 996 mg Traubenzucker. Früher wurde für 4 Stunden und 22° im Dezember eine Glykogenabnahme bei der nicht gespülten Leber von nur 300 mg gefunden. Dabei ist noch zu berücksichtigen,

daß bei den durchströmten Lebern das Lebergewicht erst am Schlusse des Versuches festgestellt wird. Nach 4- bis 6 stündiger Durchströmung ist die Leber wasserreicher geworden und nimmt um 10 bis 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub> an Gewicht zu. Außerdem ist die reduzierende Substanz als Traubenzucker gerechnet. Wahrscheinlich besteht sie aber nur zu einem Teil aus Traubenzucker, zu einem anderen aus Produkten der Hydrolyse, die schwächer als Traubenzucker reduzieren. Es kann also kein Zweifel sein, daß durch die Durchströmung mit großen Mengen Ringerlösung die Hydrolyse des Glykogens gegenüber der nicht durchspülten Leber mächtig gefördert wird. Das geschieht, obwohl infolge der dauernden Durchspülung, absolut genommen, die Diastase in der Leberzelle abnimmt. Wir haben also zwei Einflüsse, die einander entgegenwirken. Im Dezember überwiegt die Förderung der Hydrolyse, die durch die dauernde Wegschaffung der hydrolytischen Produkte bewirkt wird, die Verminderung, die durch die Abnahme der Diastase in der Leberzelle verursacht wird. Dies geht auch aus Versuchen hervor, bei denen der Einfluß der völligen Unterbrechung der Durchströmung auf den Verlauf der Zuckerkurve untersucht wurde. Am 12. IV. 18 wurde am Beginn der fünften Stunde für 30 Minuten die Durchströmung vollständig unterbrochen und dann wieder in Gang gesetzt. Die Folge ist ein geringes Sinken der Zuckerkurve.

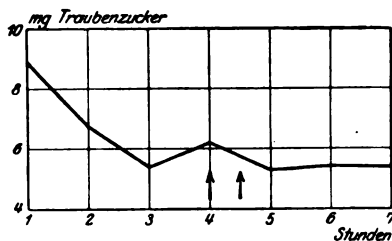


Fig. 5. Versuch vom 12. IV. 19. Zwischen beiden Pfeilen wurde die Durchströmung für 30' unterbrochen.

12. IV. 18, escul. ♂ 70 g. Lebergewicht 3,0 g. Am Beginn der fünften Periode wird die Durchströmung für genau 30 Minuten sistiert, dann unter gewöhnlichem Druck wieder begonnen (siehe Fig. 5).

Periode I	40'	8,9 mg Tz.	108 ccm	Ringerlösung
"	II 60'	6,7 " "	157 "	"
"	III 60'	5,4 " "	170 "	"
"	IV 60'	6,2 " "	174 "	"
"	V 60'	5,3 " "	104 "	"
"	VI 60'	5,4 " "	186 "	"

16. IV. 18, escul. ♂ 63 g, Lebergewicht 3,1 g. Temperatur 16,0 bis 17,0°. Am Beginn der sechsten Periode wird die Durchspülung für genau 30 Minuten unterbrochen. Nach Wiedereintritt der Durchspülung läuft die Flüssigkeit sofort ganz klar, ohne Beimengung von Blutkörperchen.

Periode I	40'	6,0 mg Tz.	98 ccm	Ringerlösung
"	II 60'	7,4 " "	150 "	"
"	III 60'	4,9 " "	149 "	"
"	IV 10'	3,3 " "	118 "	"
"	V 60'	4,4 " "	164 "	"
"	VI 60'	3,3 " "	90 "	"
"	VII 60'	3,7 " "	163 "	"
"	VIII 60'	3,7 " "	170 "	"

Am 7. II. 19 wurde ferner nach der ersten Periode (1 Stunde nach Tod des Tieres und nach 48 Minuten dauernder Durchströmung) die Durchspülung für 2 Stunden unterbrochen und dann wieder in Gang gesetzt. Die dann folgende Periode wurde in 2 Hälften zu je einer

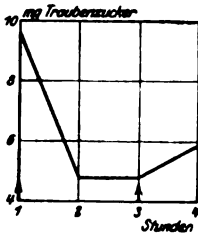


Fig. 6. Versuch vom 7. III. 19. Zwischen beiden Pfeilen der Durchströmung für zwei Stunden unterbrochen.

halben Stunde geteilt. Die Zuckermenge, die dann in der ersten halben Stunde nach Wiederbeginn der Durchspülung in der Ringerlösung gefunden wird, ist in den 2 Stunden, während der die Durchspülung sistiert wurde, und in der halben Stunde der erneuten Durchspülung gebildet worden. Berechnet man, unter der allerdings nicht zutreffenden Annahme einer dauernd gleichmäßigen Zuckerbildung, daraus die für Stundel gebildeten Werte, so sieht man, daß die Sistierung der Durchströmung die Zuckerbildung nicht etwa gesteigert, sondern im Gegenteil erheblich herabgesetzt hat. In der ersten Stunde der Durchspülung wurde 9,6 mg Traubenzucker abgegeben. Nach

2stündiger Pause und  $\frac{1}{2}$ stündiger erneuter Durchspülung werden 12,1 mg Traubenzucker ausgespült, d. h. pro Stunde (gleichbleibende Zuckerbildung dabei angenommen) 5 mg Traubenzucker. Mithin findet sich auch hier durch Sistierung der Durchströmung eine deutliche Herabsetzung der Zuckerbildung (siehe Fig. 6).

Da der Verlauf der Zuckerkurve von zwei einander entgegenwirkenden Faktoren bestimmt wird (Hemmung durch Ausspülung von Diastase, Beschleunigung durch Ausspülung der Produkte der Hydrolyse) wird es vielleicht möglich werden, eine Durchströmungsgeschwindigkeit zu finden, bei der das initiale Maximum abgeflacht wird und man für die ersten 4 bis 6 Stunden einen geradlinigen Verlauf der Zuckerkurve erhält. Eine Durchströmungsgeschwindigkeit zwischen 10 und 20 ccm pro Gramm Leber und Stunde unter dauernder Sättigung der Ringerlösung mit Sauerstoff wird vielleicht eine solche Wirkung haben. Versuche darüber sind zur Zeit im Gange.

Es ergibt sich demnach aus diesen Versuchen:

1. Es gelingt auch im Winter nicht, bei Durchströmung der Froschleber mit Mengen bis zu 250 ccm Ringerlösung pro Gramm Froschleber und Stunde die Zuckerabgabe der Froschleber auf 0 herunterzudrücken.

2. Entsprechend dem Befund von Fröhlich und Pollack wird meist in der ersten Zeit der Durchströmung ein Maximum der Zuckerkurve gefunden.

3. Vorübergehende Sistierung der Durchströmung nach mindestens  $\frac{1}{2}$  stündiger Durchströmung vermindert die Zuckerproduktion oder läßt sie unverändert.

4. Diese Erscheinungen werden erklärt durch zwei einander entgegenwirkende Momente: Verminderung der diastatischen Wirksamkeit der Leber durch Ausspülung von Diastase aus der Leber. Vermehrung der diastatischen Wirksamkeit durch Ausspülung der Produkte der Hydrolyse des Glykogens.

---

## **Der Mechanismus der Zuckermobilisierung durch das Adrenalin.**

Von  
**E. J. Lesser.**

(Aus dem Laboratorium der städt. Krankenanstalten in **Mannheim.**)

(*Eingegangen am 22. November 1919.*)

Mit 5 Figuren im Text.

In der vorausgehenden Abhandlung ist gezeigt worden, daß „blutfrei“ gespülte Froschlebern eine stark herabgesetzte diastatische Wirksamkeit gegenüber bluthaltigen Lebern haben. Dieser Unterschied entsteht dadurch, daß die forcierte Ausspülung nicht nur die Blutdiastase aus den Gefäßen, sondern auch einen Teil der Leberdiastase aus der Leberzelle entfernt. Um die Ausspülung der Leberdiastase aus der Leberzelle nachzuweisen, ist es nur nötig, eine Froschleber nach dem Verfahren von Fröhlich und Pollack mit Ringer-Lösung zu durchspülen und die Ringer-Lösung nach dem Austritt aus der Leber auf Diastase zu prüfen.

Da es sich hier um kleine Diastasemengen in starker Verdünnung handelt, war die schöne Wohlgemuthsche Methode nicht anwendbar, die aber bei orientierenden Vorversuchen wichtige Dienste leistete. Ich ließ statt dessen bei konstantem Gesamtvolumen die Diastase auf jeweils ungefähr die gleiche Glykogenmenge wirken und bestimmte nach Ablauf des Versuches die zurückgebliebene, nicht hydrolysierte Glykogenmenge. Im einzelnen wurde so verfahren: abgemessene Mengen der Spülungsflüssigkeit (je nach Diastasegehalt zwischen 0,5 und 20 ccm wechselnd) wurden in sterilisierte trockene Zentrifugenlgäser von etwa 80 ccm Inhalt gegeben und mit Ringer-Lösung

auf stets gleiches Volumen von 20 ccm gebracht. Dann wurde zu jeder Probe je 1 ccm einer sterilen, etwa 1,7%igen Glykogenlösung zugesetzt. (Das Glykogen war nach Pflüger aus Froschlebern gewonnen, mehrfach aus saurer und neutraler Lösung umgefällt, mit Äther gewaschen und über Chlorcalcium getrocknet. Die wäßrige Lösung reagierte gegen Lackmus neutral und wurde fraktioniert sterilisiert.) Als Kontrolle dienten 1 bis 2 Zentrifugengläser mit 20 ccm reiner Ringer-Lösung, die also keine Diastase enthielt, zu denen ebenfalls je 1 ccm der gleichen Glykogenlösung gegeben wurde. Endlich kam in jedes Zentrifugenglas 1 ccm Toluol, dann wurden alle, auch die Kontrollproben, gut verschlossen, gleichzeitig für etwa 15 Stunden in einen Thermostaten von 37° gebracht. Nach Ablauf dieser Zeit wurde in jedes Gefäß 42 ccm 96%iger Alkohol gegeben und entweder sofort oder nach 12 stündigem Stehen in elektrischer Zentrifuge 1 Stunde zentrifugiert. Der Alkohol wird abgegossen, was ganz leicht gelingt, da der Glykogenniederschlag fest am Boden oder, bei sofortigem Zentrifugieren gleich nach Zusatz des Alkohols, auch an den Seitenwänden des Gefäßes haftet. Die wasserklaren Diastaselösungen, die ich verwendete, enthielten nur Spuren organischer Substanz (maximal 0,5 mg Traubenzucker und 0,02 mg Stickstoff). Daher ist mehrfaches Waschen des Niederschlages, ebenso wie Erhitzen mit 60%iger Kalilauge vor der Alkoholfällung überflüssig. Man kann vielmehr den Rückstand der ersten Fällung direkt im Zentrifugenglas mit 20 ccm 2,2%iger Salzsäure übergießen und durch 3 stündiges Einstellen in ein kochendes Wasserbad hydrolysieren. Hieran wird, nach Neutralisation, die übliche Zuckerbestimmung nach Bertrand in der Modifikation von Möckel und Frank angeschlossen. Da jedes Filtrieren, Auswaschen, Lösen des Glykogens vom Filter fortfällt, der ganze Versuch mit Ausnahme der Zuckerbestimmung in ein und demselben Gefäß vorgenommen wird, ist die Methode recht genau. Fehler können nur bei der Zuckerbestimmung vorkommen. Gegenüber der Wohlgemuthschen Methode besteht jedoch ein Nachteil. Bei dem Wohlgemuthschen Verfahren wirken im entscheidenden Versuch Ferment und Substrat in genau gleichen absoluten Mengen und bei gleichem Gesamtvolumen aufeinander. Bei meinem Verfahren ist zwar die Substratmenge und das



Gesamtvolumen stets gleich, aber die Fermentmenge wechselt. Nachdem ein ungefährer Überblick über die Fermentmengen, die in den aufeinanderfolgenden Stunden aus der Leber ausgespült wurden, erlangt war, gelang es auch, die Fermentmengen ungefähr gleich zu halten. Zur genaueren Orientierung führe ich hier das Protokoll eines der ersten und eines der späteren Versuche auf:

Versuch 35 vom 26. II. 1919.

Esculenta-Weibchen, Gewicht 25 g. 11<sup>04</sup> getötet und Rückenmark zerstört. Leber nach Fröhlich und Pollak präpariert und zur Durchströmung hergerichtet. Die Durchströmung beginnt 11<sup>20</sup> vormittags, endet 4<sup>49</sup> nachmittags. Druck, unter dem durchströmt wird, 13 cm Wasser. Temperatur der durchfließenden Lösung 16,2 bis 17,8°. Gewicht der Leber nach Ablauf des Versuches 0,92 g.

Nr.:	I	II	III	IV	V	VI
Zeit:	11 <sup>20</sup> —12 <sup>04</sup>	12 <sup>04</sup> —1 <sup>04</sup>	1 <sup>04</sup> —2 <sup>04</sup>	2 <sup>04</sup> —3 <sup>04</sup>	3 <sup>04</sup> —4 <sup>04</sup>	4 <sup>04</sup> —4 <sup>49</sup>
Durchgeflossen Ringer-Lösung in ccm . . .	162	202	192	205	198	165
Dasselbe pro 1 g Leber ber. . . . .	243 <sup>1)</sup>	222	211	225	218	218 <sup>1)</sup>
Traubenzucker in der Lösung in mg . . .	4,5	3,0	3,6	4,6	5,3	5,4 <sup>1)</sup>
Dasselbe auf 100 g Leber ber. . . . .	488	324	393	501	572	581 <sup>1)</sup>

Diastasebestimmung in den Spülflüssigkeiten der Leber.

Von Lösung I	1 ccm + 19 ccm Ringer-Lösung	+ 1 ccm Glykogenlös.	+ 1 ccm Toluol
" " II	10 " + 10 "	" + 1 "	" + 1 " "
" " III	20 " + 0 "	" + 1 "	" + 1 " "
" " IV	20 " + 0 "	" + 1 "	" + 1 " "
" " V	20 " + 0 "	" + 1 "	" + 1 " "
" " VI	20 " + 0 "	" + 1 "	" + 1 " "
Kontrolle:	20 ccm reine Ringer-Lösung	+ 1 "	" + 1 " "

Alle 7 Zentrifugengläser kommen von 5<sup>55</sup> p. m. bis 9<sup>55</sup> a. m. des nächsten Tages in den Thermostaten bei 37°. Dann alle 7 Gläser nahezu gleichzeitig mit Alkohol gefällt und Glykogenbestimmung angeschlossen. Die Analyse ergibt: es ist enthalten Glykogen in Milligramm als Glucose in:

Kontrolle	14,80 mg Glykogen, hydrolysiert	0 mg
Lösung I	3,20 " " " "	11,60 "
" II	6,55 " " " "	8,25 "

<sup>1)</sup> Berechnet auf 60 Minuten.

Lösung III 5,25 mg Glykogen, hydrolysiert 9,55 mg  
 " IV 6,80 " " " 8,00 "  
 " V 10,65 " " " 4,15 "  
 " VI 13,85 " " " 0,95 "

Es hydrolysieren:

1 ccm der Lösung I 11,60 mg, 162 ccm demnach 1879 mg  
 10 " " " II 8,25 " 202 " " 167 "  
 20 " " " III 9,55 " 192 " " 92 "  
 20 " " " IV 8,00 " 205 " " 82 "  
 20 " " " V 4,15 " 198 " " 41 "  
 20 " " " VI 0,95 " 165 " " 8 "

Lösung II bis VI sind wasserklar. Bei längerem Zentrifugieren ist kein Bodensatz mehr zu erhalten. Lösung I ist durch rote Blutkörperchen stark getrübt. Nach gründlichem Mischen wird ein Teil zentrifugiert und von der klaren, ungefärbten überstehenden Flüssigkeit 1 ccm zum Diastaseversuch benutzt.

Versuch 44 vom 7. IV. 1919.

Esculenta-Männchen, 34 g schwer. Tot 11<sup>54</sup>. Leber zur Durchströmung hergerichtet. 12<sup>10</sup> Durchströmung begonnen, 5<sup>54</sup> beendet. Durchströmungsdruck 11 ccm Wasser. Temperatur der Durchströmungsflüssigkeit 19,1 bis 17,6°. Lebergewicht am Schlusse 0,86 g.

Nr.:	I	II	III	IV	V	VI
Durchgeflossene ccm Ringer-Lösung	250	334	230	270	276	266
Abgegebener Traubenzucker in mg	3,6	6,0	9,1	9,7	6,0	4,4
Traubenzucker pro 100 g ber. . .	414	695	1062	1130	696	509

In Periode III von 1<sup>54</sup> bis 2<sup>54</sup> läuft Ringer-Lösung unter gleichem Druck hindurch, die 1 : 500000 Adrenalin enthält.

Diastasebestimmung in den Spülflüssigkeiten der Leber.

Es wurden

von Lösung I 0,5 ccm + 19,5 ccm Ringer-Lösung + 1 ccm Glykogenlös. + 1 ccm Toluol  
 " " II 10,0 " + 10,0 " " + 1 " " + 1 " "  
 " " III 20,0 " + 0 " " + 1 " " + 1 " "  
 " " IV 20,0 " + 0 " " + 1 " " + 1 " "  
 " " V 20,0 " + 0 " " + 1 " " + 1 " "  
 " " VI 20,0 " + 0 " " + 1 " " + 1 " "  
 Kontrolle I 20,0 " reine Ringer-Lösung + 1 " " + 1 " "  
 " II 20,0 " " " + 1 " " + 1 " "  
 angesetzt.

Alle 8 Zentrifugengläser von 6<sup>30</sup> nachmittags bis 10<sup>30</sup> vormittags in dem Thermostaten bei 37°. Dann alle Proben mit dem doppelten Volum Alkohol gefällt und auf Glykogen verarbeitet.

Es ist enthalten: Glykogen in Milligramm als Glykose in

Kontrolle I	18,50 mg Glykogen, hydrolysiert	0 mg
" II	18,30 " " "	0 "
Lösung I	14,85 " " "	3,55 "
" II	14,95 " " "	3,45 "
" III	9,90 " " "	8,50 "
" IV	14,60 " " "	3,80 "
" V	15,05 " " "	3,35 "
" VI	16,00 " " "	2,40 "

## Es hydrolysieren:

0,5 ccm der Lösung I	3,55 mg, demnach	250 ccm	1775 mg
10,0 " " " II	3,45 " " "	334 "	115 "
20,0 " " " III	8,50 " " "	230 "	98 "
20,0 " " " IV	3,80 " " "	270 "	51 "
20,0 " " " V	3,35 " " "	276 "	46 "
20,0 " " " VI	2,40 " " "	266 "	32 "

Die Ergebnisse einer Reihe solcher Bestimmungen zeigt die Tabelle I. Die Diastasewerte bedeuten die Glykogenmengen in Milligramm, die von der gesamten Ringer-Lösung hydrolysiert werden, die durch 1 g Leber während 1 Stunde hindurchgeflossen ist. (Bei Einwirkung bei 37° in 15 Stunden auf einen Glykogengehalt von etwa 0,1%) Die Versuche sind in der Zeit von Ende Februar bis Ende April angestellt. In den übrigen Monaten wurden bisher quantitative Bestimmungen nicht gemacht. Qualitative Versuche haben aber das gleiche Resultat ergeben. Im September, November und Dezember war in allen untersuchten Spülflüssigkeiten der Leber unabhängig von der Dauer und der Geschwindigkeit der Durchspülung stets Diastase in geringen Mengen nachweisbar.

Tabelle I.

Datum 1919	Perioden						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
26. II.	2042	182	99,7	89,2	44,7	8,6	—
4. III.	—	138	76,5	44,5	29,0	28,7	—
11.	1945	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	248,0	23,7	25,9	44,0
9. IV.	1627	164	verloren	28,0	28,0	34,0	—
16.	1126	114	33,0	verloren	33,0	34,0	—
24.	1775	152	65,0	55,0	52,0	27,0	—

<sup>1)</sup> In Periode II und III wurde die Durchströmung unterbrochen.

Die Diastasewerte in der ersten Stunde setzen sich aus 2 Posten zusammen, aus der Blutdiastase, die aus den Lebergefäßen stammt, und der Leberdiastase, die aus der Leberzelle austrat. Beide voneinander zu trennen, ist mir bisher nicht gelungen. Die Aufgabe ist auch darum nicht leicht, weil die ausgespülte Leberdiastase nur einen nicht sehr großen Bruchteil des Gesamtwertes der 1. Stunde ausmacht, den ich höchstens auf 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub> des Gesamtwertes der 1. Stunde schätzen würde. Von der 2. Stunde an aber handelt es sich nur um Leberdiastase; denn auf keine Weise, weder mikroskopisch noch chemisch lassen sich alsdann noch Blutbestandteile in der Durchspülungsflüssigkeit nachweisen. Von der 2. bis zur 6. Stunde sinken die Diastasewerte in der Durchspülungsflüssigkeit ziemlich regelmäßig ab auf etwa  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{1}{6}$  des Wertes der 2. Stunde.

Dies Verhalten der Diastasewerte in der Durchspülungsflüssigkeit der Leber habe ich benutzt, um einen weiteren Einblick in den Mechanismus der Adrenalinwirkung an der durchströmten Froschleber zu bekommen. Fröhlich und Pollack haben die wichtige Entdeckung gemacht, daß Zusatz von Adrenalin zur Ringer-Lösung bei der Durchströmung der Froschleber in einer Verdünnung von 1:1000000 bis 1:500000 regelmäßig die Zuckerabgabe der Leber stark steigert. Bang<sup>1)</sup> hat das gleiche durch Einbringen der Froschleber in Ringer-Lösung mit Adrenalinzusatz erhalten. Er denkt an eine Aktivierung von präformierter Diastase durch das Adrenalin, obwohl er das Adrenalin nur bei der intakten Leber wirksam fand, nicht aber im Leberbrei.

Ich habe zunächst untersucht, ob einmalige Adrenalinzufuhr an der durchspülten Froschleber eine dauernd erhöhte Zuckerproduktion bewirkt, oder ob die Zuckerabgabe nach kürzerer oder längerer Zeit wieder auf den gewöhnlichen Wert sinkt. Das letztere ist der Fall, wie die beiden folgenden Protokolle ergeben, die aus einer größeren Zahl solcher gleich verlaufener Versuche mitgeteilt seien.

#### Versuch 8 vom 27. XII. 1918.

Esculenta-Weibchen, 73 g. 18 bis 19°. Druck 13 cm. Leber wiegt 3,01 g. Die Durchströmungsflüssigkeit enthält in der 3. und 6. Stunde 1:500000 Adrenalin.

<sup>1)</sup> Bang, diese Zeitschr. 49, 81.

Periode:	I	II	III	IV	V	VI
Durchgeströmte Ringer-Lösung in ccm	272	260	200	228	273	223
Traubenzucker in mg . . . . .	9,2	4,9	28,7	24,2	11,6	10,2

### Versuch 36 vom 28. II. 1919.

Esculenta-Männchen, 43 g. 20,2°. 10,5 cm Druck. Leber wieg 1,64 g. Die Durchströmungsfüssigkeit enthält in der 3. Stunde 1:500000 Adrena'in.

Periode:	I	II	III	IV	V	VI
Durchgeströmte Ringer-Lösung in ccm	220	200	211	198	205	207
Traubenzucker in ccm . . . . .	10,7	11,8	15,1	19,5	10,2	7,0

Zum Vergleich diene außerdem ein nahezu gleichzeitiger Normalversuch, bei dem dauernd mit reiner Ringer-Lösung durchströmt wurde.

### Versuch 37 vom 4. III. 1919.

Esculenta-Männchen, 49,5 g. 10,5 ccm Druck. Leber wiegt 1,54 g

Periode:	I	II	III	IV	V	VI
Durchgetrömte Ringer-Lösung in ccm .	157	210	204	208	194	184
Traubenzucker in mg . . . . .	8,8	10,7	11,5	9,7	9,4	7,7

Adrenalin- und Normalversuch ist außerdem in Kurve 1 und 2 dargestellt. Die gestrichelte Kurve stellt den Normalversuch dar. Die ausgezogene den Adrenalinversuch. Die Perioden mit Adrenalinwirkung im Adrenalinversuch sind durch starke Konturierung hervorgehoben.

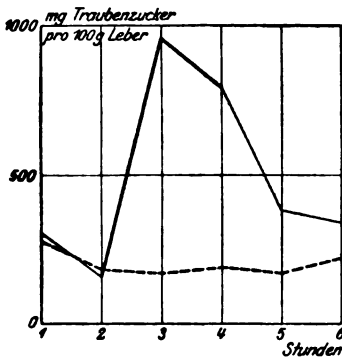


Fig. 1.

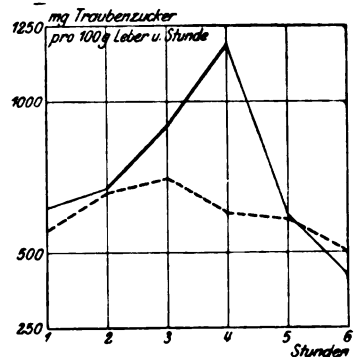


Fig. 2.

Aus den Versuchen und den Figuren geht hervor, daß die zuckertreibende Wirkung des Adrenalins rasch vorübergeht.

Läßt man genau 1 Stunde lang Adrenalin 1:500000 durch die Leber laufen, so ist in dieser und in der folgenden Stunde die Zuckerbildung stark erhöht. Daß sie auch in der 2. Stunde noch stark erhöht ist, beruht nicht auf einer Nachwirkung des Adrenalins, denn im Beginn der 2. Stunde ist die Leberzelle noch mit Adrenalin gesättigt, daß erst im Laufe der 2. Stunde, in der wieder reine Ringer-Lösung durch die Leber hindurchläuft, ausgewaschen wird. In der Periode V, 2 Stunden nachdem das Adrenalin eingewirkt hat, erreicht die Zuckerabgabe wieder normale Werte. Das Adrenalin wirkt also nur während seiner Gegenwart in der Leberzelle, ohne deutliche Nachwirkung. Im Versuch 8 zeigt sich aber, daß eine zweite in der 6. Stunde erfolgende neuerliche Durchspülung mit der gleichen Adrenalinkonzentration unwirksam ist. Entweder spricht also die herausgeschnittene, künstlich durchströmte Froschleber nur einmal auf Adrenalin an, oder nur in den ersten Stunden der Durchströmung. Zur Entscheidung dieser Frage unternommene Versuche ergaben, daß Adrenalin nur in den ersten 2 $\frac{1}{2}$  Stunden der Durchströmung zuckertreibend wirkt. Später hat es keine Wirkung mehr. Zum Beweise sei Versuch 33 angeführt.

Versuch 33 vom 21. II. 1919.

Esculenta-Weibchen, 66,5 g. 18,4°. 22 cm Druck. Leber wiegt 2,6 g. In der 5. Stunde läuft Adrenalin 1:500000 hindurch (siehe Figur 3).

Periode:	I	II	III	IV	V	VI
Durchströmte Ringer-Lösung in com .	232	195	194	208	144	218
Traubenzucker in mg . . . . .	6,6	8,2	10,4	14,7	16,8	14,8

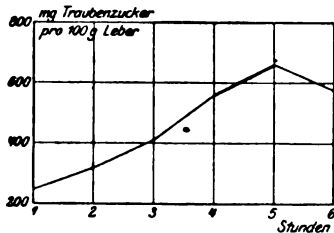


Fig. 3.

Dieser in mehrfach wiederholten Versuchen erhobene Befund konnte durch zwei Gründe bedingt sein. Entweder ver-

ändert die 4 stündige Durchspülung etwas in der Leber, so daß das Adrenalin nicht mehr wirken kann, oder die Leber spricht nur in den ersten  $2\frac{1}{2}$  Stunden nach Herausnahme aus dem Tier auf Adrenalin an, später aber nicht mehr. Diese Frage war leicht durch Versuche zu entscheiden, in denen das Adrenalin 5 Stunden nach dem Tode des Tieres erst zur Wirkung kam. Aber während dieser 5 Stunden wurde nur  $1\frac{1}{2}$  Stunden lang mit Ringer-Lösung durchspült. 2 Stunden lang wurde die Leber ohne Durchspülung belassen, durch feuchte Kammer gegen Verdunstung und Eintrocknung geschützt. Alsdann wirkt das Adrenalin auch in der 5. Stunde nach Tod des Tieres, wie folgender Versuch zeigt.

#### Versuch 38 vom 7. III. 1919.

Esculenta-Männchen, 42 g. Tot  $10^{43}$ . Durchströmung begonnen  $10^{55}$ . Leber wiegt 1,43 g. Temp. 18 bis  $18,6^{\circ}$ . Von  $11^{43}$  bis  $1^{45}$  Durchströmung unterbrochen. Von  $1^{41}$  bis  $2^{41}$  in 2 Perioden zu je  $\frac{1}{2}$  Stunde geteilt. Von  $2^{41}$  bis  $3^{41}$  läuft Adrenalin 1 : 500 000 hindurch (siehe Figur 4).

Periode:	I	II	III	IVa	IVb	V	VI	VII	VIII
Durchströmte Ringer-Lösung in ccm . . .	200	0	0	123	121	184	209	235	242
Traubenzucker in mg	9,6	12,1			3,5	11,1	15,0	10,6	6,7

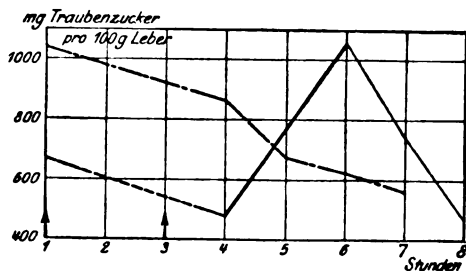


Fig. 4. - - - - - Normalversuch,  
 ————— Adrenalinversuch.

Die Perioden mit Adrenalinwirkung sind stark konturiert. Zwischen den beiden Pfeilen wurde die Durchströmung unterbrochen.

Das Ergebnis der bisher mitgeteilten Versuche ist also, daß 1) das Adrenalin ohne deutliche Nachwirkung nur während seiner Gegenwart in der Leberzelle zuckertreibend wirkt und daß 2) durch längere Ausspülung der Leber vor

Beginn der Adrenalineinwirkung der zuckertreibende Effekt aufgehoben wird. Im letzteren Falle läßt sich nachweisen, daß dies nicht daran liegt, daß zwischen Tod des Tieres und Adrenalinwirkung eine längere Zeit vergeht, sondern daß es an der längerdauernden Durchspülung liegt. Auch in der 5. Stunde nach Abtrennung der Leber vom Tiere wirkt Adrenalin stark zuckertreibend, aber nur dann, wenn während zweier Stunden die Durchströmung unterbrochen war. Dies Verhalten der Leber macht es bereits sehr unwahrscheinlich, daß durch Adrenalinzufuhr die Fermentmenge in der Leber etwa durch vermehrte Fermentbildung erhöht wird. Die Frage, ob durch Adrenalinzufuhr die Fermentproduktion in der Leber zunimmt, kann aber durch direkt darauf gerichtete Versuche entschieden werden. Würde durch Adrenalin die Fermentmenge in der Leber vermehrt, so müßte die Leber dauernd mit erhöhter Zuckerproduktion auf einmalige Adrenalinzufuhr antworten. Die erhöhte Zuckerabgabe dürfte nach Ausspülung des Adrenalins nicht sofort wieder zurückgehen. Wenn also vermehrte Fermentproduktion stattgefunden hätte, so müßte diese mehr gebildete Fermentmenge auch aus der Leberzelle ausgespült sein. Man müßte also nach Adrenalingabe größere Fermentmengen in der Spülflüssigkeit finden, als ohne Adrenalinzufuhr. Zum mindesten müßte die Kurve der Abnahme des Diastasegehalts der Spülflüssigkeit nach Adrenalingabe deutlich anders verlaufen. Keines von beiden ist der Fall, wie der Vergleich einer Reihe derartiger Versuche (Tabelle II) mit den Normalversuchen (Tabelle I) ergibt (vgl. auch Figur 5).

Tabelle II.

Datum 1919	Perioden						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
28. II.	1389	126	88,4	50,7	37,5	34	—
7. III.	1951	— <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	217	30,9	27	7,4
7. IV.	2063	134	117	60	54	34	—
15.	1312	134	73	47	39	26	—
23.	1431	230	55	39	52	24	—

☐ während der Perioden mit umranderten Zahlen lief Adrenalin 1 : 500000 durch die Leber.

<sup>1)</sup> In Periode II und III wurde die Durchströmung unterbrochen.



Die Tabelle zeigt ebenso wie die graphische Aufzeichnung, daß die in der Spülflüssigkeit auftretenden Diastasewerte mit und ohne Adrenalinwirkung ungefähr gleich sind. Insbesondere verläuft die Kurve der Abnahme der Diastasewerte mit länger-dauernder Durchspülung mit und ohne Adrenalinzufuhr ganz gleichmäßig. Stets findet sich ein mehr oder minder gleich-

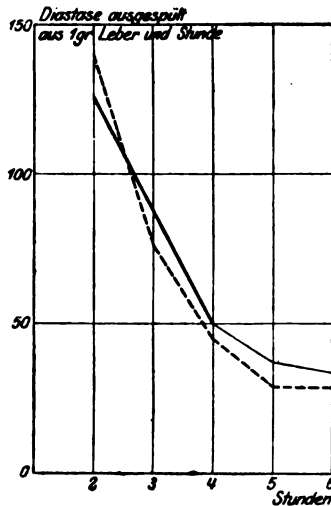


Fig. 5. ----- Normalversuch vom 4. III. 19.

———— Adrenalinversuch vom 28. II. 19.

Die Perioden mit Adrenalinwirkung sind stark konturiert.

mäßiges Absinken der pro Stunde ausgespülten Diastasemenge. Niemals kommt es nach Adrenalineinwirkung zu einem Ansteigen der in der Spülflüssigkeit erscheinenden Diastasemenge. Dies müßte bei Neubildung von Diastase auf Adrenalineinwirkung hin unbedingt erwartet werden. Da einerseits die Adrenalineinwirkung an der Froschleber die Anwesenheit von Adrenalin in der Leber nicht wesentlich überdauert, andererseits sich nicht nachweisen läßt, daß unter Adrenalinwirkung mehr Diastase aus der Leber ausgespült wird als in Normalversuchen, so kann die durch Adrenalin erzeugte Mehrproduktion von Zucker nicht dadurch entstanden sein, daß Ferment auf Adrenalinzusatz hin neu gebildet worden ist. Bei Adrenalin-gegenwart in der Zelle muß etwas anderes verändert worden sein, so daß Ferment und Substrat leichter miteinander re-

agieren, ohne daß die in der Zelle enthaltene Fermentmenge zugenommen hat. Um eine Aktivierung von Diastase durch Adrenalin kann es sich nicht handeln. Diese müßte auch im Reagensglase an Diastaselösungen erhalten werden. Daß dies nicht der Fall ist, geht aus den Fermentversuchen mit den Spülflüssigkeiten der Leber hervor, denn diese enthielten in den Adrenalinperioden Adrenalin in ausreichender Menge. Zudem hat Bang gezeigt, daß das Adrenalin an der Froschleber nur so lange wirksam ist, als die morphologische Struktur unverändert ist. Am Leberbrei wirkt Adrenalin nicht mehr auf die Zuckerbildung ein. Somit bleibt zur Erklärung der Adrenalinwirkung an der Froschleber nur die Vorstellung einer räumlichen Trennung von Ferment und Substrat, die unter Einwirkung von Adrenalin sich ändert. Diese Einwirkung des Adrenalins ist reversibel. Wenn das Adrenalin aus der Leberzelle verschwunden ist, treten wieder die gleichen Verhältnisse wie vorher ein. Damit die Adrenalinwirkung zustande kommen kann, muß in der Leberzelle ein gewisser Überschuß von Ferment da sein, der ohne Adrenalineinwirkung nicht mit Glykogen reagieren kann. Spült man die Leber zu lange aus und entfernt somit diesen Fermentüberschuß aus der Leber, so wird das Adrenalin unwirksam. Das gleiche haben wir in der vorangehenden Abhandlung über die Einwirkung der Störung der Zellstruktur auf die Glykogenhydrolyse erfahren. Auch diese war an der stark ausgespülten Leber unwirksam. Durch die hier mitgeteilten Versuche halte ich somit den Beweis für erbracht, daß ebenso wie in der Eizelle des Frosches, auch in der Leberzelle eine räumliche Trennung von Diastase und Glykogen besteht. Diese räumliche Trennung ist durch Adrenalin reversibel aufhebbar.

Von Interesse ist noch, daß Adrenalin in einer Verdünnung von 1:500000 von Mitte April an auch nach nur  $1\frac{1}{2}$  stündiger vorheriger Durchströmung wirkungslos ist. Z. B. im Versuch vom 15. IV. 1919.

#### Versuch 47 vom 15. IV. 1919.

Esculenta-Männchen, 42 g. 11<sup>10</sup> getötet. Durchströmung beginnt 11<sup>24</sup>. Temperatur 17,7 bis 18,5°. Druck 7 cm. In Periode III läuft Adrenalin 1:500000 hindurch. Leber wiegt 2,24 g.

Periode:	I	II	III	IV	V	VI
Durchgeströmte Ringer-Lösung in ccm	153	260	255	245	273	270
Traubenzucker in mg . . . . .	14	9,4	9,0	8,3	4,9	3,8

Auch diese Unwirksamkeit des Adrenalins läßt sich auf die Durchspülung der Leber zurückführen. Es war am 25. IV. möglich, mit ungespülten Leberlappen zu zeigen, daß durch die gleiche Adrenalinkonzentration die diastatische Wirksamkeit sehr erheblich anwächst. Zur Untersuchung kamen die Seitenlappen von 15 Froschlebern. Die einen wurden 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden im Sauerstoffstrome bei 19° in einer Ringer-Lösung belassen, die andern 15 Seitenlappen der gleichen Froschlebern wurden unter genau gleichen Bedingungen in Ringer-Lösung mit Adrenalin im Verhältnis 1:500000 gehalten. Es enthielten alsdann die Ringer-Lebern 3,59% Glykogen, die Adrenalinlebern 2,44% Glykogen. Durch Adrenalin hatte also die diastatische Wirksamkeit um 1,15 zugenommen oder um 32% des Glykogengehaltes der Ringerleber. Solche Versuche bezüglich der Einwirkung des Adrenalins auf die diastatische Wirksamkeit habe ich bereits vor Jahren angestellt. Ich erhielt in den verschiedenen Monaten verschiedene Ergebnisse. Im November 1912 ergab sich im Mittel aus 58 Lebern für die Ringerleberlappen 13,12% Glykogen, für die Adrenalinleberlappen 12,99% Gly-

Tabelle III.

Einfluß des Adrenalins auf die diastatische Wirksamkeit der Froschleber.

Datum	Zahl der Lebern	100 g Leber, nach Verweilen in Ringer-Lös., enthalten Glykogen g	100 g Leber, nach Verweilen in Ringer-Lös. + Adrenalin, enthalten Glykogen g	Bemerkungen
6. XI. 1912	29	12,64	13,10	} 10 ccm Adrenalin 1:100000. 4 Std. Dauer. 22°.
11. . . . .	29	13,59	12,88	
25. IV. 1919	12	3,59	2,44	} 10 ccm Adrenalin 1:500000. 3 Std. Dauer. 19°. } 10 ccm Adrenalin 1:500000. 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Std. Dauer. 19,5°.
2. VI.	15	0,92	0,60	

kogen, also keine deutliche Differenz. Deutliche Ausschläge ergaben Versuche, die in gleicher Weise im April und Juni 1919 angestellt wurden. Die Leberlappen, die in Adrenalin gehalten waren, enthielten stets um 32 bis 35% weniger Glykogen, als die Lebern in reiner Ringer-Lösung.

Das Ergebnis war also bei Adrenalinbeeinflussung das gleiche wie früher bei Beeinflussung durch Anoxybiose in den betreffenden Monaten. Im November keine deutliche Beeinflussung im herausgeschnittenen Organ. Dagegen eine sehr deutliche in den Frühjahrsmonaten. Es ist mir wesentlich, dies hervorzuheben. Man hat mir ja so törichte Einwände gemacht wie der es ist, daß im Frühjahr die Lebern „schlecht überleben“, und daher besser zu dieser Jahreszeit ununtersucht blieben. Merkwürdig, daß diese angeblich „schlecht überlebenden Lebern“ nun gerade die Beeinflussung durch Adrenalin deutlich zeigen, die nur an der intakten Zelle, nicht aber am Leberbrei erhalten werden kann.

Wenn nun die oben vorgetragene Meinung richtig ist, daß in der Leberzelle eine räumliche Trennung von Glykogen und Diastase stattfindet, so muß verlangt werden, daß das Adrenalin nicht nur auf die Leberzelle im Sinne einer Verstärkung der Hydrolyse einwirkt, sondern auf alle Zellen, in denen Glykogen und Diastase nebeneinander vorkommen und in denen das Ferment im Überschuß über das Substrat vorhanden ist. Ich habe daher auch den *M. Gastrocnemius* des Frosches und das Froschovarium untersucht, und zwar mit der Methode der Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit durch Glykogenanalyse. Das Ergebnis einer Reihe solcher Versuche zeigt Tabelle IV.

Im November ist wiederum die Beeinflussung durch Adrenalin nicht sehr deutlich, sie fehlt einmal ganz und liegt im anderen Falle nahe den Fehlergrenzen. In den übrigen Versuchen ist die Beeinflussung sehr deutlich, sie beträgt 14 bis 23% des Gehaltes der Ringermuskeln an Glykogen. Der herausgeschnittene Froschmuskel wird mithin im Januar und in den Frühjahrsmonaten durch Adrenalin in derselben Weise beeinflusst wie die Froschleber. Es findet sich vermehrte Hydrolyse des Glykogens.

Beim Froschovarium habe ich mehrfach sehr deutliche

Tabelle IV.

Beeinflussung der diastatischen Wirksamkeit des Gastrocnemius durch Adrenalin.

Datum	Zahl der Muskeln	100 g Muskel nach Aufbewahrung in in Ringer-Lösung enthalten Glykogen			Bemerkungen
		g	g	g	
6. XI. 1912 11.	29	0,820	0,10	1,2	Adrenalin 1 : 100 000. 4 stünd. O <sub>2</sub> -Durchleitung bei 22°.
	29	0,510	0,470	8,0	
31. XII. 1918	20	0,673	0,521	23,0	Adrenalin 1 : 500 000, 5 stünd. O <sub>2</sub> -Durchleitung bei 21°.
9. I. 1919	14	0,665	0,515	22,5	Adrenalin 1 : 500 000, 5 stünd. O <sub>2</sub> -Durchleitung b. 20,3°.
2. VI.	20	0,367	0,316	14,0	Adrenalin 1 : 500 000, 3 stünd. O <sub>2</sub> -Durchleitung bei 19°.

Beeinflussung durch Adrenalin im Sinne verstärkter Hydrolyse erhalten. In anderen Fällen aber hat ohne erkennbare Ursache diese Beeinflussung gefehlt. Ich bin daher noch nicht in der Lage, hier ein endgültiges Urteil abgeben zu können.

Das Ergebnis dieser Versuche ist zusammengefaßt das folgende:

1. Adrenalin in einer Verdünnung 1:500000 ergibt in den Wintermonaten nach vorheriger 1 $\frac{1}{2}$  stündiger Durchspülung mit Mengen von 100 bis 150 ccm Ringer-Lösung pro Gramm Leber und Stunde stets sehr erhebliche Vermehrung der Zuckerabgabe, die aber rasch vorübergeht.

2. Nach vorheriger 3 $\frac{1}{2}$  stündiger Durchspülung ist Adrenalin unter den gleichen Versuchsbedingungen wirkungslos.

3. Wartet man 3 $\frac{1}{2}$  Stunden, ehe man Adrenalin auf die herausgeschnittene Leber wirken läßt, unterläßt aber in dieser Zeit für 2 Stunden die Durchspülung, so wirkt Adrenalin wie gewöhnlich.

4. Die von der Leber an die Durchspülungsflüssigkeit abgegebene Diastasemenge ist mit und ohne Adrenalinzufuhr die gleiche.

5. Von Ende April an wirkt Adrenalin auch nach vor-

heriger nur  $1\frac{1}{2}$  Stunden dauernder Durchspülung nicht mehr zuckermobilisierend.

6. Um diese Zeit bewirkt es aber an der ungespülten Leber beträchtliche Erhöhung der diastatischen Wirksamkeit.

7. Die Tatsache, daß sich nach der Adrenalinzufuhr keine Vermehrung der Fermentmenge in der Leber nachweisen läßt und daß das Adrenalin nur während seiner Gegenwart in der Zelle ohne deutliche Nachwirkung wirkt, wird als Beweis für die Hypothese der räumlichen Trennung von Diastase und Glykogen in der Leberzelle angesehen.

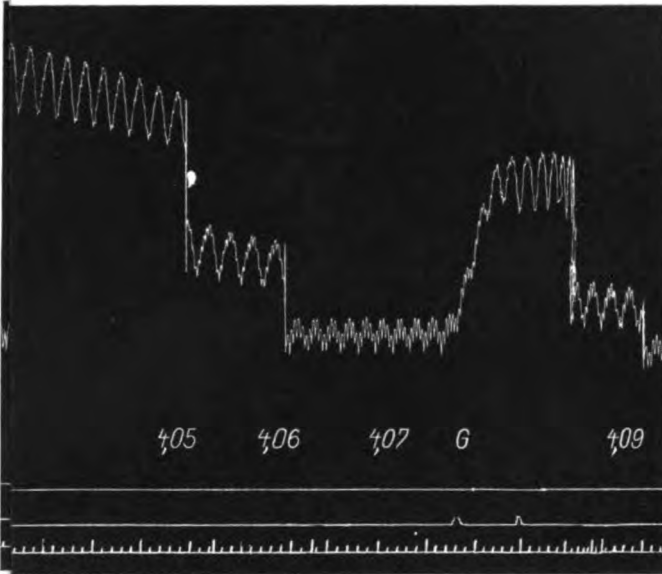
8. Adrenalin 1:500000 bewirkt am herausgeschnittenen Muskel starke Erhöhung der diastatischen Wirksamkeit.

---

## Autorenverzeichnis.

- Abelin, J., und J. Jaffé.** Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. III. Mitteilung. Über den Einfluß der proteinogenen Amine, Phenyl- und p-Oxyphenyläthylamin auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber. S. 39.
- Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. IV. Mitteilung. Einfluß von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven. S. 58.
- Aschenheim, Erich, und Georg Stern.** Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrate auf die Gernnungsvorgänge der Milch. S. 98.
- Borgenstam, E., s. v. Euler.**
- Denecke, Gerhard.** Ein Beitrag zur Narkosefrage. S. 251.
- Dietrich, Walther, s. Windisch.**
- Euler, H. v., und E. Borgenstam.** Zur Kenntnis der Katalasewirkung der Erythrocyten. S. 124.
- und **Ingvar Laurin.** Zur Kenntnis der Hefe *Saccharomyces Thermantitonus*. II. Mitteilung. S. 258.
- Feigl, Joh.** Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blute. X. Die Nephelometrie der Phosphorsäure als Grundlage der P-Verteilung, speziell der Lecithinämie, im Analysengange von der Größenordnung des Bangschen Systems. S. 131.
- Fernau, A.** Über Wirkungen der Radiumstrahlung auf Rohrzucker und Agar. S. 246.
- Gröer, Franz v., und Adolf F. Hecht.** Zur Kenntnis des Adrenalins. I. Über die Änderung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins nach Behandlung desselben mit bakteriellen Produkten. S. 1.
- und **Johann Matula.** Zur Kenntnis des Adrenalins. II. Über die Änderung der gefäßverengen-
- den Wirkung des Adrenalins unter dem Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen und nach Behandlung desselben mit verschiedenen bakteriellen Produkten und Eiweißkörpern. S. 13.
- Hecht, Adolf F., s. v. Gröer.**
- Herzfeld, E., und R. Klinger.** Beiträge zur Chemie der Eiweißkörper. S. 89.
- Jaffé, J., s. Abelin.**
- Kerner, G., und E. J. Lesser.** Die Änderung der diastatischen Wirksamkeit der Froschleber durch starke Durchspülung mit Ringerlösung. S. 284.
- Klinger, R., s. Herzfeld.**
- Laurin, Ingvar, s. v. Euler.**
- Lesser, E. J., s. Kerner.**
- Die Zuckerabgabe der Froschleber bei kontinuierlicher Durchströmung mit Ringerlösung. S. 294.
- Der Mechanismus der Zuckermobilisierung durch das Adrenalin. S. 304.
- Matula, Johann, s. v. Gröer.**
- Michaelis, L., und P. Rona.** Die Adsorbierbarkeit der oberflächenaktiven Stoffe durch verschiedene Adsorbentien sowie ein Versuch zur Systematik der Adsorptionserscheinungen. S. 268.
- Rona, P., s. Michaelis.**
- Stern, Georg, s. Aschenheim.**
- Völtz, Wilhelm.** Der Ersatz des Nahrungseiweißes durch Harnstoff beim wachsenden Wiederkäuer. Der Futterwert des nach dem Beckmannschen Verfahren aufgeschlossenen Stroh- und der Spreu. S. 151.
- Weiß, M.** Die Farbstoffanalyse des Harnes. I. Über die Zerlegung des Harnes in drei Hauptfraktionen als Grundlage der Farbstoffanalyse desselben. S. 228.
- Windisch, Wilhelm, und Walther Dietrich.** Über das Puffersystem primäres Phosphat—Bicarbonat—freie Kohlensäure an Stelle des Puffersystems primäres Phosphat—sekundäres Phosphat. S. 141.

G: Injektion von Adrenalin . . . . .	0,3 ccm
Soda . . . . .	0,1 ccm
phys. NaCl . . . . .	0,7 ccm
	<hr/>
	1,0 ccm



#### Figurenerklärung zu Kurve 1.

Geringer Druckanstieg bei Injektion von Adrenalin mit Diphtherietoxin versetzt, mächtiger bei Zusatz unbewachsener Nährbouillon und nur etwas niedrigerer bei Zusatz einer Sodalösung, die gegen Phenolphthalein ebenso wie die Nährbouillon reagiert.

#### Figurenerklärung zu Kurve 1a.

Diphtherietoxin hemmt die Adrenalinwirkung auch dann noch in erheblichem Maße, wenn es neutralisiert ist.

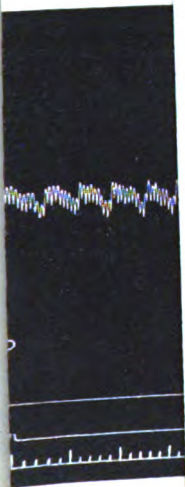




Injektion von Adre  
Dipht  
phys.



P: Injektion vo  
enalin . . . . .  
riachstreptokokken  
nucleoproteid . . .  
phys. NaCl-Lös. au





---

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

---

Soeben erschien:

# Ultra-Strukturchemie

Ein leichtverständlicher Bericht

Von

Prof. Dr. Alfred Stock

Mit 17 Textabbildungen

Preis M. 6,—

---

Soeben erschien:

# Einführung in die experimentelle Therapie

Von

Professor Dr. Martin Jacoby

Zweite, neubearbeitete Auflage

Mit 12 Textabbildungen

Preis M. 22,—

---

Soeben erschien:

# Die Zweckmäßigkeit in der Entwicklungsgeschichte

Eine finale Erklärung

embryonaler und verwandter Gebilde und Vorgänge

Von

Karl Peter

Greifswald

Mit 55 Textfiguren

Preis M. 30,—; gebunden M. 36,—

---

**Hierzu Teuerungszuschläge**

---



**FILTRIR PAPIER**

*In unerreichter Vollkommenheit und Vielseitigkeit liefern wir auf Grund 30-jähriger Erfahrung unsere*  
**Filtrirpapier-Sonderheiten**  
*für die Zwecke der Technik und analytischen Chemie. Beim Einkauf achte man auf unsere in allen Kulturstaaen eingetragenen Etiketten und Schutzmarken.*  
**Carl Schleicher & Schüll, Düren (Rheinland)**

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Soeben erschien: **Handbuch der  
 experimentellen Pharmakologie**

Bearbeitet von hervorragenden Fachgelehrten

Herausgegeben von

**A. Heffter**

Professor der Pharmakologie an der Universität Berlin

In drei Bänden

Zweiter Band, 1. Hälfte:

Pyridin, Chinolin, Chinin, Chininderivate — Cocaingruppe,  
 Yohimbin — Curare und Curarealkaloide — Veratrin und  
 Protoveratrin — Aconitringruppe — Pelletierin — Strychnin-  
 gruppe — Santonin — Pikotoxin und verwandte Körper —  
 Apomorphin, Apocodein, Ipecacuanha-Alkaloide  
 Colchicineingruppe — Purinderivate

Mit 98 Textabbildungen

Preis M. 48,— (+ Sortimentsteuerzuschlag)

*Die zweite Hälfte des II. Bandes erscheint in Kürze. Der Erwerb der ersten Hälfte verpflichtet zur Abnahme der zweiten. Auch der erste und dritte Band werden in absehbarer Zeit zur Ausgabe gelangen.*

**Zu beziehen durch jede Buchhandlung**

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.











STACKS

141704

