



## 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 3 778 045

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
MEDICAL CENTER LIBRARY  
SAN FRANCISCO



EX LIBRIS









# 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

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, G. Bertrand-Paris, A. Biekel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Feigl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forsman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-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. Landolf-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. Michaëls-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Frag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, A. Scheunert-Berlin, N. Sieber-St. Petersburg, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Frag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler-München, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Bostock, O. Warburg - Berlin, W. Wiechowski-Frag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertundsiebenter Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920



**Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.**

# Inhaltsverzeichnis.

	Seite
<b>Baudisch, Oscar und Paul Mayer.</b> Studien über die Reduktion der Nitrite und Nitrate . . . . .	1
<b>Keller, Rudolf.</b> Die Capillarisation in der Biochemie . . . . .	43
<b>Andree, W. und H. Wendt.</b> Über den Einfluß einiger darmwirkender Arzneimittel auf die endogene Harnsäureausscheidung . . . . .	50
<b>Stepp, Wilhelm.</b> Über das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen im Blute von Kranken . . . . .	60
<b>Verzár, F. und R. Beck.</b> Die Änderung der Aussalzbarekeit von Bakterien der Typhusgruppe durch verschiedene Verhältnisse . . . . .	81
<b>Verzár, Fritz.</b> Zur Frage des Nachweises der Permeabilitätsänderung des Nerven bei Narkose und Erregung . . . . .	98
<b>Zuntz, H.</b> Über Veränderungen der Eitersekretion bei peroraler Kochsalzzufuhr . . . . .	106
<b>Wacker, Leonhard.</b> Kohlensäuredruck oder Eiweißquellung als Ursache der Muskelkontraktion? . . . . .	117
<b>Norgaard, A.</b> Über die Pepsinbestimmung in achylischen Probemahlzeiten mit besonderer Berücksichtigung der Adsorption von deren festen Teilen . . . . .	145
<b>von Euler, Hans und Arvid Hedellus.</b> Über die Stabilität der $\alpha$ -Glucose . . . . .	150
<b>Weszeckzy, Oskar.</b> Untersuchungen über die gruppenweise Hämagglutination beim Menschen . . . . .	159
<b>Windisch, Wilhelm, Wilhelm Henneberg und Walther Dietrich.</b> Über die Einwirkung oberflächenaktiver Nonylsäure und einiger oberflächenaktiver höherer Homologe der Alkoholreihe (Amylalkohol und Oktylalkohol) auf die Hefezelle und die Gärung . . . . .	172
<b>Salkowski, E.</b> Über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens . . . . .	191
<b>Hartwich, G.</b> Eine neue Methode quantitativer Brom-Bestimmung . . . . .	202
<b>Doerr, R.</b> Zur Oligodynamie des Silbers. II. Mitteilung . . . . .	207
<b>Walbum, L. E.</b> Über die Wasserstoffionenkonzentration einiger Standardlösungen bei verschiedenen Temperaturen . . . . .	219
<b>Ege, Rich.</b> Über die Restreduktion des Blutes. (Zur Physiologie des Blutzuckers III.) . . . . .	229
<b>Ege, Rich.</b> Zur Frage der Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Glucose und Anelektrolyten . . . . .	246

	Seite
<b>Hagedorn, H. C.</b> Einige Bemerkungen über die Verteilung der Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma . . . . .	248
<b>Gad Andresen, K. L.</b> Über die Verteilung der Reststickstoffkörper auf Plasma und Körperchen im strömenden Blute . . . . .	250
<b>Warburg, E. J.</b> Einige Bemerkungen über die Verteilung von Anionen zwischen Blutkörpern und Plasma . . . . .	252
<b>Schweitzer, Dr.</b> Haben Aminosäuren schlechthin Secretincharakter?	256
<b>Herzfeld, E. und Klinger, R.</b> Zur Chemie der Polysaccharide . .	268
<b>Traube, J.</b> Über die Bedeutung der Magen-Salzsäure und Bemerkungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in den biologischen Wissenschaften . . . . .	295
<b>Joachimoglu, Georg.</b> Zur Pharmakologie des Selens und Tellurs	300
<b>Autorenverzeichnis</b> . . . . .	313

# 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

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Feigl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-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. Landolf-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. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, A. Scheunert-Berlin, N. Sieber-St. Petersburg, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Brestal, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wlechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundsiebenter Band

Erstes bis drittes Heft

Ausgegeben am 24. Juli 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

U.C. MEDICAL CENTER LIB.

JAN 2 1952

San Francisco, 22

# Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 40.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

*In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.*

*Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,*

*Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,*

*zu richten.*

*Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.*

**Verlagsbuchhandlung Julius Springer**

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

---

107. Band.	Inhaltsverzeichnis.	1., 2. u. 3. Heft.
		Seite
<b>Baudisch, Oscar und Paul Mayer.</b>	Studien über die Reduktion der Nitrite und Nitrate . . . . .	1
<b>Keller, Rudolf.</b>	Die Capillarisation in der Biochemie . . . . .	43
<b>Andree, W. und H. Wendt.</b>	Über den Einfluß einiger darmwirkender Arzneimittel auf die endogene Harnsäureausscheidung . . . . .	50
<b>Stepp, Wilhelm.</b>	Über das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen im Blute von Kranken (Diabetes mellitus, Nierenerkrankungen) . . . . .	60
<b>Verzár, F. und R. Beck.</b>	Die Änderung der Aussalzbarekeit von Bakterien der Typhusgruppe durch verschiedene Verhältnisse . . . . .	81
<b>Verzár, Fritz.</b>	Zur Frage des Nachweises der Permeabilitätsänderung des Nerven bei Narkose und Erregung. . . . .	98
<b>Zuntz, H.</b>	Über Veränderung der Eitersekretion bei peroraler Kochsalzzufuhr . . . . .	106
<b>Wacker, Leonhard.</b>	Kohlensäuredruck oder Eiweißquellen als Ursache der Muskelkontraktion? . . . . .	117
<b>A. Norgaard.</b>	Über die Pepsinbestimmung in achylischen Probemahlzeiten mit besonderer Berücksichtigung der Adsorption von deren festen Teilen . . . . .	145
<b>v. Euler, Hans und Arvid Hedelius.</b>	Über die Stabilität der $\alpha$ -Glucose . . . . .	150

# Studien über die Reduktion der Nitrite und Nitrate.

Von

Oscar Baudisch und Paul Mayer.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem und dem chemisch-technischen Institut der eidgenössischen Technischen Hochschule zu Zürich.)

(Eingegangen am 16. März 1920.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

## I. Einleitung.

Die Reduktion der Nitrite und Nitrate, welche bekanntlich über die verschiedenen Zwischenstufen,  $\text{MeNO}_3$ ,  $\text{MeNO}_2$ ,  $\text{MeNO}$  ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ),  $\text{NH}_2\text{OH}$  bis zu  $\text{NH}_3$  führt, ist eine in den verschiedenen Zweigen der Chemie sehr wichtige Frage. Präparativ und technisch ist sie von Bedeutung für die Darstellung dieser einzelnen Reduktionsprodukte, in der physiologischen Chemie interessiert sie im Zusammenhang mit der Stickstoffassimilation, in der analytischen Chemie ist sie zur Ausarbeitung verschiedener Bestimmungsmethoden von Nitriten und Nitraten verwandt worden.

Ihrer Wichtigkeit entsprechend ist schon viel über diese Frage gearbeitet worden, und es sollen hier die rein chemischen Arbeiten, bei welchen in neutraler oder alkalischer Lösung — wie in der vorliegenden Arbeit — reduziert wurde, kurz angeführt werden.

In erster Linie sei die Arbeit von W. Zorn (B. 15, 125) genannt, da dieser sowohl Nitrite als auch Nitrate ähnlich wie in dieser Arbeit, mit Ferrohydroxyd in der Kälte reduzierte. Er verwendet diese Methode zur Darstellung von untersalpetriger Säure, und gibt an, daß sich nebenbei große Mengen  $\text{N}_2\text{O}$  und ferner  $\text{NH}_3$  und  $\text{N}_2$  bildet.

Schönbein (Journ. f. prakt. Chemie 80, 257; 88, 460; 105, 208) erhielt durch längere Berührung von Nitratlösungen mit Wasserstoff Nitrit. Er stellte fest, daß alle Pflanzenstoffe, welche  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu katalysieren vermögen, auch Nitrate zu Nitriten reduzieren. Auch durch Elektrolyse, oder beim Umrühren mit einem Kadmium- oder Zinkstab, und beim Eintragen von K, Na, Pb, Zn, erhielt er ebenfalls aus Nitratlösungen Nitrite.

De Wilde (Bull. de l'acad. roy. Belge **25**, 560) bekam bei der Einwirkung von Natriumamalgam auf Alkalinitratlösung ein Gas, das aus etwa 40%  $N_2$  und 60%  $O_2$  besteht.

Maumené C. R. **70**, 149) erhielt bei der gleichen Reaktion einen Körper, der mit  $AgNO_3$ ,  $AgNO$  gab.

Frémy (C. R. **70**, 1207) erhielt hierbei zuerst Nitrite, weiter  $NH_2OH$ ,  $N_2$  und  $N_2O$ .

E. Divers (Lond. A. Soc. Proc. **19**, 425) bestätigte die Angaben Maumenés.

Schlösing (J. B. 1886, 63), Schönbein und Schür (Pharmaz. Einvierteljahrschriften **18**, 502), Vogelsohn (J. D. Bern 1907) bewirken eine solche Reduktion durch verschiedene in den Pflanzen vorkommende Körper.

Kippenberger (C. 1895, S. 434), erhält durch Einwirkung von Mg, Al, Zn, auf Nitratlösungen Wasserstoff, der das Nitrat zu Nitrit und dieses zu  $NH_3$  reduziert.

Boguski (J. russ. phys. Ges. **31**, 552), reduziert Natriumnitrit mit elektrolytischem Knallgas zu  $NH_3$ .

Angeli und Angelico (R. A. d. L. R **5**, 83) erhielten bei der Einwirkung von Stannochlorid auf Nitrit eine Flüssigkeit, die mit Aldehyd die Hydroxamsäurereaktion gab.

---

Eine ausführliche Zusammenstellung aller Arbeiten über die Nitrit- und die Nitratreduktion, auch solcher die vornehmlich physiologisches Interesse haben, befindet sich in der Zeitschrift für Physiologische Chemie (**89**, 195, 1914. O. Baudisch und E. Mayer, Photochemische Studien zur Nitrat- und Nitritassimilation.)

Schließlich sei noch auf die verschiedenen analytischen Arbeiten hingewiesen, wie sie in jedem Lehrbuch der analytischen Chemie zu finden sind.

Wenn wir alle die bekannten Methoden zur quantitativen Bestimmung und Trennung von Nitriten und Nitraten kritisch durchsehen und sie vom Standpunkt der allgemeinen Verwendbarkeit betrachten, so sehen wir, daß eigentlich aus dieser großen Anzahl Methoden nur wenige der Kritik standhalten.

Zunächst müssen wir in dieser Hinsicht von allen colorimetrischen und gasanalytischen Methoden absehen, obwohl gerade diese letzteren sehr genau sind. Sie erfordern eine besondere Apparatur, die nicht in jedem Laboratorium vorhanden ist, und besondere Übung und Vertrautheit. Für die Nitritbestimmung bleiben uns von diesem Standpunkte aus als erprobte Methoden nur die Titrationsmethode nach Lunge und Raschig. Auch die Lungesche Methode erfordert ziemliche Übung, um übereinstimmende Ergebnisse zu bekommen. Ihre Genauigkeit wird auf höchstens 0,3% angegeben.

Für die Bestimmung von Nitrat bleiben uns dann die ausgezeichnete Methode von Busch (Nitron) und einige titrimetrische Methoden. Sämtliche, sonst sehr einfache und elegante Methoden das Nitrat zu  $\text{NH}_3$  zu reduzieren und als solches zu bestimmen, sind nicht spezifisch, da vorhandenes Nitrit ebenfalls reduziert wird.

Bei den Trennungsmethoden für Nitrat-Nitritgemische, wie sie von A. Oelsner in der Zeitschr. f. angew. Chemie 1918, S. 170 und 178 zusammengestellt worden sind, fallen uns die Mängel ebenfalls auf. Außer der gasanalytischen Methode von Pellet und Meisenheimer und der angeblich nicht genauen Methode von Fischer und Steinbach erlaubt uns keine der Methoden in einer Probe beide Stoffe, Nitrit und Nitrat jedes für sich zu bestimmen.

Die meisten der Methoden sind Differenzmethoden, in denen der eine Bestandteil rechnerisch bestimmt wird durch die Differenz aus dem Gesamtstickstoff und dem Stickstoff aus dem anderen Bestandteil. Dabei werden also die bei den zwei ausgeführten Bestimmungen gemachten Fehler rechnerisch auf die dritte Bestimmung übertragen. Diese Fehler können bis zu 2% betragen, wie in der oben angeführten Zusammenstellung für die Methode von Winogradski angegeben ist.

Bei einigen dieser Methoden sind außerdem zwei getrennte Proben erforderlich, die eine zur Bestimmung des Gesamtstickstoffes, die andere zur Bestimmung des Stickstoffes des anderen Bestandteils. Hierbei addieren sich naturgemäß die bei den Probenahmen gemachten Fehler zu den oben erwähnten.

Aus diesen Gründen dürfte die in dieser Arbeit angegebene Methode zur Bestimmung und Trennung von Nitrit-Nitratgemischen ihre Berechtigung haben. Sie ist, bei gleicher Genauigkeit wie bei den bisher üblichen Methoden mit allgemein vorhandenen Reagenzien (Ferrosulfat und Alkalihydroxyd) ausführbar, braucht keine besondere Apparatur und ermöglicht bei Gemischen von Nitraten und Nitriten, beide Bestandteile in einer Probe getrennt zu bestimmen.

## II. Experimenteller Teil.

### A. Allgemeines.

Aus einer früheren Arbeit von Baudisch, (Über Nitrit- und Nitratassimilation XV. Eisen und Sauerstoff als notwendige Reagenzien für die Reduktion der Alkalinitrate B. 52, 40. 1919), geht hervor, daß Alkalinitrate nur in Gegenwart von Sauerstoff durch Ferrohydroxyd über Nitrite zu Ammoniak reduziert werden, während Nitrite auch in Abwesenheit von Sauerstoff glatt in Ammoniak übergehen.



Diese experimentellen Ergebnisse würden die Ansicht von Baudisch bekräftigen, daß das Nitratsauerstoffatom (damit bezeichnet Baudisch jenes Sauerstoffatom, welches durch Lichtenergie aus Nitraten abgespalten wird) eine prinzipiell andere Bindung am Stickstoff als das Nitritsauerstoffatom besitzen müsse, was symbolisch von ihm folgendermaßen ausgedrückt wird:



Bisher wurde allgemein angenommen, daß das Ferrohydroxyd sowohl auf Nitrat als auch auf Nitrit in gleicher Weise reduzierend wirkt, d. h. daß auf Kosten der sauerstoffhaltigen Nitrate und Nitrite in wässriger Lösung das Ferrohydroxyd zu Ferrihydroxyd oxydiert würde. Die Beobachtung, daß Sauerstoff für die Reduktion der Nitrate erforderlich ist, war mit den bisherigen Kenntnissen dieser und ähnlicher Vorgänge nicht erklärlich, und es war von Interesse, diesen Vorgang einer gründlichen systematischen Bearbeitung zu unterziehen.

Ferner war von Interesse, zu untersuchen, ob auf Grund dieser Erscheinung sich nicht eine quantitative Trennungsmethode von Nitrit-Nitratgemischen ermöglichen ließe.

Zur allgemeinen Orientierung soll der gedachte Arbeitsgang zunächst kurz voraus geschildert werden:

Zu einer bestimmten, in destilliertem Wasser gelösten Menge Nitrit bzw. Nitrat wurde die äquivalente Menge Ferrohydroxyd, d. h. Ferrosulfat und Alkalihydroxyd gegeben, das sich bildende  $\text{NH}_3$  in überschüssige Normalsäure überdestilliert, und aus der verbrauchten Menge Säure die Menge  $\text{NH}_3$  bzw. die Menge Substanz, welche reduziert wurde, bestimmt.

Dieser Versuch wurde dann unter Änderung der Bedingungen (Menge Ferrohydroxyd, Alkalinität) wiederholt, und es wurde untersucht, ob die Reduktion des Nitrites zu  $\text{NH}_3$  dabei so geleitet werden kann, daß sie quantitativ verläuft. Als dies gelang, wurde weiter untersucht, ob unter den so gefundenen Bedingungen auch in einem Gemisch von Nitrit und Nitrat dieses letztere bei Abwesenheit von Sauerstoff nicht reduziert wird, so daß eine quantitative Trennung nach diesem Prinzip

möglich wird. Schließlich wurden die Erscheinungen bei der Reduktion der Nitrate systematisch untersucht.

Es sei zunächst die für diese Untersuchungen sowie die für die quantitative Trennung benutzte Apparatur beschrieben. Da sie für das Gelingen der hier angegebenen Versuche eine ausschlaggebende Rolle spielt, ist es notwendig, diese Beschreibung ausführlich zu gestalten.

Es war erforderlich, eine Apparatur zu finden, die es ermöglichte, die zu untersuchende Substanz quantitativ unter Fernhaltung von Luft in den luftfrei gemachten Apparat zu bringen. Nach vielen eingehenden Versuchen und oftmaligen Abänderungen ist die nachstehend gezeichnete Anordnung als die einfachste und zweckentsprechendste gefunden worden.

Der etwa 1000 ccm fassende Erlenmeyer- oder Stehkolben *A* (Abb. 1), auf dem man mittels Fettstift eine Graduierung in 100 ccm anbringt, ist mit

einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch die eine Bohrung geht einer der für  $\text{NH}_3$ -Bestimmungen üblichen Aufsätze *B* mit damit verbundenem Kühlrohr *C* mit Sicherheitskugel. Im Notfalle genügt eine einfache entsprechend gebogene Glasröhre. Das Ende des Kühlrohres taucht in die

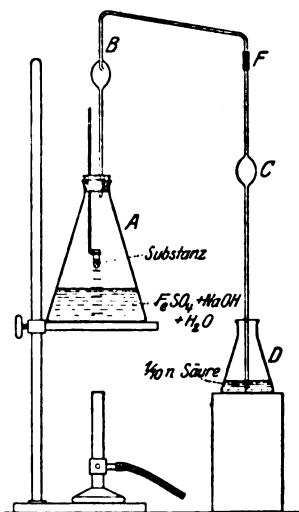


Abb. 1.

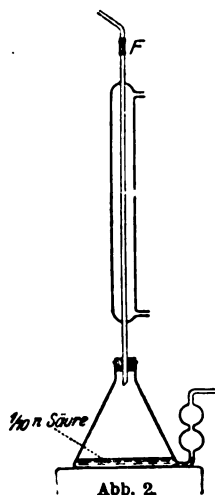


Abb. 2.

mit Normalsäure gefüllte Vorlage *D* ein. Wegen der Gefahr des Zurücksteigens der Säure ist ein Kühlrohr mit Sicherheitskugel stets zu empfehlen. Durch die andere Bohrung geht ein bis an den Boden des Kolbens reichender Glasstab *E*, der an seinem unteren Ende zu einem wagerechten Ring umgebogen ist. In diesem Ring hängt mit viel Spielraum ein

kleines Reagenzglaschen von etwa 5 ccm Inhalt (in der Mitte abgeschnittenes gewöhnliches Reagenzglas). Das Glaschen kann natürlich noch in anderer Weise, z. B. mittels Platindraht, an den Glasstab befestigt werden, wodurch man die Herstellung des Glasringes umgeht. Der Glasstab muß in seiner Bohrung dicht schließen, andererseits sich darin nicht zu schwer auf und abbewegen lassen, was man durch Schmieren mit etwas Öl oder Glycerin leicht erreicht.

Während in das Glaschen die in Wasser gelöste, zu untersuchende Substanz kommt, wird im Kolben das Reduktionsgemisch, bestehend aus Ferrosulfat, Alkalihydroxyd und Wasser, gründlich ausgekocht. Der Glasstab ist während der Zeit hochgezogen, so daß das Reduktionsmittel nicht zur Substanz gelangt. Nach etwa  $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen ist der Apparat luftfrei, die Vorlage wird eingesetzt und der Glasstab heruntergedrückt, so daß das Glaschen durch den Boden des Kolbens aus dem Ring herausgehoben wird und in den Kolben fällt. Die Reduktion beginnt, das  $\text{NH}_3$  wird abdestilliert, in der Vorlage absorbiert und dort durch Zurücktiteren der Säure mittels Lauge und Methylorange bestimmt.

Auf diese Weise gelingt es praktisch vollkommen unter Luftabschluß zu arbeiten. Alle anderen Mittel zur Verdrängung der Luft z. B. durch Einleiten von Stickstoff oder Wasserstoff sind komplizierter und führen kaum zum Ziel, da es sehr schwierig ist, diese Gase sauerstofffrei zu machen.

Daß bei dieser Arbeitsweise der Apparat tatsächlich sauerstofffrei ist, wurde wie folgt nachgeprüft:

Der Kolben wird mit einer Lösung von Alkalihydroxyd in Wasser gefüllt, während in das Glaschen wässrige Pyrogallol-lösung kommt. Nachdem  $\frac{1}{2}$  Stunde ausgekocht ist, wird das Glaschen heruntergedrückt. Die Flüssigkeit färbt sich wahrscheinlich durch die Alkaliverbindung des Pyrogallols hellrosa und nicht die Spur braun, wie das in Gegenwart von Sauerstoff der Fall ist. Nimmt man nun die Flamme und die Vorlage weg, so daß durch das Abkühlen Luft eingesaugt wird, so wird augenblicklich Sauerstoff absorbiert und die Lösung färbt sich an der Oberfläche braun.

Bei solchen Bestimmungen oder Versuchen, wo Luftabschluß nicht erforderlich ist, wird die Substanz gleich zu Anfang mit

dem Reduktionsmittel zusammen in den Kolben gegeben. Die ganze Vorrichtung mit dem Glasstab und das Auskochen fällt dementsprechend weg. In diesem Falle empfiehlt sich auch, an Stelle des gewöhnlichen Kühlrohres und der gewöhnlichen Vorlage einen Liebig'schen Kühler und eine Vorlage nach Varrentrap-Will einzuschalten (Abb. 2). Diese Anordnung gestattet in einfacher Weise das Ende der Reaktion zu erkennen, indem am Ende des Kühlrohres ein überdestillierender Tropfen aufgefangen und mit Neßlers Reagenz auf  $\text{NH}_3$  geprüft wird. Bei der Anordnung nach Abb. 1, wo das Kühlrohr in die Vorlage taucht und bis zum Schluß der Reaktion tunlichst nicht daraus entfernt werden darf, um ein Eindringen von Luft in den Kolben zu vermeiden, ist eine solche Probenahme nicht möglich. Zahlreiche Versuche haben jedoch ergeben, daß bei den angegebenen Mengen Substanz, die verwendet wird, das gesamte gebildete  $\text{NH}_3$  nach Abdestillieren von etwa 150 ccm sich in der Vorlage befindet.

Auch für die später geschilderte Trennung von Nitrit-Nitratgemischen empfiehlt sich diese letztere Apparatur, da man bei dem unbekanntem Gehalt des Gemisches den Endpunkt der Reaktion genau feststellen kann und somit oft viel Zeit spart. Der Apparat muß dann aber sehr gründlich, etwa eine Stunde, ausgekocht werden.

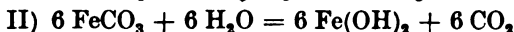
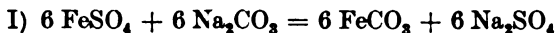
Eine weitere anfängliche Schwierigkeit war das außerordentlich starke Stoßen der Flüssigkeit beim Destillieren, das eine glatte Destillation unmöglich machte, sogar in einem Fall den Apparat zertrümmerte.

Nachdem die verschiedensten Mittel und Apparaturen dagegen ausprobiert worden waren, hat sich als sicherstes und einfachstes Mittel die Zugabe von etwa 10 Stück fingernagelgroßen porösen Tonscherben erwiesen. (Aus den üblichen porösen Tontellern.) Die Destillation verläuft damit, auch bei den stärksten Alkalikonzentrationen, vollkommen glatt.

Es sollen nun im folgenden die systematisch ausgeführten Versuche beschrieben werden.

**B. Reduktion der Nitrite.**

Ausgehend von der Gleichung:



werden im

Versuch 1: 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 3,3 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 4,5 g  $\text{FeSO}_4$  (wasserfrei) und 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  in den Kolben gegeben, erhitzt und das gebildete  $\text{NH}_3$  abdestilliert, bis ein übergelender Tropfen keine Gelbfärbung mit Nessler-Reagenz gibt. Die Vorlage enthält 15 ccm  $\frac{1}{2}$ n-Säure. 0,425 g  $\text{KNO}_2$  ( $\frac{1}{200}$  Mol) geben bei vollständiger Reduktion  $\frac{1}{200} \cdot 17 = 0,085$  g  $\text{NH}_3$ , entsprechend 10 ccm  $\frac{1}{2}$ n-Säure.

Verbraucht: 2 ccm Säure = 20% des sich theoretisch bildenden  $\text{NH}_3$ . Im Kolbenrückstand ist kein Nitrit mehr nachweisbar.

Versuch 2: Wie vorher mit der doppelten Menge an  $\text{Fe(OH)}_2$ , d. h. 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 6,6 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 9,9 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Verbraucht: 2,2 ccm Säure = 22%  $\text{NH}_3$ .

Versuch 3: Wie vorher, mit der dreifachen Menge  $\text{Fe(OH)}_2$ , d. h. 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 9,9 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 13,6 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Verbraucht: 2,6 ccm Säure = 26%  $\text{NH}_3$ .

Bei Verwendung auch von größeren Mengen an  $\text{Fe(OH)}_2$ , bis zum zehnfachen der theoretisch erforderlichen Menge, wird die Menge des erhaltenen  $\text{NH}_3$  kaum merklich größer.

Bei allen diesen Versuchen wird die Vorlage von einem lebhaften Gasstrom passiert. Das aufgefangene Gas wird durch den Geruch und durch das Entflammen eines glühenden Spanes als  $\text{N}_2\text{O}$  identifiziert.

Bei den nächsten Versuchen wurde nun die Menge des angewandten Alkalis vergrößert.

Versuch 4: Wie vorher, mit einem Alkaliüberschuß. 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 10 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 9,9 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Verbraucht 3,0 ccm Säure = 30%  $\text{NH}_3$ .

Versuch 5: Wie vorher, mit einem größeren Alkaliüberschuß. 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 20 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 9,9 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Verbraucht: 4,4 ccm Säure = 44%  $\text{NH}_3$ .

Versuch 6: Versuch 3 mit einem Alkaliüberschuß wiederholt. 0,425 g  $\text{KNO}_2$ , 15 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 13,6 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Verbraucht: 4,0 ccm Säure = 40%  $\text{NH}_3$ .

Aus den Versuchen 4, 5 und 6 geht hervor, daß freies Alkali die Reduktion im Sinne der  $\text{NH}_3$ -Bildung wesentlich beeinflusst.

Die nächsten Versuche zeigen den Einfluß der Temperatur.

Versuch 7: Wie Versuch 4, das feste Ferrosulfat wird jedoch nicht von vornherein, sondern erst in die kochende Lösung von Nitrit und Soda gegeben. Verbraucht: 4,0 ccm Säure = 40%  $\text{NH}_3$ .

Versuch 8: Wie vorher, das Ferrosulfat jedoch nicht fest, sondern gelöst kalt zugegeben. Verbraucht: 30% ccm Säure = 30%  $\text{NH}_3$ .

Versuch 9: Wie vorher, das Ferrosulfat jedoch gelöst, heiß zugegeben. Verbraucht: 3,5 ccm Säure = 35%  $\text{NH}_3$ .

Aus den Versuchen 4, 7, 8 und 9 geht hervor, daß die Form, in der das Reduktionsmittel zugegeben wird, keine Rolle spielt, die höhere Temperatur jedoch die  $\text{NH}_3$ -Bildung begünstigt.

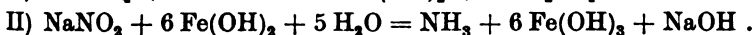
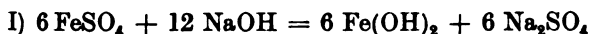
In all diesen Versuchen konnte  $\text{N}_2\text{O}$  neben  $\text{N}_2$  nachgewiesen werden. Im Kolbenrückstand war mit den üblichen Reagenzien kein Nitrit nachweisbar.

Es geht also aus dieser Versuchsreihe hervor, daß Nitrit von Ferrohydroxyd (aus Ferrosulfat mit Soda gefällt) in neutraler oder carbonat-alkalischer Lösung quantitativ reduziert wird, und zwar in der Hauptsache zu  $\text{NO}_2$  (60%) und  $\text{N}_2$  neben  $\text{NH}_3$  (40%).

Je höher die Temperatur und je stärker alkalisch die Lösung ist, desto mehr wird  $\text{NH}_3$  zuungunsten von  $\text{N}_2\text{O}$  gebildet.

Infolge dieser festgestellten Wirkung des Alkalis würde es vielleicht möglich sein, durch Arbeiten in stärker alkalischem Medium die  $\text{NH}_3$ -Bildung quantitativ zu gestalten. Die nächsten Versuche wurden daher mit Alkalihydroxyd an Stelle der Soda ausgeführt.

Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:



Um ein genaueres Arbeiten zu ermöglichen, wurde von nun ab in allen Versuchen als Substanz eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter, meist zwei, einer Normallösung von Natriumnitrit, enthaltend 69,1 g Natriumnitrit im Liter, verwandt. Aus dem gleichen Grunde wurde, um die Genauigkeit zu erhöhen,  $\frac{1}{10}$  n-Säure an Stelle der  $\frac{1}{2}$  n-Säure vorgelegt.

Versuch 10: Wie Versuch 5, jedoch mit Natriumhydroxyd an Stelle der Soda. 2,0 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Natriumnitritlösung = 0,1382 g  $\text{NaNO}_2$ , 0,96 g  $\text{NaOH}$ , 1,84 g  $\text{FeSO}_4$  (wasserfrei), 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  zusammengegeben, erhitzt und destilliert. 0,1382 g  $\text{NaNO}_2$  ergeben bei vollständiger Reduktion 0,034  $\text{NH}_3$ , entsprechend 20,0 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Säure. Vorgelegt wurden 25 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Säure. Verbraucht: 8 ccm = 40%  $\text{NH}_3$ .

Es entwickelt sich scheinbar etwas  $N_2O$ . Der Kolbenrückstand gibt noch eine starke Nitritreaktion.

Wie in den vorigen Versuchen wird in den nächsten Versuchen die Menge Ferrohydroxyd und die Alkalinität geändert. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle I, enthalten.

Tabelle I.

## Reduktion von Alkalinitrit durch Ferrohydroxyd.

Angewandt: je 0,1382 g  $NaNO_2$  in 500 ccm  $H_2O$ . Diese sollen bei vollständiger Reduktion geben 0,0340 g  $NH_3$ .

Versuch Nr.	FeSO <sub>4</sub> in g	NaOH in g	Äquivalent		Entstandenes NH <sub>3</sub>		Bemerkung
			Fe(OH) <sub>2</sub>	freier NaOH	in g	theoret. Menge in %	
10	1,84	0,96	1	0(neutr.)	0,0136	40,0	Im Rückstand HNO <sub>2</sub> und N <sub>2</sub> O gebildet.
11	3,68	1,92	2	0(neutr.)	0,03098	87,0	dgl.
12	3,68	2,88	2	1	0,03111	91,5	Im Rückstand NO <sub>2</sub> , kein HN <sub>2</sub> O gebildet.
13	3,68	3,84	2	2	0,03102	88,0	dgl.
14	3,68	4,80	2	3	0,03102	88,0	dgl.
15	3,68	5,76	2	4	0,03098	87,0	dgl.
16	3,68	6,72	2	5	0,02941	86,5	dgl.
17	3,68	8,64	2	7	0,03128	92,0	dgl.
18	5,50	2,88	3	0(neutr.)	0,03315	97,5	Im Rückstand keine HNO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O gebildet.
19	5,50	3,86	3	1	0,0340	100,0	Im Rückstand keine HNO <sub>2</sub> , kein N <sub>2</sub> O gebildet.
20	5,50	20,00	3	17	0,0340	100,0	dgl.
21	5,50	33,00	3	30	0,0340	100,0	dgl.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Menge gebildeten  $NH_3$  bzw. Nitrites, welches reduziert wird, von der Menge des Reduktionsmittels abhängt. Ist dies in genügendem Überschuß da, so ist die Reduktion eine quantitative (Versuch 19). Es bildet sich in der Hauptsache  $NH_3$  neben etwas  $N_2O$ . Enthält die Lösung freies Alkali, so wird kein  $N_2O$  gebildet und bei genügendem Überschuß (dem dreifachen der berechneten Menge) an Ferrohydroxyd geht demnach die Reduktion, was bis jetzt nicht bekannt war, quantitativ bis zu  $NH_3$ .

Die Alkalimenge spielt hierbei keine Rolle, wie aus Versuch 2 bis 17 zu ersehen ist. Trotz wachsender Alkalinität wird ein Teil Nitrit nicht reduziert, da nicht genügend Reduktionsmittel vorhanden ist. Dies ist leicht aus der festen Form des Ferro-

hydroxydes erklärlich, da es in dieser Form der Nitritlösung weniger Angriffsfläche bietet, als wenn es in gelöster Form vorhanden wäre. Ein Teil des Ferrohydroxydes bleibt daher aus rein mechanischen Gründen unwirksam.

Nun mußte auch nachgeprüft werden, ob unter den gleichen Umständen unter Luftabschluß die Reduktion auch quantitativ verläuft.

Versuch 22—24: Die Versuche 19—24 werden, wie im allgemeinen Teil angegeben, unter Luftabschluß wiederholt. Das Ergebnis ist das gleiche wie das aus der Tabelle I ersichtliche; es werden genau die gleichen Werte erhalten, und das Nitrit wird stets quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert. Durch eine Reihe Kontrollversuche mit wechselnden Mengen Nitrit wurde dies Ergebnis bestätigt.

### Zusammenfassung der Ergebnisse über die Nitritreduktion.

Nitrit wird von überschüssigem Ferrohydroxyd in neutraler oder alkalischer Lösung quantitativ reduziert. In kochender carbonatalkalischer Lösung bildet sich dabei in der Hauptsache  $\text{N}_2\text{O}$  neben  $\text{NH}_3$ . In kochender kaustisch-alkalischer Lösung geht hingegen die Reduktion quantitativ bis zu  $\text{NH}_3$ .

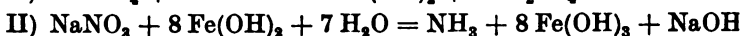
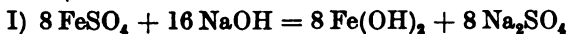
### C. Reduktion der Nitrate.

Da das Endziel der Arbeit die quantitative Trennung von Nitrit und Nitrat war, wurde hier nur die Reduktion durch Ferrohydroxyd in kaustisch-alkalischer Lösung untersucht, da, wie aus dem vorigen Abschnitt hervorgeht, nur in einer solchen Lösung das Nitrit quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert wird.

Nach den bisher gemachten Erfahrungen waren vor allem zwei Punkte zu untersuchen: der Einfluß des Alkalis und der Einfluß des Sauerstoffes.

#### 1. Einfluß des Alkalis.

Von der Gleichung:



ausgehend, werden im

Versuch 25: 2,0 ccm  $\frac{1}{1}$ n-Natriumnitratlösung = 0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 1,3 g  $\text{NaOH}$ , 2,4 g  $\text{FeSO}_4$  (wasserfrei) und 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  zusammengegeben, erhitzt, und das gebildete  $\text{NH}_3$  abdestilliert.



0,1702 g  $\text{NaNO}_2$  geben bei vollständiger Reduktion 0,034 g  $\text{NH}_3$ , entsprechend 20,0 ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure. Vorgelegt wurden 25,0 ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure. Verbrauch: 12,4 ccm Säure = 62% der theoretisch sich bildenden Menge  $\text{NH}_3$ .

Das ausfallende Ferrohydroxyd verfärbt sich viel langsamer und nicht so intensiv wie bei den gleichen Versuchen mit Nitrit. Eine Gasentwicklung wurde nicht beobachtet. Im Kolbenrückstand ist mit Diphenylamin noch stark  $\text{HNO}_3$  nachweisbar, mit Griesschem Reagens keine  $\text{HNO}_3$ . Die Reduktion verlief also nicht quantitativ. Nach den beim Nitrit gemachten Erfahrungen liegt dies wahrscheinlich an der ungenügenden Menge des Reduktionsmittels.

Tabelle II.

## Reduktion von Alkalinitrat durch Ferrohydroxyd.

Angewandt: 0,1702  $\text{NaNO}_2$  in 500 ccm Wasser; daraus entstehen bei vollständiger Reduktion 0,0340 g  $\text{NH}_3$ .

Nr.	FeSO <sub>4</sub> in g	NaOH in g	Äquivalent		Konzentration der freien NaOH in %	Entstandenes NH <sub>3</sub>		Bemerkung
			Fe(OH) <sub>2</sub>	freie NaOH		in g	der theor. Menge in %	
25	2,4	1,3	1	0 (neutr.)	0 (neutr.)	0,02108	62	Im Rückstand HNO <sub>3</sub>
26	4,8	2,6	2	0 "	0 "	0,0340	100	Im Rückstand keine HNO <sub>3</sub>
27	4,8	3,2	2	$\frac{1}{2}$	0,12	0,02244	66	Im Rückstand HNO <sub>3</sub>
28	4,8	3,9	2	1	0,26	0,01309	38,5	" "
29	4,8	5,2	2	2	0,52	0,00952	28	" "
30	4,8	6,5	2	3	0,78	0,00544	16	" "
31	4,8	7,8	2	4	1,04	0,00476	14	" "
32	4,8	9,1	2	5	1,30	0,00425	12,5	" "
33	4,8	18,0	2	11,8	3,08	0,00344	10	" "
34	4,8	20,0	2	12	3,10	0,00323	9,5	" "
35	4,8	23,2	2	15,8	4,14	0,00306	9	" "
36	4,8	27,0	2	18,7	4,88	0,00289	8,5	" "
37	4,8	35,1	2	25	6,50	0,00187	5,5	" "
38	4,8	36,0	2	25,7	6,68	0,00153	4,5	" "
39	4,8	38,0	2	27,2	7,08	0,00187	5,5	" "
40	4,8	41,6	2	30,0	9,80	0,00221	6,5	" "
41	4,8	54,0	2	39,6	10,30	0,00255	7,5	" "
42	4,8	72,0	2	53,3	13,90	0,00381	11,5	" "
43	4,8	90,0	2	67,2	15,50	0,00476	14	" "
44	4,8	108,0	2	81,0	21,10	0,00986	29	" "
45	4,8	144,0	2	108,8	28,30	0,03400	100	" keine HNO <sub>3</sub>
46	4,8	180,0	2	136,0	35,50	0,03400	100	Im Rückstand keine HNO <sub>3</sub>

Es wird nun in den weiteren Versuchen die Menge  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  und die Alkalinität gesteigert. Die Ergebnisse sind in der Tabelle II, S. 12 enthalten, und in den beiden Kurven ist die Wirkung des Alkalis verzeichnet

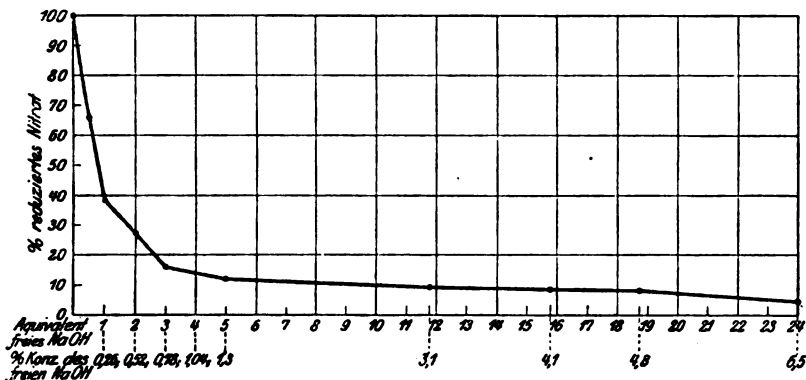


Abb. 8.

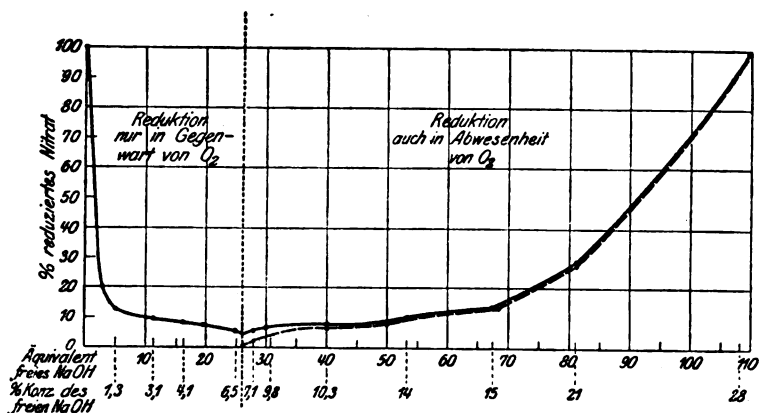


Abb. 4.

Es sei gleich hier vorausbemerkt, daß die Reihenfolge, in welcher die einzelnen Bestandteile in den Kolben gegeben werden, die Zeit, welche sie bis zum Erhitzen zusammen sind, ob der Kolben mit seinem Inhalt ruhig stehengelassen wird oder ob man ihn vorher umschüttelt, die Art des verwendeten Wassers, eine große Rolle spielt und die Ergebnisse wesentlich beeinflusst. Die Erklärung hierfür gibt der nächste Abschnitt, in welchem der Einfluß des Sauerstoffes studiert wird.

Die in der Tabelle II und in den Kurven angegebenen Werte sind daher keine absoluten Werte. Da aber stets unter den gleichen Bedingungen gearbeitet wurde, sind es gute Vergleichswerte.

Im einzelnen wurde wie folgt gearbeitet:

Es wurde die Apparatur nach Abb. 2 verwandt. In den Kolben wurden zunächst 400 ccm destilliertes Wasser gegeben, das aus einem großen Glasballon entnommen war, darin die bestimmte Menge NaOH aufgelöst, 2 ccm  $\frac{1}{1}$  n-Nitratlösung hineinpipettiert, dann das in 100 ccm destilliertem Wasser aufgelöste wasserfreie Ferrosulfat hineingeschüttet, der Kolben verschlossen, ein mal kräftig durchgeschüttelt und destilliert, bis ein übergehender Tropfen keine Gelbfärbung mit Nesslers Reagens gibt, bzw. wurden 150 ccm abdestilliert (s. weiter unten).

Aus der Tabelle und den Kurven ersieht man, daß das Nitrat durch überschüssiges Ferrohydroxyd in neutraler Lösung quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert wird. Mit steigendem Gehalt der Lösung an freiem, also nicht durch Ferrosulfat verbrauchtem Alkali nimmt die Menge des gebildeten  $\text{NH}_3$  bzw. des Nitrates, welches reduziert wird, da sich ja anscheinend keine anderen Reduktionsprodukte bilden, vollkommen gesetzmäßig ab, bis sie bei einem Alkaligehalt der Lösung von 25—27 Äquivalenten, d. h. 6,5—7% NaOH am kleinsten ist. Von da ab wird sie wieder größer und zwar vollkommen regelmäßig und bei einem Gehalt der Lösung von etwa 100 Äquivalenten, d. h. 28% NaOH und darüber ist das Nitrat wieder quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert.

Wie bereits bemerkt, sind alle Werte der Versuche 27—44 nur Vergleichswerte. Bei den Versuchen 26—38 bedeuten sie die Menge  $\text{NH}_3$ , die bei der angegebenen Arbeitsweise erhalten wird vom Beginn der Destillation bis zum Verschwinden der Gelbfärbung mit Nesslers Reagens. Bei den Versuchen 39—46, wo  $\text{NH}_3$  von Anfang an in steigendem Maße entwickelt wird, bedeuten sie die Menge  $\text{NH}_3$ , die mit 150 ccm Flüssigkeit in die Vorlage hinüberdestilliert. Würde man weiter destillieren, so würde, wenn die erforderliche Konzentration erreicht ist, auch das ganze Nitrat reduziert werden.

Je nachdem in den einzelnen Versuchen mehr oder weniger des vorhandenen Nitrates reduziert wird, ist auch die Verfärbung des Ferrohydroxydes verschieden. Das Ferrohydroxyd fällt

zunächst weiß bis grünlich aus, je nach dem Sauerstoffgehalt der Lösung. In neutraler Lösung färbt es sich beim Erhitzen bald dunkel und beim Kochen schwarz, jedoch langsamer und weniger intensiv als bei den Versuchen mit Nitrit. Je stärker die Alkalinität, desto länger bleibt die ursprüngliche Farbe bestehen und desto weniger verfärbt es sich. Bei dem tiefsten Punkt der Kurve, also bei einem Alkaligehalt der Flüssigkeit von 6,7% bleibt es fast ganz weiß und färbt sich nur zuletzt etwas gräulich. Bei stärkeren Konzentrationen bleibt die Farbe zunächst ganz weiß, schlägt dann aber in der heißen nitrathaltigen Lösung plötzlich in grau, später in schwarz um. Je größer die Alkalinität ist, desto schneller kommt wieder Umschlag. Wie später gezeigt wird, sind diese Erscheinungen auf die Wirkung des vorhandenen in Wasser gelösten Sauerstoffes zurückzuführen, bzw. auch auf den in starkem Alkali aus dem Nitrat und Nitrit abgespaltenen.

Diese Wirkung des Alkalis läßt sich durch folgenden anschaulichen Versuch, der sich gegebenenfalls gut zum Vorlesungsversuch eignet, sehr schön zeigen.

Versuch 47: Versuch 34 wird wiederholt, jedoch ohne Vorlage. Von der übergelassenen Flüssigkeit werden vom Beginn der Destillation an in bestimmten Zeitabständen 5 Tropfen aufgefangen und mit Nessler'schem Reagens geprüft. Das Ergebnis ist in der Tabelle III verzeichnet.

Die Intensität der Gelbfärbung gibt also genau das Bild der Kurve.

Tabelle III.

Wirkung der Alkalikonzentration auf die Nessler'sche Reaktion.

0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 20,0 g  $\text{NaOH}$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$  wasserfrei, 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  erhitzt und destilliert.

Dauer des Versuches in Minuten	Kolbeninhalt in ccm	Berechnete Alkalikonz. in %	Nessler'sche Reaktion
00	500	3,5	sehr stark, voluminöse braune Fällung
10	450	3,8	stark, braune Fällung
20	400	4,3	schwach, braune Trübung
30	350	4,9	sehr schwach, gelbe Färbung
40	300	5,8	bleibt aus, farblos
50	250	6,7	sehr schwach, gelbe Färbung
60	200	8,7	schwach, braune Trübung
70	150	11,6	stark, braune Fällung
80	100	17,4	sehr stark, volum. braune Fällg., $\text{NH}_3$ -Geruch

Dieser Versuch wird nun mit einer Alkalikonzentration wiederholt, die einem Werte in der rechten Hälfte der Kurve entspricht.

Versuch 48: Wie Versuch 47, jedoch mit 54 g NaOH, gleich 10% freies Alkali.

Die Erscheinungen sind die gleichen wie bei Versuch 47. Die anfänglich starke Gelbfärbung mit Nessler's Reagens nimmt schnell ab, verschwindet jedoch nie ganz, und nimmt dann wieder bis zur ursprünglichen Stärke zu.

Auch bei stärkeren Alkalikonzentrationen ist das Bild das gleiche: Im Anfang intensive Gelbfärbung, dann Abnehmen derselben und wieder Zunehmen bis zur ursprünglichen Stärke. Je größer die Alkalikonzentration, desto schneller wird der schwächste Punkt erreicht. Für Demonstrationszwecke eignet sich daher ein Versuch mit stärkerer Alkalikonzentration der Zeitersparnis wegen besser.

Nach der Kurve dürfte bei starken Alkalikonzentrationen die Intensität der Reaktion nicht abnehmen, sondern müßte, entsprechend der gesteigerten Reduktion, zunehmen; dieser Versuch läßt daher vermuten, daß außer der Alkalikonzentration noch ein anderer Faktor auf die Reduktion der Nitrate einwirken muß.

Dieser Faktor ist der Sauerstoff, wie aus den weiteren Versuchen hervorgeht.

## 2. Einfluß des Sauerstoffes.

Die anfänglich ausgesprochene Vermutung, daß Nitrat in Abwesenheit von Sauerstoff nicht reduziert wird, konnte nach den letzten Versuchen nicht mehr in dieser absoluten Form aufrecht erhalten werden.

Aus Versuch 47 war hervorgegangen, daß, nachdem ein gewisser Teil Nitrat reduziert war, die Reduktion zunächst aufhörte. Wenn angenommen wird, daß Sauerstoff für die Reduktion erforderlich ist, so könnte diese Erscheinung mit dem Verbrauch des vorhandenen Sauerstoffes erklärt werden. Nun setzt aber bei weiterem Kochen, obwohl durch das lange Kochen der Apparat sicher luftfrei ist und von außen keine Luft eindringen kann, bei einem gewissen Gehalt der Flüssigkeit an Alkalihydroxyd die Reaktion wieder ein.

Es war daher anzunehmen, daß die von Baudisch beobachtete Erscheinung (keine Reduktion des Nitrates in Abwesenheit von Sauerstoff) nur in gewissen Grenzen stattfindet, und daß sie mit der Alkalinität der Lösung zusammenhängt.

Die Vermutung lag nahe, daß die Einwirkung des Sauerstoffes wahrscheinlich nur bis zur Alkalikonzentration von 6,7% NaOH (tiefster Punkt der Kurve) stattfindet.

Um dies aufzuklären, wurden die Versuche 26—46 wiederholt, jedoch in Abwesenheit von Luft. Sonst waren die Bedingungen und die Arbeitsweise genau die gleichen. Es wurden stets 150 ccm Flüssigkeit abdestilliert, da erfahrungsgemäß darin bei den angewandten Mengen Nitrat das ganze gebildete  $\text{NH}_3$  enthalten ist.

Tabelle IV enthält die Ergebnisse. In der letzten Rubrik sind die Werte aus der Tabelle III diesen gegenübergestellt.

Tabelle IV.

Reduktion der Alkalinitate durch Ferrohydroxyd in Gegenwart und in Abwesenheit von Sauerstoff.

0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  erhitzt und destilliert.

Versuch Nr.	NaOH in g	Äquivalent		Vom angewandten Nitrat wurden reduziert	
		freier	NaOH in %	mit Sauerstoff in %	ohne Sauerstoff in %
49	2,6	0 (neutr.)	0	100	0
50	4,0	1	0,28	38,5	0
51	9,1	5	1,38	12,5	0
52	20,0	12	3,1	9,5	0
53	27,0	18,7	4,9	8,5	2 <sup>1)</sup>
54	35,1	25	6,5	5,5	5,5 <sup>1)</sup>
55	90,0	67,2	15,5	14,0	74 <sup>1)</sup>
56	144,0	108,0	28,3	100,0	100,0 <sup>1)</sup>

Die Versuche bestätigen also vollkommen die ausgesprochene Vermutung: Der Einfluß des Sauerstoffes macht sich nur bis zu einer gewissen Alkalikonzentration (6,5% NaOH) geltend, deren Wert dem tiefsten Punkt der Kurve S. 13 entspricht.

Bei Versuch 52 ist die Konzentration des Alkalis zu Anfang des Versuches:  $\frac{20 - 2,6}{500} = 3,1\%$ .

20 = angewandte Menge NaOH,

2,6 = durch  $\text{FeSO}_4$  gebundenes NaOH,

500 = Menge Wasser.

Nach Abdestillieren von 150 ccm Flüssigkeit ist die Konzentration des Alkalis:  $\frac{20 - 2,6}{350} = 4,9\%$ .

<sup>1)</sup> Nach Abdest. von 150 ccm.

Der tiefste Punkt der Kurve ist noch nicht erreicht. Da kein Sauerstoff vorhanden ist, wird Nitrat nicht reduziert.

Bei Versuch 53 ist die Konzentration des Alkalis zu Anfang des Versuches:  $\frac{27 - 2,6}{500} = 4,9\%$ .

Nach Abdestillieren von 150 ccm Flüssigkeit ist die Konzentration des Alkalis:  $\frac{27 - 2,6}{350} = 6,9\%$ .

Der tiefste Punkt der Kurve ist erreicht und überschritten: Es wird auch in Abwesenheit von Sauerstoff Nitrat reduziert, und zwar bei dieser Endkonzentration 2% des vorhandenen Nitrates. Entsprechend der Endkonzentration sind auch die in den Versuchen 53—56 erhaltenen Werte.

Die für diese Werte gezeichnete Kurve beginnt also bei einem Alkaligehalt der Flüssigkeit von 6,5% mit 0% Reduktion vom vorhandenen Nitrat, erreicht dann bald die erste Kurve (Reduktion in Gegenwart von Luft) und läuft dann mit dieser zusammen.

Zur Reduktion von Alkalinitrat ist also Sauerstoff erforderlich, sofern der Alkaligehalt der Flüssigkeit 6,5% NaOH nicht übersteigt. In auffälliger Weise zeigt dies Versuch 49, bei welchem in Gegenwart von Sauerstoff das Nitrat quantitativ bei Abwesenheit von Sauerstoff überhaupt nicht reduziert wird.

Hiermit ist auch Versuch 47 und 48 erklärt: Bei Versuch 47 entsteht infolge der Abwesenheit von Sauerstoff zunächst eine starke Reduktion und  $\text{NH}_3$ -Bildung, was durch die starke Gelbfärbung mit Nesslerschem Reagens angezeigt wird. Der Sauerstoff wird aufgebraucht bzw. durch das Kochen vertrieben, parallel damit geht die Abnahme der Menge Nitrat, welche reduziert wird mit zunächst zunehmender Alkalikonzentration, Schwächerwerden der Gelbfärbung. — Der Sauerstoff ist ganz vertrieben: Verschwinden der Gelbfärbung. Diese bleibt solange verschwunden, bis die Alkalikonzentration der Flüssigkeit 6,5% erreicht hat, dann beginnt die Einwirkung des Alkalis: Wiederauftreten und Zunehmen der Gelbfärbung.

Bei Versuch 48 überwiegt zunächst die Wirkung des Sauerstoffs: starke Gelbfärbung. — Der Sauerstoff wird bald auf-

gebraucht bzw. durch das Kochen vertrieben: Schwächerwerden der Gelbfärbung. Sie verschwindet jedoch nie ganz, da die Konzentration der Lauge bereits 6,5% überschritten hat und die Lauge also von Anfang an neben dem Sauerstoff auf die Reduktion einwirkt. — Mit zunehmender Konzentration der Lauge nimmt die Gelbfärbung wieder zu.

Je größer die Anfangskonzentration der Lauge ist, desto mehr überwiegt deren Einfluß: schnelleres und weniger starkes Abnehmen und schnelleres Wiedertzunehmen der Gelbfärbung.

Auch bei diesen Versuchen ist wieder die Verfärbung des Ferrohydroxydes ein Maßstab für die Reduktion des Nitrates. In den Versuchen, wo kein Nitrat reduziert wird, bleibt das Ferrohydroxyd vollkommen weiß.

Es mußte nun noch untersucht werden, ob die Wirkung des Sauerstoffes nur von seiner Anwesenheit abhängt, also gewissermaßen eine katalytische Reaktion vorliegt, oder ob unter den gleichen Bedingungen die Menge Nitrates, welches reduziert wird, auch von der Menge vorhandenen Sauerstoffes abhängt.

Versuch 57: Versuch 35, bei welchem 10% des vorhandenen Nitrates reduziert werden waren, wird wiederholt, und es wird während des Destillierens Sauerstoff durchgeleitet.

Erhalten: 10% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Dies war zunächst unerwartet, da doch anzunehmen war, daß in diesem Fall bedeutend mehr Nitrat reduziert wird.

Verschiedene Beobachtungen deuteten jedoch daraufhin, daß nur der in der Flüssigkeit vorhandene gelöste Sauerstoff wirksam ist.

Es wurde nun verschieden sauerstoffhaltiges Wasser bzw. sauerstoffhaltige Lauge hergestellt, und damit 2 Serien Versuche mit zwei verschiedenen Alkalikonzentrationen ausgeführt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle V, S. 20 enthalten.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in verschiedener Hinsicht wichtig. Sie tragen vor allem zur theoretischen Aufklärung dieser Erscheinungen wesentlich bei.

Zunächst zeigt die Tabelle V einwandfrei, daß die Menge des vorhandenen Nitrates, welches reduziert wird, proportional der Menge gelösten Sauerstoffes ist. Bei der Versuchsreihe b



Tabelle V.

Einfluß der Menge gelösten Sauerstoffes auf die Menge bei der Nitratreduktion entstehenden  $\text{NH}_3$ .

Reihe a) 0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 3,9 g  $\text{NaOH}$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$ , wasserfrei, 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  (1 Äqu.  $\text{NaOH}$ ); Reihe b) 0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 18,0 g  $\text{NaOH}$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$ , wasserfrei, 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  (12 Äqu.  $\text{NaOH}$ ).

Versuchsbedingung	Versuch Nr.	a		Versuch Nr.	b		Bemerkungen
		Entstandenes $\text{NH}_3$			Entstandenes $\text{NH}_3$		
		in g	theoret. Menge in %		in g	theoret. Menge in %	
In sauerstoffreiem Wasser	50	0	0	52	0	0	Siehe Tabelle IV.
In ungenügend ausgekocht. Wasser	58	0,0046	13,5	65	0,0024	7,0	Ca. 5 Minuten ausgekocht u. dann erkalten gelassen.
Mit gewöhnlichem destilliert. Wasser.	59	0,0085	25,0	66	0,0034	10,0	Siehe Tabelle II.
In dieses Wasser vorher $\frac{1}{2}$ Stunde $\text{O}_2$ eingeleit., dann damit den Versuch ausgeführt	60	0,0090	26,5	67	0,0039	11,6	Da d. Wasser mit Luft gesättigt ist, nimmt es wenig $\text{O}_2$ auf.
In die Lösung von $\text{NaOH}$ in 500 ccm $\text{H}_2\text{O}$ $\frac{1}{2}$ Stunde $\text{O}_2$ eingeleitet, dann damit den Versuch ausgeführt	61	0,0109	32,0	68	0,0048	14,0	In Lauge ist $\text{O}_2$ leichter löslich wie in Wasser.
Wie Vers. 60. — Das $\text{H}_2\text{O}$ wird vor dem $\text{O}_2$ -Einleit. durch Kochen luftfrei gemacht	62	0,0116	34,0	69	0,0051	15,0	Das luftfreie $\text{H}_2\text{O}$ absorbiert entspr. mehr $\text{O}_2$ .
Wie vor., jedoch mit der Lösung des $\text{NaOH}$ in $\text{H}_2\text{O}$	63	0,0133	39,0	70	0,0056	16,0	Die luftfr. Lauge absorb. entspr. mehr $\text{O}_2$ .
In das Gemisch von $\text{NaNO}_3$ , $\text{NaOH}$ , $\text{FeSO}_4$ , $\text{H}_2\text{O}$ , in der Kälte $\frac{1}{2}$ St. $\text{O}_2$ eingeleit., dann erst erhitzt und destilliert	64	0,0231	68,0	71	0,005	16,5	Bei 68 wird d. Gemisch während des $\text{O}_2$ -Einleitens schwarz. Bei 71 ändert d. $\text{Fe}(\text{OH})_2$ die Farbe nicht.

sind die erhaltenen Werte entsprechend der Wirkung des stärkeren Alkalis kleiner als in der Versuchsreihe a, doch steigen sie auch hier mit der Menge gelösten Sauerstoffes, wenn auch weniger schnell.

Diese Proportionalität mit der Menge gelösten Sauerstoffes wird auch durch folgende Überlegung und durch folgenden Ver-

sich klar bewiesen: Bei Versuch 33, Tabelle II, S. 12, wurde bei Anwendung von 0,1702 g  $\text{KNO}_3$ , 18 g  $\text{NaOH}$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$  wasserfrei, und 500 ccm Wasser 10% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Ist obige Annahme richtig, so muß mit der halben Menge Wasser bei sonst proportional gleichbleibenden Bedingungen auch proportional nur die halbe Menge Nitrat reduziert werden.

Versuch 57: 0,0851 g  $\text{NaNO}_3$ , 9 g  $\text{NaOH}$ , 2,4 g  $\text{FeSO}_4$ , 250 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  erhitzt und destilliert.

Verbraucht: 0,5 ccm Säure = 5% des vorhandenen Nitrates reduziert. Die obige Annahme ist somit bestätigt.

Zur Tabelle V, S. 20 zurückkehrend, fällt hier am meisten das proportional viel stärkere Ansteigen der Menge Nitrates, welches reduziert wird, mit dem Sauerstoffgehalt in der Reihe a (schwach alkalisch) wie in der Reihe b (stark alkalisch) auf. Besonders auffallend ist dies bei den Versuchen 64 und 71, wo durch das Einleiten des Sauerstoffes in das ganze Reaktionsgemisch die Menge Nitrates, welches reduziert wird, in der schwach alkalischen Lösung sprunghaft von 39% auf 68% der vorhandenen Nitratmenge schnell, während sie in der stark alkalischen Lösung kaum merklich gesteigert wird.

Diese Tatsache bildet einen wesentlichen Stützpunkt, der theoretischen Erklärung dieser Reduktionsvorgänge (siehe Theoretischer Teil).

Bei Versuch 64 ist scheinbar der eingeleitete Sauerstoff vom Ferrohydroxyd aufgenommen worden, was schon aus der Verfärbung des Ferrohydroxydes vermutet werden kann. Wahrscheinlich bildet sich dabei eine Ferro-Ferriverbindung. In stark alkalischer Lösung nimmt nach Versuch 71 das Ferrohydroxyd scheinbar keinen Sauerstoff mehr auf.

Um diese Annahme nachzuprüfen, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Versuch 73. Je eine bestimmte Menge  $\text{FeSO}_4$ , in je einer bestimmten Menge Wasser in zwei gleichen Kolben gelöst, wird einmal durch schwache Lauge und einmal durch starke Lauge gefällt. Beide Kolben werden die gleiche Zeit mit Luft geschüttelt. In der schwachen Lauge hat sich Ferrohydroxyd stark dunkel gefärbt, in der starken Lauge hat es seine ursprüngliche weißgrünliche Farbe behalten.

Dies würde die obige Annahme bestätigen.

Nach Versuch 64 ist anscheinend der durch das Ferrohydroxyd absorbierte Sauerstoff der bei der Reduktion wirksame Bestand-

teil; auch war es aufgefallen, daß bei der öfteren Wiederholung der Versuche 26—46 trotz anscheinend vollkommen gleichem Arbeiten verschiedene Mengen des vorhandenen Nitrates reduziert wurden. Alle hielten sich aber um zwei voneinander abweichende Werte herum. So z. B. bei Versuch 28 Werte um 25% der vorhandenen Nitratmenge einerseits und 14% andererseits. Da stets das aus dem gleichen verschlossenen Gefäß entnommene Wasser gebraucht wurde, konnten diese großen Abweichungen nicht mit dem verschiedenen Sauerstoffgehalt des Wassers erklärt werden. Bereits gemachte Beobachtungen ließen darauf schließen, daß die Reihenfolge, in welcher das Nitrat und das Reduktionsmittel in den Kolben gegeben werden, eine Rolle spielt. Die Versuche 74—79, Tabelle VI beweisen diese Annahme.

Tabelle VI.

Wirkung der Arbeitsweise auf die Reduktion der Alkalinistrate.

0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 3,9 g  $\text{NaOH}$ , 4,8 g  $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ , erhitzt und destilliert.

Versuch Nr.	Arbeitsweise	Vom vorhandenem Nitrat % reduziert
74	3,9 g $\text{NaOH}$ in 400 ccm Wasser gelöst, 2 ccm Nitratlösung hineinpipettiert, dann 4,8 g $\text{FeSO}_4$ in 100 ccm Wasser gelöst zugegeben, einmal umgeschwenkt sofort erhitzt.	25,0
75	Wie vor, vor dem Erhitzen 15 Minuten stehen gelassen.	25,5
76	3,9 g $\text{NaOH}$ in 400 ccm Wasser gelöst, 4,8 g $\text{FeSO}_4$ in 100 ccm Wasser gelöst zugegeben, einmal durchgeschüttelt, dann 2 ccm Nitratlösung hineinpipettiert und erhitzt.	13,5
77	Wie vor, zwischen Hineingabe von $\text{FeSO}_4$ und $\text{NaOH}$ , 15 Minuten stehen gelassen.	13,0
78	Mit 0,1702 g $\text{NaNO}_3$ , 1,8 g $\text{NaOH}$ , 4,8 $\text{FeSO}_4$ , 500 ccm $\text{H}_2\text{O}$ . Wie Versuch 74.	7,0
79	Wie Versuch 76.	4,0

Um dies weiter zu verfolgen, wurden noch folgende 2 Versuche ausgeführt:

Versuch 80. Gewöhnliches destilliertes Wasser wurde durch halbstündiges Einleiten von Sauerstoff mit solchem gesättigt und damit Versuch 76 unter vollkommen gleichen Bedingungen (Zeit, Flammenstärke) wiederholt.

Nach Hineingabe des Ferrosulfates wird der Kolben kräftig durchgeschüttelt. Das Ferrohydroxyd färbt sich dunkelgrün. Dann wird das Nitrat zugegeben und erhitzt. Erhalten: 26% des vorhandenen Nitrates reduziert (vgl. Versuch 64).

Versuch 81. Wie vorher, das Ferrosulfat wird jedoch ruhig in den Kolben fließen gelassen und der Kolben nicht umgeschüttelt. Das am Boden des Kolbens liegende Ferrohydroxyd färbt sich dunkelgrün, während aufsteigende rotbraune Wolken von Ferrohydroxyd zeigen, daß ein Teil des im Wasser gelösten Sauerstoffes zur Oxydation des Ferrohydroxydes verbraucht worden und daher für die Reduktion des Nitrates unwirksam ist.

Erhalten: 5,6% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Diese ganzen Versuche, die für die später folgenden theoretischen Erklärungen besonders wichtig sind, zeigen also folgendes:

1. Nur der vom Ferrohydroxyd absorbierte Sauerstoff wirkt auf die Reduktion ein (s. Versuch 64, 80 und 81). Bei diesem letzteren Versuch, wo das Ferrohydroxyd wenig Gelegenheit hatte, den Sauerstoff zu absorbieren, ist wenig Nitrat reduziert im Gegensatz zu den zwei anderen Versuchen.

2. Geht die Absorption des Sauerstoffes durch das Ferrohydroxyd in Gegenwart von Nitrat vor sich, so wird ungefähr doppelt soviel Nitrat reduziert, als wenn dies letztere erst nach erfolgter Absorption zugegeben wird (s. Versuche 74, 75, 78 und 76, 77, 79).

Reduzierend wirkt demnach höchstwahrscheinlich das durch die Absorption oder besser nach Werner gesagt durch koordinative Bindung des Sauerstoffes für Alkalinitrat reaktionsfähig gewordene Eisenatom (s. theoretischer Teil).

Auf Grund dieser Versuche ergibt sich logischerweise, daß die Reduktion der Nitrate, wenigstens bis zu einer gewisse Reduktionsstufe, sofort und in der Kälte stattfindet.

In der Tat ist bei allen diesen Versuchen sofort nach der Fällung des Ferrohydroxydes Nitrit nachweisbar und der Nachweis von  $\text{NH}_3$  gelingt schon nach kurzer Zeit beim Stehenlassen des Reaktionsgemisches bei Zimmertemperatur.

Es war von Interesse, nun auch die Veränderungen des ausgefallenen Ferrohydroxydes bei der Reduktion näher zu untersuchen.

### 3. Einfluß des Ferrohydroxydes.

Nach dem bisher Gefundenen geht die Verfärbung des je nach dem Sauerstoffgehalt der Lösung weiß bis grünlich ausfallenden Ferrohydroxydes parallel mit der Menge des Nitrates,

welche reduziert wird. Je größer die Menge, desto dunkler die Verfärbung, die bis zum tiefen Schwarz gehen kann.

Die schwarze Farbe zeigt bekanntlich auf die Bildung von Ferro-Ferriverbindungen hin. Hier bildet sich in der kochenden Lösung wahrscheinlich Ferro-Ferrit.

Diese gebildete Ferro-Ferriverbindung reduziert kein Nitrat mehr, wie folgender Versuch zeigt:

Versuch 83. Versuch 33 (Tabelle II) wird wiederholt und es werden wiederum 10% des vorhandenen Nitrates reduziert. Nachdem das schwarze Reaktionsgemisch erkaltet ist und der Kolben wieder auf 500 ccm aufgefüllt ist, wird  $\frac{1}{4}$  Stunde lang Sauerstoff eingeleitet, dann erneut destilliert.

Verbraucht 0 ccm Säure = kein Nitrat reduziert. Nach dem Erkalten und Auffüllen werden 4,8 g Ferrosulfat wasserfrei, frisch hinzugegeben und destilliert.

Verbraucht: 2 ccm Säure = 10% des vorhandenen Nitrats reduziert.

Nach dem Erkalten und Auffüllen wird nun 1 ccm n-Nitritlösung = 0,0691 g  $\text{NaNO}_2$  hinzugegeben und destilliert.

Verbraucht: 10 ccm Säure = 100% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Die beim Kochen gebildete Ferro-Ferriverbindung reduziert also kein Nitrat mehr, wohl aber Nitrit.

Um nachzuprüfen, ob diese Reduktion auch in Gegenwart von Mangan verläuft, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Versuch 84. 0,1702 g  $\text{NaNO}_3$ , 6 g  $\text{NaOH}$ , 5,5 g  $\text{MnSO}_4$ , 500 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  werden zusammengegeben. Es entsteht ein hellbrauner Niederschlag. Sauerstoff wird eingeleitet. Der Niederschlag färbt sich dunkelbraun. Dann wird erhitzt und destilliert.

Es bildet sich kein  $\text{NH}_3$ . Im Rückstand ist kein Nitrit nachweisbar. Das Nitrat ist also nicht im Geringsten reduziert worden.

### Zusammenfassung der Ergebnisse über die Nitratreduktion.

1. Alkalinitrat wird in neutraler und stark alkalischer Lösung (28%  $\text{NaOH}$ ) quantitativ von Ferrohydroxyd zu  $\text{NH}_3$  reduziert.

2. Von der neutralen Lösung ausgehend, nimmt die Menge Nitrat, welche reduziert wird, mit steigendem Alkaligehalt der Lösung ab, bis sie bei einem Alkaligehalt von 6,5%  $\text{NaOH}$  am kleinsten ist. Von da ab nimmt sie wieder zu, um bei einer Alkalikonzentration der Flüssigkeit von 28%  $\text{NaOH}$  wieder ihr Maximum zu erreichen (vollständige Reduktion).

3. Bis zu einer Alkalikonzentration der Flüssigkeit von 6,5% NaOH findet die Reduktion nur in Gegenwart von Sauerstoff statt, bei höheren Konzentrationen auch in Abwesenheit von Sauerstoff.

4. Bis zu einer Alkalikonzentration der Flüssigkeit von 6,5% NaOH ist die Menge Nitrates, welche reduziert wird, proportional der Menge vorhandenen, gelösten und vom Ferrohydroxyd absorbierten bzw. koordinativ gebundenen Sauerstoffes.

#### D. Quantitative Bestimmung von Nitrit und Nitrat und Trennung von Nitrat-Nitrit-Gemischen.

##### 1. Bestimmung von Nitrit in Abwesenheit von Nitrat.

Nach Abschnitt II A dieser Arbeit wird Nitrit durch überschüssiges Ferrohydroxyd (dreifaches der berechneten Menge) in alkalischer Lösung quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert und kann also in Abwesenheit von Nitrat nach diesem Prinzip als solches bestimmt werden.

Die Vorschrift hierzu lautet:

0,1—0,3 g Nitrit und 15 g NaOH werden in einem etwa 750—1000 ccm fassenden Kolben in 500 ccm destilliertem Wasser gelöst, und je nach der angewandten Nitritmenge 5—15 g wasserfreies oder 10—30 g kristallisiertes Ferrosulfat in wenig Wasser gelöst zugegeben. In den Kolben werden noch etwa 10 Stück fingernagelgroße poröse Tonscherben geworfen. Der Kolben wird verschlossen, zum Sieden erhitzt, das sich bildende  $\text{NH}_3$  wie bei Ammoniakbestimmungen überdestilliert und in überschüssiger  $\frac{1}{10}$ n-Säure aufgefangen.

Das erste Aufkochen muß tunlichst abgewartet werden wegen des manchmal auftretenden Schäumens.

Die Destillation wird solange fortgesetzt, bis ein überdestillierender Tropfen keine Gelbfärbung mit Nessler's Reagens mehr gibt, was durchschnittlich nach Abdestillieren von etwa 150 ccm Flüssigkeit der Fall ist. Die Vorlage wird dann weggenommen und die Säure mit Lauge und Methylorange zurücktitriert.

Ein Molekül Nitrit gibt ein Molekül  $\text{NH}_3$ .

Ein ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure = 0,00851 g  $\text{KNO}_2$  oder 0,00691 g  $\text{NaNO}_2$ . Die Ergebnisse sind sehr genau. Belege hierfür siehe die bisherigen Versuche und Tabelle VII, Seite 66.

In Gegenwart von Nitrat ist diese Arbeitsweise nicht verwendbar, da dieses ebenfalls reduziert wird.

## 2. Bestimmung von Nitrat in Abwesenheit von Nitrit.

Nach Abschnitt IIc dieser Arbeit gibt es hierfür zwei Möglichkeiten: Arbeiten in streng neutraler oder in stark alkalischer Lösung.

Die erstere Methode ist praktisch kaum durchführbar, da es sehr schwer ist, auch bei genauester Wägung des Ferrosulfates und des Natriumhydroxydes genau neutrale Lösungen zu bekommen. Jede Spur Alkali beeinflußt aber sofort die Reduktion.

Nach der zweiten Methode fallen diese Schwierigkeiten weg, da es hier auf die genaue Alkalikonzentration, sofern diese hoch genug ist — und dies wird durch mehr oder minder längeres Eindampfen stets erreicht —, nicht ankommt.

Je höher die anfängliche Alkalikonzentration genommen wird, desto schneller ist die Bestimmung beendet. Das Ende der Reaktion muß stets durch Auffangen einiger Tropfen der überdestillierenden Flüssigkeit und Prüfen derselben mit Nessler's Reagens festgestellt werden, da dieser Zeitpunkt sehr von der gewählten Alkalikonzentration abhängt. Das Abdestillieren einer gewissen Flüssigkeitsmenge ist keine absolute Gewähr für die Beendigung der Reaktion. Durchschnittlich ist das gebildete  $\text{NH}_3$  mit 200 ccm Flüssigkeit abdestilliert.

Die Vorschrift zu einer solchen Bestimmung lautet wie folgt: Die Arbeitsweise ist wie beim Nitrit. An Stelle des Wassers wird jedoch etwa 30 proz. Natronlauge genommen (z. B. die für Stickstoffbestimmungen handelsübliche reine 30 proz. Lauge).

Ein Molekül Nitrat gibt ein Molekül  $\text{NH}_3$ .

1 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Säure = 0,00101 g  $\text{KNO}_3$  oder 0,00851 g  $\text{NaNO}_3$ . Auch hier sind die Ergebnisse sehr genau. Belege hierfür siehe die bisherigen Versuche und die Tabelle VII, Seite 30.

Diese zwei angegebenen Methoden zur Bestimmung von Nitrit und von Nitrat sind mehr der Vollständigkeit halber wiedergegeben, da sie gegenüber den bisher üblichen Methoden einige Nachteile haben.

Für die Bestimmung von Nitrit dürfte diese Methode einer der bekannten Titrationsmethoden nur dann vorzuziehen sein, wenn aus bestimmten Gründen eine Titration nicht ausführbar ist. Eine solche geht natürlich bedeutend schneller als eine Ammoniakdestillation, wie sie hier erforderlich ist. Allerdings

waren bei verschiedenen Bestimmungen mit gleichen Substanzmengen die erhaltenen Resultate im allgemeinen weniger voneinander abweichend als bei den Titrationsmethoden.

Bei der Bestimmung von Nitrat ist diese Methode in bezug auf Ausführungszeit und Genauigkeit den anderen bekannten Methoden gleichwertig, erfordert aber ziemlich viel Alkalihydroxyd (etwa 100—150 g für jede Bestimmung). Sie dürfte daher nur dann am Platze sein, wenn kein anderes Reduktionsmittel (Ferrum reductum, Devardasche Legierung usw.) vorhanden ist.

Die eigentliche Verwendbarkeit der in dieser Arbeit gefundenen Tatsachen zeigt sich bei der Trennung von Nitrit-Nitratgemischen.

### 3. Trennung und Bestimmung von Nitrit und Nitrat in Gemischen beider Körper.

Nach dem bisher Gefundenen war eine quantitative Trennung des Nitrits vom Nitrat zu erwarten, wenn das Gemisch von Nitrit und Nitrat zunächst in Abwesenheit von Luft und bei einem Alkaligehalt der Flüssigkeit, der 6,5% NaOH bis zum Ende der Reaktion nicht übersteigt, durch überschüssiges Ferrohydroxyd reduziert wird. Dabei dürfte nur das Nitrit quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert werden und als solches bestimmt werden können, während das Nitrat als solches quantitativ zurückbleibt und dann wie unter 2 oder nach einer sonstigen Methode bestimmt werden kann.

Es war aber auch denkbar, daß z. B. bei dieser Arbeitsweise der aus dem Nitrit abgespaltene Sauerstoff in die Reaktion eingreift und das Nitrat dann ebenfalls reduziert wird.

In der Tat waren die für das Nitrit erhaltenen Werte im Anfang stets etwas zu hoch und für das Nitrat entsprechend zu niedrig. Dies war jedoch, wie sich dann zeigte, stets auf noch vorhandenen Sauerstoff zurückzuführen. Nachdem durch viele Versuche der Weg gefunden worden war, um vollkommen sauerstofffrei zu arbeiten und der im allgemeinen Teil geschilderte Apparat ausgedacht war, gelang es, die Trennung mit vollkommener Genauigkeit durchzuführen.

Die für diese Trennung zweckmäßigste Alkalikonzentration ergibt sich aus der Betrachtung der Kurve.

Für die Bestimmung des Nitrits allein spielt diese Konzentration keine Rolle, da Nitrit in jeder kaustisch-alkalischen



Lösung quantitativ zu  $\text{NH}_3$  reduziert wird. Mit Rücksicht auf das Nitrat sollte man diese Konzentration aber möglichst nahe an 6,5% wählen, eine Zahl, die sie aber nicht überschreiten darf. Unter diesen Umständen wird, auch falls noch Sauerstoff vorhanden sein sollte, am wenigsten Nitrit reduziert, der Fehler also am kleinsten. Um die maximale Konzentration von 6,5% ja nicht zu überschreiten, wählt man jedoch praktisch eine etwas niedrigere Konzentration, die sich vom Anfang bis zum Ende der Trennung zwischen 3,5 und 5% bewegt.

Nachdem nun nach diesem Prinzip das Nitrit vom Nitrat getrennt und bestimmt worden ist, fragt es sich, wie nun das Nitrat am zweckmäßigsten im (alkalischen) Rückstand bestimmt wird.

Es gibt dafür verschiedene Wege:

a) Nach dem unter 2 angegebenen kann, nachdem frisches Ferrosulfat hinzugefügt worden ist (das vorhandene  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  ist durch die Nitritreduktion unwirksam geworden) das Gemisch neutralisiert werden und durch erneute Destillation das Nitrat bestimmt werden. Die genaue Neutralisation ist aber wie schon erwähnt schwierig.

b) Der Rückstand, dessen Alkaligehalt etwa 5% beträgt, wird auf 30% Alkaligehalt konzentriert, sei es durch Eindampfen — dies würde zu lange dauern und zu wenig Flüssigkeit übrigbleiben — oder durch Hinzufügen von festem Alkali. Dies letztere ist der praktischste Weg.

c) Schließlich läßt sich das Nitrat noch nach einer der üblichen Reduktionsmethoden in alkalischer Lösung mittelst Zink und Eisen, Aluminium, Devardascher Legierung usw. bestimmen. Diese letztere Methode (mit Devardascher Legierung) wurde ebenfalls ausprobiert und gab gute wenn auch weniger übereinstimmende Resultate als bei der Reduktion mit Ferrohydroxyd. Außerdem ist das dabei auftretende starke Schäumen lästig.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich nun folgende Vorschrift:

1. Apparat: Wie auf Seite 6 beschrieben. (Abb. 2).
2. Substanz: Bei der Analyse von Nitriten oder von Nitraten stellt man sich eine Normallösung dieser Körper in frisch ausgekochtem destillierten Wasser her (6,91 g  $\text{NaNO}_2$ , 8,51 g  $\text{KNO}_2$ , 8,51 g  $\text{NaNO}_3$ , 10,12 g  $\text{KNO}_3$  in 100 ccm Lösung). Bei der Analyse von Nitrat-Nitrit-Gemischen von unbekannter Zusammensetzung stellt man sich eine Lösung her, die etwa 0,1 g Substanz im Kubikzentimeter enthält

3. Gang der Analyse: 20 g festes stickstofffreies Natriumhydroxyd werden im Kolben A in etwa 800 ccm destilliertem Wasser gelöst und dazu eine Lösung von 8 g wasserfreiem bzw. 15 g kristallisiertem  $\text{FeSO}_4$  in 100 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  und 10 Stück fingernagelgroße Tonscherben zugeben.

Man verschließt den Kolben mit dem Aufsatz und verbindet mit dem Kühler (einstweilen ohne die Vorlage einzuschalten), nachdem man vorher mit einer genauen Pipette 2 ccm Substanz in das Gläschen hineingebracht und dieses in den Ring eingesetzt oder an den Glasstab entsprechend befestigt hat. Der Glasstab ist soweit hochgezogen, daß nichts in das Gläschen hineinkochen kann und außerdem so gedreht, daß aus dem Aufsatz von oben nichts hineintropft.

Man kocht nun das Ganze etwa 1 Stunde lang, bis die Flüssigkeit auf etwa 650—700 ccm eingedampft ist und schaltet dann die Vorlage, die mit 25 ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure und entsprechend Wasser beschickt ist, ein. Man drückt dann den Glasstab vorsichtig soweit hinunter, daß das Gläschen durch den Boden des Kolbens aus dem Ring gehoben wird und umfällt bzw. drückt ihn soweit hinunter, daß der Inhalt des Gläschens in den Kolben ausläuft.

Man destilliert solange, bis in der überdestillierenden Flüssigkeit kein  $\text{NH}_3$  mehr nachweisbar ist (etwa 150 ccm), löst die Verbindung zwischen Aufsatz und Kühler und stellt gleich den Kolben mit Aufsatz zum Abkühlen in kaltes Wasser oder Eis.

Inzwischen titriert man in der Vorlage die überschüssige Säure mit Lauge und Methylorange zurück.

Die verbrauchten Kubikzentimeter Säure entsprechen dem vorhandenen Nitrit.

1 ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure = 0,00851 g  $\text{KNO}_2$  oder 0,00691 g  $\text{NaNO}_2$ .

Waren 2 ccm einer Normalnitritlösung angewandt, so ist: Anzahl Kubikzentimeter verbrauchter Säure mal 5 = Prozent Nitrit.

In den erkalteten, höchstens lauwarmen Kolben gibt man 6 g wasserfreies bzw. 12 g kristallisiertes in möglichst wenig Wasser gelöstes Ferrosulfat und 80—100 g (je mehr, desto schneller geht die Bestimmung) festes Natriumhydroxyd, verschließt den Kolben und verbindet sofort mit dem Kühler und einer neuen mit 25 ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure beschickten Vorlage. Durch die Lösungswärme des Natriumhydroxydes erhitzt sich der Kolben von selbst bis zum Sieden. Um ein zu stürmisches Aufkochen zu vermeiden, erhitzt man daher zunächst sehr vorsichtig und destilliert dann solange bis ein übergehender Tropfen keine Gelbfärbung mehr mit Nesslers Reagens gibt. Die Destillation wird unterbrochen, die überschüssige Säure wie oben zurücktitriert.

Die verbrauchten Kubikzentimeter Säure entsprechen dem vorhandenen Nitrat.

Ein ccm  $\frac{1}{10}$ n-Säure = 0,00851 g  $\text{NaNO}_3$  oder 0,0101 g  $\text{KNO}_3$ .

Waren 2 ccm Normalnitratlösung angewandt, so ist: Anzahl Kubikzentimeter verbrauchter Säure mal 5 = % Nitrat.

Das Nitrat kann auch wie folgt bestimmt werden: In den erkalteten Kolben werden 25 ccm 30proz. Natronlauge und 5 g Devarda Legierung

gegeben und dann sehr vorsichtig erhitzt (starkes Schäumen). Das Weitere wie oben.

Dauer der ganzen Bestimmung  $2\frac{1}{2}$  bis 3 Stunden.

Tabelle VII.  
Trennung von Nitrit-Nitratgemischen.

Versuch Nr.	Angewandt		Verbr.Säure f.		Entspricht		Angew.Menge		Bemerkungen
	NaNO <sub>3</sub> in g	NaNO <sub>2</sub> in g	NaNO <sub>3</sub> in ccm	NaNO <sub>2</sub> in ccm	NaNO <sub>3</sub> in g	NaNO <sub>2</sub> in g	NaNO <sub>3</sub> in %	NaNO <sub>2</sub> in %	
90	0,1382	0,1702	20,0	20,0	0,1382	0,1702	100,0	100,0	} Nitrat nach Devarda
91	0,1382	0,1702	20,0	20,0	0,1382	0,1702	100,0	100,0	
92	0,1382	0,1702	20,0	20,0	0,1382	0,1702	100,0	100,0	
93	0,1382	0,1702	20,0	20,0	0,1382	0,1702	100,0	100,0	} Nitrat mit Fe(OH) <sub>3</sub>
94	0,2073	0,0851	30,0	10,0	0,2073	0,0851	100,0	100,0	
95	0,1382	0,0851	20,0	10,0	0,1382	0,0851	100,0	100,0	dgl.
96	0,0691	0,2553	10,0	30,0	0,0691	0,2553	100,0	100,0	dgl.
97	0,0691	0,1702	10,0	20,0	0,0691	0,1702	100,0	100,0	dgl.
98	0,1382	0,0085	20,0	1,0	0,1382	0,0085	100,0	100,0	dgl.
99	0,0069	0,1702	1,0	20,0	0,0069	0,1702	100,0	100,0	dgl.

Die obige Vorschrift ist so gehalten, daß sie ganz allgemein für Nitrat-Nitritgemische von jeder Zusammensetzung anwendbar ist.

Ist die Zusammensetzung des Gemisches annähernd bekannt (viel Nitrit wenig Nitrat usw.), so kann natürlich die Arbeitsweise bedeutend verbessert werden. Man wird dann dem angegebenen Prinzip entsprechend die Menge FeSO<sub>4</sub> und NaOH und die vorgelegte Säuremenge danach bestimmen. Auch wird man in diesem Falle besser eine größere Menge Substanz nehmen, um die Pipettierfehler zu verkleinern und die prozentuale Empfindlichkeit der Bestimmung zu erhöhen. Bei Verwendung größerer Substanzmengen muß aber natürlich die erforderliche Menge abzudestillierender Flüssigkeit vorher ermittelt werden und es ist stets darauf zu achten, daß die Alkalikonzentration immer unter 6,5% bleibt.

Voraussetzung für das Verhalten von einwandfreien Werten ist selbstverständlich die Verwendung von absolut stickstofffreiem Ferrosulfat und ebensolchem Natriumhydroxyd. Ist die Reinheit dieser Substanzen nicht sicher festgestellt, so muß durch einen blinden Versuch mit den gleichen Substanzmengen die

Anzahl verbrauchter Kubikzentimeter Säure bestimmt werden und diese Zahl von der gefundenen abgezogen werden. Bei der Nitritbestimmung spielt dies weniger eine Rolle, da ja das ganze Gemisch zuerst ohne Vorlage gründlich ausgekocht wird, wobei etwa gebildetes  $\text{NH}_3$  entweicht, wohl würden aber die Ergebnisse der Nitratbestimmung zu hoch ausfallen. Ist das Ferrosulfat, was oft vorkommt, nitrathaltig, so wird man zweckmäßig die Nitratbestimmung mit Devardalegierung vornehmen. Von den zahlreichen ausgeführten Bestimmungen sind in Tabelle VII, S. 30 verschiedene als Belege wiedergegeben. Wie daraus zu ersehen ist, sind die Ergebnisse auch bei den verschiedensten Zusammensetzungen der Nitrat-Nitritgemische sehr genau.

Diese Trennungsmethode wurde außerdem noch mit einer der bisher üblichen verglichen.

Versuch 95—96. Es wurde eine Nitrat-Nitritlösung von unbekannter Zusammensetzung analysiert.

In einem Teil wurde das Nitrit und das Nitrat nach der oben angegebenen Methode bestimmt.

In einem anderen Teil wurde in einer Probe der Gesamtstickstoff nach Devarda bestimmt. In einer anderen Probe wurde das Nitrit nach Raschig titriert. Die Differenz aus Gesamtstickstoff und Nitritstickstoff ergibt den Nitratstickstoff und daraus das Nitrat. Die Ergebnisse je zweier Parallelversuche sind in der Tabelle VIII enthalten.

Tabelle VIII.

Vergleich der neuen Trennungsmethode mit einer der bisher üblichen.

Angewandt: 2 ccm einer Nitrat-Nitritlösung von unbekannter Zusammensetzung.

Methode	Darin sind enthalten	
	$\text{NaNO}_2$ in g	$\text{NaNO}_3$ in g
Nach Raschig-Devarda:	0,01782	0,0453
Nach der neuen Methode durch Reduktion mit $\text{Fe}(\text{HO})_2$ :	0,01733	0,0459
	0,01730	0,0459
	0,01730	0,0463

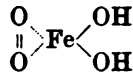
### III. Theoretischer Teil.

Beim Versuche, die in dem experimentellen Teil dieser Arbeit gefundenen Erscheinungen auf dem Boden der altbekannten chemischen Tatsachen zu erklären, stößt man auf zwei Schwierig-

keiten: die praktische Unlöslichkeit des  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  in Wasser und vor allem in Lauge, die eine plausible Erklärung auf Grund von reinen Ionenreaktionen wenig wahrscheinlich macht und die hiermit unerklärliche Rolle des Sauerstoffes.

Am besten dürften daher diese Reduktionsvorgänge auf Grund der Ansichten von Baudisch über die Nitrat- und Nitritreduktion zu erklären sein.

Schon in den ersten Abhandlungen Baudischs<sup>1)</sup> über dieses Thema wurde die Vermutung ausgesprochen, daß vielleicht das aus Ferrohydroxyd und Sauerstoff primär entstehende Peroxyd von der Formel:



für die Reduktion des Nitrates verantwortlich zu machen sei. Die Reduktion sollte durch Entladung der beiden Peroxyde ( $\text{KNO}_3$  und  $\text{Fe}(\text{OH})_2^{\text{O}_2}$ ) vor sich gehen, und deshalb wurde auch dort die Nitratreduktion mit der kürzlich von H. Wislicenus gefundenen Reduktion von  $\text{CO}_2$  durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  in eine Parallele gebracht.  $\text{H}_2\text{O}_2$  entsteht ja auch bei der Autoxydation von Ferrohydroxyd, wenn es bisher auch nur indirekt nachgewiesen wurde<sup>2)</sup>. Es war also auch denkbar, daß  $\text{H}_2\text{O}_2$  im Status nascendi reduzierend auf Alkalinat wirken kann. Um dies nachzuprüfen wurde folgender Versuch gemacht:

Versuch 97. 5 g Oxanthron werden in eine Lösung von 4 g NaOH und 0,1702 g  $\text{NaNO}_3$  in 500 ccm Wasser eingetragen und wie üblich destilliert. Die Lösung färbt sich tief blutrot (Alkalisalz des Anthrahydrochinon). Es wird kein  $\text{NH}_3$  gebildet.

Die Destillation wird unterbrochen und durch den Kolbeninhalt Luft geblasen, bis alles Anthrahydrochinon in Anthrachinon übergegangen ist, dann wird erneut destilliert.

Es bildet sich kein  $\text{NH}_3$ , im Rückstand ist kein Nitrit nachweisbar, wohl aber  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Jodkaliumstärkepapier wird gebläut).

Die obige Vermutung ist also auf Grund dieses Versuches nicht mehr haltbar, denn sonst müßte Nitrat in alkalischer Lösung von Oxanthron, welches ja bekanntlich<sup>3)</sup>  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch

<sup>1)</sup> Baudisch, B. 52, 40. 1919.

<sup>2)</sup> Manchot und Herzog, Zeitschr. f. anorg. Chemie 27, 404. 1910.

<sup>3)</sup> Baudisch, B. 52, 39. 1919.

Aktivierung des Luftsauerstoffes bildet, ebenfalls zu Alkalinitrit reduziert werden, was aber nicht der Fall ist.

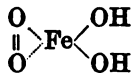
Versuche bei welchen  $H_2O_2$  direkt verwandt wurde, ergaben ebenfalls keine Reduktion des Nitrates.

Mit diesem Ausfall der Versuche mit  $H_2O_2$ , verlor auch die frühere Vermutung der gegenseitigen Entladung der beiden Peroxyde ( $KNO_3$  und  $Fe \begin{smallmatrix} O_2 \\ (OH)_2 \end{smallmatrix}$ ) und die damit in Zusammenhang gebrachte primäre Addition von  $KNO_3$  an das Peroxydeisenmolekül ( $Fe \begin{smallmatrix} O=O \dots KNO_3 \\ (OH)_2 \end{smallmatrix}$ ) an Wahrscheinlichkeit.

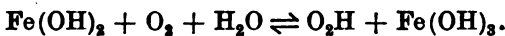
Die erste Vermutung für die Wichtigkeit der Verbindung  $Fe \begin{smallmatrix} O_2 \\ (OH)_2 \end{smallmatrix}$ , blieb trotzdem aufrecht, jedoch war auf Grund der Versuche, bei welchen  $H_2O_2$  verwandt worden war ohne daß eine Reduktion entstand, der Gedanke nähergerückt, daß einzig und allein die ungesättigte Natur des Ferroatoms oder -Ions für die Reduktion des Nitrates verantwortlich zu machen sei.

Bevor auf diesen Punkt näher eingegangen wird, sollen die bekannten Arbeiten vorausgeschickt werden, welche sich mit der Autoxydation des Ferrohydroxydes und des Ferrobicarbonates befassen.

Nach Just<sup>1)</sup> wird auf ein Molekül Ferrosalz in erster Reduktionsphase 1 Molekül  $O_2$  zum Umsatz gebracht und somit 3 Äquivalente Sauerstoff aktiviert. Just gibt dafür folgendes Formelbild:



für das primär gebildete Moloxyd und schreibt die summarische Oxydationsgleichung:

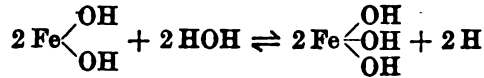


Manchot fand, daß zwar kein Superoxydsauerstoff als solcher bei der Autoxydation nachweisbar sei, daß derselbe aber in Gegenwart eines als energischer Acceptor wirkenden Überschusses von arseniger Säure in stark alkalischer Lösung sich indirekt quantitativ bestimmen läßt.

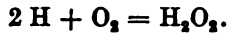
In dem Buche von C. Englers und J. Weissberg „Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation“ wird die Oxydation des Ferrohydroxydes folgendermaßen formuliert:

<sup>1)</sup> B. 40, 3695. 1901. Zeitschr. f. physikal. Chemie 63, 385. 1907.

## Pseudautoxydator



## Sekund. Autoxydator



Es ist aus diesen Angaben zu ersehen, daß der Prozeß der Autoxydation des Ferrohydroxydes noch lange nicht vollkommen geklärt ist. Aus den Arbeiten von Manchot und Just ist bekannt, daß die molare Menge des Sauerstoffes, also die Menge  $2 \text{O}$  bzw.  $\text{O}_2$  in erster Phase reagiert, was zum Schlusse führt, daß der Sauerstoff als Molekül in Reaktion tritt. Diese Tatsache ist für die folgende theoretische Ausführung von Wichtigkeit.

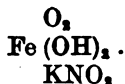
Aus dem experimentellen Teil ist zu ersehen, daß Nitrat von Ferrohydroxyd in neutraler oder alkalischer Lösung schon in der Kälte sofort zu Nitrit reduziert wird, ja, daß Peroxybildung und Nitratreduktion direkt gekoppelt zu sein scheinen, denn sonst könnte nicht ein so großer Unterschied in der Größenordnung der Reduktion bestehen, wenn einmal Nitrat schon in der Lösung vorhanden ist, oder das andere Mal das Nitrat unmittelbar nach dem Zusammenschütten von Lauge und Ferrosulfat eingetragen wird (Versuch 74—79, S. 22).

Läßt man schließlich das Ferrohydroxyd in der wässrigen, neutralen oder schwach alkalischen Lösung stehen, so daß sich nach und nach aus dem grünlichen Ferrohydroxyd eine fast schwarze Verbindung bildet, und trägt dann erst Nitrat ein, so wird dieses fast gar nicht mehr reduziert.

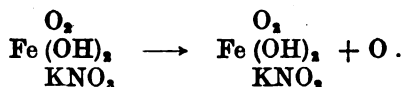
Diese Beobachtungen machen schon die Annahme wahrscheinlich, daß das Eisenatom durch koordinative Anlagerung von Sauerstoff eine Änderung erlangt haben muß. Die Reaktion könnte dann folgendermaßen erklärt werden: Während Ferrohydroxyd keine Affinität zum Nitratmolekül besitzt<sup>1)</sup>, reagiert das Peroxyd des Ferrohydroxydes schon im Entstehungszustande

<sup>1)</sup> Nitrat hat geringe Tendenz zur Komplexsalzbildung, was sich darin dokumentiert, daß das Potential einer gegebenen Ferro-Ferrisulfatlösung durch Nitratzusatz keine wesentliche Änderung erfährt, ein Zeichen, daß das Verhältnis  $\text{Fe}^{++}$  zu  $\text{Fe}^{+++}$  nicht verschoben ist. Es sind auch keine Doppelnitrate des zwei- und dreiwertigen Eisens bekannt. E. Müller, Das Eisen und seine Verbindungen, S. 73.

auf dasselbe, wobei angenommen werden kann, daß das Nitrat koordinativ an das Eisenatom des Peroxydes  $\text{Fe} \begin{matrix} \text{O}_2 \\ (\text{OH})_2 \end{matrix}$  gebunden wird, was zu folgender Verbindung führt:



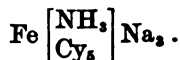
Durch die Nebervalenzbildung des Nitrates an das Eisenatom wird nun aber das Nitratmolekül so gelockert, daß eine Abspaltung von Sauerstoff und Nitritbildung erfolgen kann:



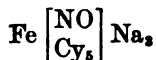
Das abgespaltene Sauerstoffatom wirkt auf das immer im Überschuß vorhandene Ferrohydroxyd oxydierend und das Nitrit wird in bekannter Weise zu  $\text{NH}_3$  reduziert.

Es ist nun zunächst die Frage aufzurollen, ob man berechtigt ist, eine solche Bindung des Nitrates an das Eisen und den damit bedingten reduktiven Zerfall anzunehmen.

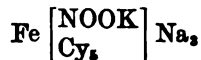
Aus den Versuchen von K. A. Hoffmann ist bekannt, daß Prussoammoniaknatrium:



beim Kochen mit Alkalinitrit in alkalischer Lösung in Prusso-nitrososnatrium:



übergeht. Es ist anzunehmen, daß der Prozeß durch eine koordinative Bindung des Nitritmoleküls an das Eisenatom eingeleitet wird, daß also primär:



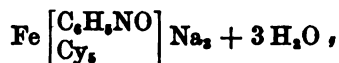
entsteht. Es ist nun gelungen, durch eine Farbenreaktion zu zeigen, daß das Nitritmolekül in der Tat eine Koordinationsstelle des komplex gebundenen Eisens besetzen kann, und zwar wie folgt:

Prussoammoniaknatrium bindet Nitroverbindungen unter Verdrängung des  $\text{NH}_3$ , was sich durch prächtige Färbungen kundtut<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Nach K. Schäfer sind nur die Vorgänge innerhalb der ersten Sphäre optisch wirksam. Zeitschr. f. anorg. Chemie 86, 212. 1918.



So gibt z. B. Prussoammoniaknatrium in wässriger Lösung mit Nitrosobenzol eine tiefviolette Verbindung der Formel:



die gegen Säure und Alkalien sehr beständig ist. Diese Färbung bleibt aus, wenn in der Lösung gleichzeitig Nitrit ( $\text{KCN}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{CO}$ ) vorhanden ist, während Nitrat (auch  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) auf die Farbenreaktion keinen Einfluß ausübt.

Läßt man diese violette Verbindung in Gegenwart von Nitrit im Sonnenlicht stehen, so verschwindet die violette Farbe und in der nun rotgelben Lösung läßt sich jetzt:



neben Nitrobenzol nachweisen.

Das Nitrit ist also infolge koordinativer Bindung an das Eisenatom der Komplexverbindung reaktiv zerfallen.

Daß durch eine koordinative Bindung gleichzeitig eine Veränderung im Molekül desselben stattfindet, zeigt in diesem Beispiel schon, daß das schwach grüne Nitrosobenzol mit dem schwach gelben Prussoammoniaknatrium eine tief violette Verbindung liefert, welche glatt wieder in die ursprünglichen Komponenten zerlegt werden kann. Diesem hemmenden Einfluß des Nitritmoleküls gegenüber dem Nitratmolekül läßt sich auch wie folgt zeigen:

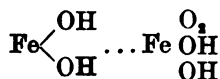
Bestrahlt man eine wässrige Lösung eines Gemisches von Ferrocyankalium und Nitrosobenzol mit Tages- oder Quecksilberlicht, so entsteht wieder die oben erwähnte violette Färbung, da ein  $\text{HCN}$ -Rest austritt und an dessen Stelle Nitrosobenzol eintritt. In Gegenwart von Nitrit bleibt diese Färbung aus, in Gegenwart von Nitrat nicht. Außer Nitrit wirken auch  $\text{KCN}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , Pyridin, Nikotin oder Piperidin vollkommen hemmend, was die große Affinität dieser N-haltigen Verbindungen zum komplex gebundenen Eisenatom beweist.

Die Annahme, daß das Alkalinitrat infolge der lockeren Bindung an das Eisenatom des  $\text{Fe} \left[ \begin{array}{c} \text{O}_2 \\ (\text{OH})_2 \end{array} \right]$  reaktiv zerfällt, hat somit als Analogieschluß seine Berechtigung.

Die Annahme der koordinativen Bindung des Nitrates an das Eisenperoxyd wird durch folgende Betrachtung gestützt:

Aus dem Versuch 83, wo das Nitrat zu der schwarzen Ferro-Ferriverbindung zugegeben wurde, ist schon zu ersehen, daß die Nebenvalenzen des ungesättigten Eisenatoms für die Reduktion ausschlaggebend sind, denn diese Verbindung reduziert Nitrit infolge seiner Ferrostufe glatt zu  $\text{NH}_3$  und verändert Nitrat nicht.

Es kann angenommen werden, daß diese schwarze Verbindung, die schon beim Stehen des Ferrohydroxydes in neutraler Lösung gebildet wird, in der Hauptsache eine Nebenvalenzverbindung zwischen Ferrohydroxyd und seinem Peroxyd ist:



Die schwarze Farbe steht damit in bestimmten Einklang, denn als chinhydronartige Verbindung muß sie eine intensive Farbe haben, aber auch deshalb schwarz gefärbt sein, weil sie Eisenatome in verschiedenen Wertigkeitsstufen enthält<sup>1)</sup>.

Da die Nebenvalenzen hier sämtlich abgesättigt sind, wird entsprechend kein Nitrat mehr koordinativ gebunden und deshalb reduziert.

Wird nun Alkalinitrat von Ferrohydroxyd auch dann koordinativ gebunden, wenn sich vorher an das Eisen eine andere Verbindung als 1 Molekül Sauerstoff anlagert?

Gelingt es, diese Frage experimentell zu lösen, so ist die hier entwickelte theoretische Anschauung wesentlich gestützt.

Hier setzen nun die experimentellen Ergebnisse der Versuche mit Alkalihydroxyd ein.

Aus den Kurven, Abb. 3 und 4, S. 13, ersieht man deutlich, daß Alkali anfangs die Menge Nitrat, welche reduziert wird, systematisch herabdrückt, daß aber schließlich ein Punkt erreicht

<sup>1)</sup> Aus einer Lösung von Ferroion fällt Alkalilauge, welches ja Hydroxylionen enthält, Eisen vollkommen als Ferrohydroxyd, daß bei sorgsamsten Abschluß von Sauerstoff weiß ist. Da die Gegenwart von kleinen Mengen Luftsauerstoff schwierig zu vermeiden ist, so erhält man für gewöhnlich einen grünlichen Niederschlag, der allmählich schwarz und dann braun wird. Das Ferrohydroxyd wird durch Sauerstoff sehr energisch zu braunen Ferrhydroxyd oxydiert. Beide geben zusammen eine schwarze Verbindung, welche im Gemisch mit dem braunen Ferrhydroxyd grünlich aussieht. E. Müller, Das Eisen und seine Verbindungen, S. 120.

wird, wo diese Menge wieder rasch zu steigen beginnt. Man kann sich das so vorstellen, daß anfangs gewissermaßen ein Konkurrenzkampf des Sauerstoffes mit dem Alkali um die Nebenvalenzen des Eisens stattfindet.

Die begierige Aufnahme von Sauerstoff durch Ferrohydroxyd in einer neutralen oder schwach alkalischen Lösung zeigt sich durch die rasche Verfärbung des anfangs weißlichen Ferrohydroxydes. Macht man zwei Parallelversuche mit schwacher und mit konzentrierter Lauge, so zeigt sich deutlich, daß das aus der starken Lauge ausfallende Ferrohydroxyd weißlich bleibt, auch wenn man kräftig mit Luft schüttelt oder sogar Sauerstoff einleitet, während es unter den gleichen Umständen in der schwachen Lauge schwarz wird (Versuch 73). Man sieht ja auch aus den Versuchen 64 und 71, daß in der stark alkalischen Lösung die Menge Nitrat, welche reduziert wird, durch das Einleiten von Sauerstoff gar nicht steigt, während sie in der schwach alkalischen Lösung direkt sprunghaft in die Höhe schnell.

Um das Verhältnis des Alkalihydroxydes zum Ferrohydroxyd näher zu zeigen, seien noch folgende Beispiele gebracht, wo das Alkali sich an komplex gebundenes Eisen anlagert.

Es wird in drei Schalen die frisch bereitete Lösung von Prussoammoniaknatrium in destilliertem Wasser gegeben. In Schale I gibt man schwache, in Schale II starke Lauge; Schale III bleibt wie sie ist. Nach  $\frac{1}{4}$ stündigem Stehen an der Luft entnimmt man den drei Schalen gleiche Proben und fügt Anilinwasser hinzu. Schale III wird tiefgrün, Schale I blaßgrün; Schale II bleibt unverändert. Die grüne Farbe ist ein Oxydationsprodukt des Anilins, daß durch das in den Schalen infolge Autoxydation entstandene Peroxyd gebildet wird.

In der Schale II wird die Aufnahme des Sauerstoffes durch das anwesende Alkali ganz verhindert, in der Schale I zurückgedrängt.

Komplexe Ferrosalze verhalten sich also ähnlich wie gewöhnliche Ferrosalze.

In neutraler Lösung nimmt das Ferrohydroxyd den im Wasser gelösten Sauerstoff glatt auf und reduziert dabei das Nitrat augenblicklich zu Nitrit.

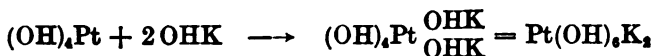
Diese Tatsache läßt sich folgendermaßen sehr gut demonstrieren:

Man gibt in einen Kolben 500 ccm Wasser und 2 ccm n-Nitratlösung. In einen anderen Kolben gibt man 500 ccm Wasser, 2 ccm n-Nitratlösung und 2,6 g festes NaOH. In diese letztere Lösung gießt man nun bei Zimmertemperatur eine wässrige Lösung von 4,8 g wasserfreiem Ferrosulfat. Das ausfallende Ferrohydroxyd färbt sich in der neutralen Lösung bald schwarz. Nach 5 Minuten filtriert man aus der letzteren Lösung 50 ccm ab und prüft das Filtrat mit Nitron. Desgleichen prüft man 50 ccm aus dem ersten Kolben. Beide Lösungen sind zunächst klar. Am nächsten Tag sind in dem ersten Kolben reichlich Nadeln von Nitronnitrat vorhanden, während im zweiten Kolben keine Krystallabscheidung vorhanden ist.

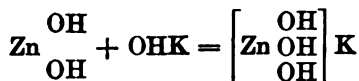
Nimmt man von Anfang an mehr Nitrat (12 ccm n-Nitratlösung), so kann man die Abnahme des Nitrates in dem zweiten Kolben direkt verfolgen, indem man in kurzen Zeitabständen Proben nimmt. In dem Maße wie die Nitratreaktion abnimmt, steigt die Nitritreaktion mit Indol.

Die Abnahme der Menge Nitrat, welche reduziert wird mit zunehmender Alkalikonzentration, dürfte so zu erklären sein, daß durch das Alkali Nebervalenzen des Eisens mit Beschlag belegt werden, die nun für den Sauerstoff verlorengehen.

Daß solche Anlagerungen von Basenmolekülen an Metallatome vorkommen können, geht aus den Arbeiten von Miolati und Bellucci und von P. Pfeiffer hervor. Miolati und Bellucci haben nachgewiesen, daß z. B. 2 Moleküle KOH sich an  $\text{Pt}(\text{OH})_4$  anlagern, welcher Prozeß folgendermaßen dargestellt wird:



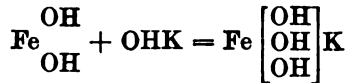
P. Pfeiffer macht in seiner Arbeit, betitelt: Beitrag zur Hydrolyse, B. 40, 4040, darauf aufmerksam, daß die Hydroxosalze den Halogenosalzen völlig gleichen, und bringt weiter Beispiele von Basenmolekülanlagerungen an Schwermetallhydroxyden, z. B.:



Würde das Alkali das Eisen direkt chemisch verändern, so sollten doch auch entsprechende Schwankungen der Menge Nitrites,

welches reduziert wird, bei der Nitritreduktion zu beobachten sein, was jedoch nicht der Fall ist.

Hat das Alkali eine gewisse Konzentration erreicht, so hört der Einfluß des Sauerstoffes schließlich ganz auf und das Alkali übernimmt seine Rolle:



Diese Annahme würde ohne Zwang erklären, daß Alkalinitrat in Gegenwart von starker Lauge, auch in Abwesenheit von Sauerstoff reaktiv zerfallen kann, denn die für die Nitratreduktion notwendige koordinative Bindung erfolgt nun auf Kosten des locker gebundenen Alkalihydroxydes, und nicht mehr auf Kosten des locker gebundenen Sauerstoffmoleküles.

Ist diese Annahme richtig, so müßte man das Alkalihydroxyd auch durch andere Verbindungen, welche die Fähigkeit besitzen, sich an das Eisen durch Nebervalenzen zu binden, ersetzen können.

Das läßt sich nun in der Tat durch folgende Versuche beweisen:

Versuch 98. Versuch 97 (mit Oxanthron) wird wiederholt, aber dazu noch 5 g wasserfreies Ferrosulfat gegeben.

Erhalten: 14% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Versuch 99. Wie vor, aber in Abwesenheit von Sauerstoff. Zuerst wird das Gemisch von Oxanthron und Ferrosulfat in Wasser  $\frac{1}{2}$  Stunde lang ausgekocht, dann das Nitrat und das NaOH, die sich beide in dem Gläschen (siehe Apparatur) befinden, eingetragen.

Erhalten: 13% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Versuch 100. Wie vor, in Abwesenheit von Sauerstoff, aber mit 5 g Gallussäure an Stelle des Oxanthrons. Das ausfallende Ferrosalz ist grauweiß mit ganz schwachem violettem Stich. Bei längeren Kochen wird die Farbe allmählich intensiv rotviolett.

Erhalten: 7% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Versuch 101. Wie vor, aber mit 5 g Brenzcatechin an Stelle der Gallussäure. Das ausfallende Ferrosalz ist zuerst weiß und wird beim Kochen allmählich rot.

Erhalten: 9% des vorhandenen Nitrates reduziert.

Wie aus diesen Versuchen zu ersehen ist, reduzieren also die drei organischen Verbindungen: Antrahydrochinon, Gallussäure und Brenzcatechin, die mit dem Eisen leicht Komplexsalze bilden, Nitrate in alkalischer Lösung in Gegenwart von Ferrohydroxyd zu  $\text{NH}_3$ , auch in Abwesenheit von Sauerstoff. Bei der Gallussäure und dem Brenzcatechin wird die

Sauerstoffabspaltung aus dem Nitrat auch dadurch ersichtlich, daß die anfangs kaum gefärbten komplexen Ferroverbindungen beim anhaltenden Kochen die Farbe der Ferriverbindungen annehmen, obwohl von außen kein Sauerstoff eindringen kann.

Diese, durch den abgespaltenen Nitrat- bzw. Nitritsauerstoff bedingte Farbenänderung kann man auch beim Ferrohydroxyd in stark alkalischer Lösung in der Siedehitze beobachten. Das anfangs weißliche Ferrohydroxyd wird fast blitzartig schwarz gefärbt, wenn die Reaktion des Nitraterfalles eingesetzt hat.

Was die Reduktion des Nitrites durch Ferrohydroxyd anbelangt, so ist schon früher durch Baudisch<sup>1)</sup> darauf hingewiesen worden, daß diese darauf zurückzuführen sei, daß das ungesättigte Nitritstickstoffatom mit dem Eisenatom unter koordinativer Bindung reagiert, und hierauf unter Sauerstoffabspaltung zerfällt. Es muß sich dabei immer zunächst NOH bilden und es ist verständlich, wenn Zorn in der Kälte untersalpetrige Säure neben NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O und N<sub>2</sub> findet. Wie bereits im experimentellen Teil geschildert, kann die Reduktion aber so geleitet werden, daß das KNO quantitativ weiter bis zu NH<sub>3</sub> reduziert wird.

Macht man die Lösung stärker alkalisch, so wird der Zerfall der Verbindung KNO zurückgedrängt und damit auch die Bildung von N<sub>2</sub>O und N<sub>2</sub>:



In neutraler Lösung aber wird bei großem Eisenüberschuß das NO an das Ferrosalz gebunden und dadurch der Reduktion zugänglich gemacht.

#### Zusammenfassung.

Als Zusammenfassung der Arbeit ergibt sich folgendes:

Das koordinativ ungesättigte Eisenatom des Ferrohydroxydes hat das Bestreben sich zu sättigen und zieht aus diesem Grunde Verbindungen oder Moleküle, welche Affinität zum Eisen besitzen, in die innere Sphäre, mit anderen Worten, das Eisenatom oder -ion hat eine große Tendenz zur Komplexsalzbildung. Dies äußert sich bekanntlich auch schon darin, daß z. B. in einer Ferrochloridlösung merkliche Selbstkomplexbildung vorhanden ist:



<sup>1)</sup> Baudisch, B. 52, 20. 1919.

Es ist nun als Ergebnis dieser Arbeit festgestellt worden, daß das Eisenatom durch primäre Absättigung einer oder mehrerer Koordinationsstellen Eigenschaften erhält, die es vorher nicht besaß.

So erlangt z. B. das Ferrohydroxyd durch Anlagerung eines Moleküls Sauerstoff oder Alkalis die Eigenschaft Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Hierbei wird das Nitrat nach primärer Anlagerung des Sauerstoffes oder des Alkalis, sekundär ebenfalls an das Eisenatom locker gebunden, wodurch es zerfällt und die Reduktion eintritt.

Durch diese Erkenntnis gelangt man zu einer ganz neuen Anschauung über das Wesen des Eisens als Induktor bei chemischen und lichtchemischen Reaktionen. Es ist gewiß kein Zweifel, daß besonders solche Verbindungen, welche zur Komplexbildung mit Eisen neigen oder sonstwie Affinität zum Eisen besitzen, durch Eisen aktiviert werden. So sind z. B. wie C. Ne u b e r g<sup>1)</sup> fand, Weinsäure und Bernsteinsäure sehr beständige Verbindungen. Durch Spuren Ferrosulfat werden sie jedoch außerordentlich lichtempfindlich und erleiden oxydativen Zerfall.

Genau so wird Weinsäure nur dann von  $H_2O_2$  oxydiert, wenn geringe Spuren Eisen vorhanden sind. Dabei kann angenommen werden, daß die Weinsäure und das  $H_2O_2$  durch koordinative Bindung an das Eisen aktiviert worden sind.

Auch bei der Oxydation der Zuckerarten durch Chlor spielt das Eisen vermutlich die Rolle des Induktors. Hier bindet das primär gebildete Zucker-Eisensalz nun koordinativ Chlor an das Eisenatom, was die Aktivierung beider Stoffe veranlaßt. Mit dieser Anschauung steht im Einklang, daß bei dieser Reaktion die Zugabe des Eisens immer vor der Zugabe des zu reduzierenden Stoffes erfolgen muß.

Zwischen Benzol und Brom findet keine Reaktion statt. Sobald aber Eisen hinzukommt tritt lebhaftes Aufkochen ein. Hier dürfte das primär gebildete Ferrobromid die Reaktion einleiten und Benzol sekundär binden, wodurch beide Stoffe aktiviert werden.

Durch die in dieser Arbeit auf Grund experimenteller Tatsachen gefundenen neuen Eigenschaften des Eisenatoms können also manche chemische und physiologische Prozesse in einem neuen Lichte beleuchtet werden.

<sup>1)</sup> C. Ne u b e r g, Diese Zeitschr. **23**, 229. 1910; **64**, 59. 1914.

## Die Capillarisation in der Biochemie.

Von  
**Rudolf Keller.**

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Im 6. Band von Abderhaldens „Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden“ empfiehlt J. Grüss die Capillarsationsmethode bei biochemischen Untersuchungen kleiner Quantitäten, insbesondere bei der Analyse von Enzymwirkungen. Da das Capillarisieren, wie es scheint, sehr wenig bekannt ist, sei vorerst einiges über die ihr zugrunde liegenden Ursachen bemerkt. Beim Eintreten von dielektrischen Flüssigkeiten in Capillaren aus Glas, Papier, Ton entstehen elektrische Potentialdifferenzen, deren Theorie von Coehn<sup>1)</sup> 1898 aufgestellt wurde. Es läßt sich bei der Berührung der Stoff mit höherer Dielektrizitätskonstante positiv gegen jenen mit niedrigerer Dielektrizitätskonstante, also beispielsweise reines Wasser positiv gegen Papier. Infolgedessen werden Lösungen beim Aufsaugen im Fließpapier elektrolytisch zerlegt und lassen mitgeführte Kolloide nach ihrem Wanderungssinn gesondert hervortreten. Die Zerlegung kolloider Lösungen in Fließpapier, Baumwolle, Wolle, Seide wurde von Pelet - Jolivet<sup>2)</sup> zwischen 1900 und 1910 in verschiedenen Arbeiten beschrieben. Das zusammenfassende Buch von Pelet - Jolivet — 1910 erschienen — ist jedoch wenig gewürdigt worden; alle Kolloidhandbücher und die übrige Literatur haben die 1911 aufgestellte Capillaritätsregel von Fichter - Sahlbom<sup>3)</sup> akzeptiert, daß positive zur Kathode wandernde Farbstoffe zerlegt werden, indem das Wasser voraneilt, während negative (saure) gleichzeitig

---

<sup>1)</sup> Coehn, Annalen d. Physik, 1898.

<sup>2)</sup> Pelet - Jolivet, Theorie des Färbeprozesses, Dresden 1910, Steinkopff.

<sup>3)</sup> Fichter - Sahlbom, Kolloid-Zeitschr. 1911.



mit dem Wasser unzerlegt aufsteigen. Diese Regel, die verbreiteten Vorurteilen entgegenkam, aber unrichtig ist, habe ich kürzlich richtiggestellt<sup>1)</sup>, und zwar zunächst an organischen Farbstoffen. Etwas früher als ich, aber mir damals nicht zugänglich, haben in Amerika A. W. Thomas und J. D. Garard<sup>2)</sup> die Fehlerhaftigkeit der Fichter-Sahlbom Regel an anorganischen Kolloiden festgestellt.

Zunächst ist die Bezeichnung „positives“ oder „negatives“ Kolloid ungenau, weil dasselbe Kolloid in anderen Dispersionsmitteln als Wasser anders geladen zu sein pflegt. Dann bestehen z. B. Farbstofflösungen nicht einfach aus Kolloiden, sondern gewöhnlich aus einem dissoziierten Anteil, der „ionendispersen Phase“, Ostwalds, dann aus den gröberen kolloiden Dispersionen, deren Wanderungssinn nicht von ihrem Chemismus sondern von ihrer Oberflächenladung gegenüber dem Dispersionsmittel nach dem Coehnschen Gesetz bestimmt wird. In biologischen Flüssigkeiten, in denen die Ionendispersoide von den grob dispersen Kolloiden Eiweiß, Kohlenhydrat, adsorbiert zu werden pflegen, verhalten sich die Farbstoffe nicht so komplex, wie es nach dem Vorgesagten zu erwarten wäre, sondern wandern so, als ob sie nur aus ihrer Kolloidphase bestehen würden, gewöhnlich zur Anode. Die erste Beobachtung dieser Tatsache stammt von Schulemann<sup>3)</sup>.

Sehr leicht läßt sich die elektrische Wanderungsrichtung jedes Farbstoffes voraussagen, wenn man ihn vorher in einem Fließpapierstreifen hat aufsteigen lassen. Gleichgültig ob sauer oder basisch — eine Beobachtung, die schon bei Pelet-Jolivet durch in Millimeter genau gemessene Aufstiegszahlen festgelegt ist — wandern die Farbstoffe entweder mit dem Dispersionsmittel, oder bleiben zurück, indem sie sich von ihm trennen. Die zur Anode wandernden bleiben zurück, die zur Kathode wandernden steigen auf. (Fichter-Sahlbom behauptet das direkte Gegenteil, offenbar deshalb, weil er mit stark verdünnten, vollkommen dissoziierten Lösungen gearbeitet hat.)

Es erscheinen folgende Zonen:

1. Eintauchzone (unveränderter Farbstoff).

<sup>1)</sup> Kolloid-Zeitschr. 24. 1919. 26. 1920.

<sup>2)</sup> Journ. Amer. Chem. Soc. 40. 1918.

<sup>3)</sup> Schulemann, Diese Zeitschr. 80. 1917; Kolloid-Zeitschr. 20. 1917.

2. Anodenzone (bei Indicatoren gewöhnlich in der saueren Farbnuance mit gezackten Rändern).

3. Wasserzone (farblos bei einfach anodisch wandernden Farbstoffen).

4. Kathodenzone (bei kathodisch wandernden Farblösungen in der basischen Farbnuance).

Nicht nur Kolloide, auch Elektrolytlösungen mit kleinsten Molekülen lassen sich so zerlegen. Derartige Versuche rühren von Schmidt<sup>1)</sup> (Düsseldorf) 1919 her, der Salzsäure durch Ansaugen in Fließpapier elektrolysiert hat. Auch bei ihm ebenso wie bei Pelet-Jolivet und bei mir erscheinen die Anionen in der zweiten Zone. Auf den Zusammenhang dieser untereinander bisher nicht zusammenhängenden Versuche bin ich nicht durch theoretische Überlegungen geführt worden, sondern durch den anfänglichen Irrtum, den ich mit allen hier zitierten Autoren teilte, daß basische Kolloide zur Kathode wandern müssen und saure umgekehrt. Ich hatte durch verschiedene voneinander ganz unabhängige Methoden Kathoden und Anoden in lebenden Pflanzenschnitten mikroskopisch ermittelt, die aber absolut nicht mit den Färbungen durch Farbstoffkolloide stimmten<sup>2)</sup>. Erst nach der Entdeckung der Unabhängigkeit der Oberflächenladung der Kolloidphase von der chemischen Natur ergab sich eine vollkommene Übereinstimmung zwischen dem Wanderungssinn und der mikroskopischen Vitalfärbung von Schnitten.

Nach Feststellung der elektrischen Zerlegung der Farbstoffe und Farbstoffmischungen im Fließpapier habe ich auch andere Lösungsmittel als Wasser angewendet, z. B. Alkohol (Dielektrizitätskonstante 25,8 gegen Wasser 81). In Alkohol wanderten alle untersuchten Farbstoffe kathodisch, sowohl im Strom, als im Fließpapier, als im lebenden Schnitt. Nur einige Farbstoffe färbten nicht die Kathoden sondern alles diffus. Ähnlich war das Verhalten in Glycerin (Diel. Konstante 15). Die Versuche in Fließpapier sind leicht zu machen, sie sind namentlich sehr einleuchtend mit Farbstoffen wie Neutralrot, Safranin, deren Säurefarbe sich kräftig von der farbschwachen Basenfarbe abhebt. Die ins blaurote spielende Säurefarbe erscheint gewöhnlich etwas ungezackt infolge der Unregelmäßigkeit des Papiers gleich nach

<sup>1)</sup> Schmidt, Kolloid-Zeitschr. 24. 1919.

<sup>2)</sup> Neue Versuche über mikroskopischen Elektr. Nachweis. Wien 1919.

der Eintauchstelle in der Region, die ich als Anodenregion bezeichne und die bei der gleichen Papiersorte sich sehr regelmäßig abgrenzt. Beim Auftropfen der Farblösung ist der innere Ring anodisch, der äußere kathodisch.

Mit dem eingangs erwähnten Autor J. Grüss bin ich nun der Meinung, wenn auch aus anderen Gründen als dieser, daß diese Versuchsmethode biochemisch ausgenützt werden sollte. Ich habe es immer sehr bedauert, daß die Biochemiker, die Enzymreaktionen studieren, dies tun, ohne auf die Tatsache Rücksicht zu nehmen, daß im lebenden Körper die Enzyme ununterbrochen unter der Mitwirkung arteigener, genau in Spannung und Kapazitätsgröße abgestufter Elektrizitätspotentiale arbeiten. Wer also im Reagensglas ohne elektrische Ladungen die biochemischen Reaktionen mit Preßsäften von Organen oder sonstwie nachahmt, arbeitet unter erkünstelten, abnormalen Bedingungen, gleichsam so als ob er bei Gefriertemperatur arbeiten würde, wenn er weiß, daß die betreffenden Enzyme nur bei Körpertemperatur wirksam sind. Ich habe dabei die bewundernswerten Arbeiten von R. Willstätter und seiner Mitarbeiter über Chlorophyllassimilation im Auge oder diejenigen von C. Neuberg und seiner Mitarbeiter über den Chemismus der Alkoholgärung. Allerdings ist es nicht leicht, die in mikroskopischen Entfernungen arbeitende Bioelektrizität mit ihren ziemlich niedrig gespannten Strömen im Laboratorium nachzuahmen. Mit einem gewöhnlichen Strom ist dies nicht durchführbar, ob zwar immer wieder behauptet wird, daß Durchströmung mit Gleich- und Wechselstrom die Gärung befördert. Nimmt man schwache Ströme und Entfernungen des freien Auges, so kommt auf ein einzelnes Lösungselement von einem Milliardstel Millimeter eine so unendlich kleine Spannung, daß eine Reaktion kaum nachweisbar sein dürfte, nimmt man starke Ströme so hat man Gasschaumbildung, sekundäre starke Säuren und Basen, Oxydations- und Reduktionsprodukte, die jeden Vergleich mit einer normalen Zellreaktion ausschließen.

Da ist nun die Capillarelekttrizität ein sehr bequemes und den Verhältnissen der lebenden Zelle sehr angenähertes Mittel, um biochemische Reaktionen von Enzymen oder von Lichtstrahlenwirkungen so mit elektrischen Potentialen zu kombinieren, daß die biochemischen Wirkungen der Enzyme scharf getrennt werden

können von den biophysikalischen der in den Zellen stets vorhandenen Elektroden. Soweit es der Augenschein erkennen läßt, sind beispielsweise die Einwirkungen auf Farbstoffe bei der Capillarwirkung von mittelstark saugfähigem Fließpapier jenen der Zellelektroden viel ähnlicher als die Farbänderungen der Indikatoren unter künstlichen Laboratoriumsströmen. Dies gilt sowohl in einem positiven als auch in einem negativen Sinn. Das Freimachen von Jod aus Jodkalistärke, das im Laboratorium schon mit 2 Volt Spannung deutlich zu erzielen ist, gelingt mir bisher niemals mit Zellanoden, aber es gelingt auch nicht mit Papiercapillarelekttrizität, während die Oxydation von Unnas R.W. Reagens (Leukomethylenblau) mit Zellanoden ebenso zuverlässig eintritt, wie mit Fließpapiercapillarelekttrizität. Mit starken Strömen selbstverständlich erst recht.

Grüss hat in seiner Arbeit eine große Reihe von Versuchen auf Fließpapier aufgezählt. Er hat beispielsweise Stärkelösung auf Fließpapier eintrocknen lassen, dann ein Stärke umwandelndes Enzym darauf fließen lassen und später mit Joddampf analysiert. Er beschreibt nur, wie er in dem Teil, den ich Anodenzone genannt habe, die Blaufärbung erhält, im äußeren Ring (Kathodenzone) nicht. Ich habe Jodlösung in destilliertem Wasser, also sicher enzymfrei, auf Stärkefließpapier getropft und erhielt die Jodfärbung genau an meinem mir vertrauten ausgezackten Anodenring, den Kathodenring farblos. Auch bei den anderen Enzymversuchen, die ich nicht nachprüfen kann, da mir hierzu Apparate und Reagenzien nicht zur Hand sind, beschreibt er in der Anodenregion Oxydations- und Säurewirkungen, in der Kathodenregion das Umgekehrte. Der Verdacht liegt nahe, daß er ohne Enzyme mit bloßer Ringerlösung oder vielleicht sogar mit destilliertem Wasser dasselbe erhalten hätte, wenigstens in einigen seiner Versuche mit sog. Oxydasen. Auch er beschreibt die Anodenregion strahlenförmig ausgezackt; man braucht nur einmal einen Tropfen Neutralrot auf Fließpapier fallen zu lassen, um diese Region in ihrer charakteristischen Gestalt vor Augen zu haben.

Abgesehen von diesem Einwand sind aber die Anregungen von J. Grüss äußerst wertvoll. Da es nun einmal schon seit 20 Jahren feststeht, daß Fließpapier Lösungen und Dispersionen aller Art scharf zerlegt und da man bei einiger Übung die beiden Konträrregionen leicht durch Ausschneiden oder Ausstanzen von-

einander trennen kann, so hat man hier ein einfaches Mittel an der Hand, den elektrochemischen Faktor biochemischer Reaktionen zu isolieren, zu variieren, zu verstärken und in einem gewissen Sinne zu messen. Wer in der Lage ist, mit einer biochemischen Apparatur zu arbeiten, sollte es nicht unterlassen, durch einige Filtrierpapierversuche Klarheit über das interessante Problem zu schaffen, inwieweit die Bioelektrizität an enzymatischen oder an anderen chemischen Umsetzungen der Organismen mitwirkt. Es wird sich dann ganz gewiß herausstellen, daß ein Teil der Reaktionen, die bestimmten Enzymen zugeschrieben werden, entweder gar nicht solchen zukommen oder Teileffekte sind, die beliebigen Kolloiden bestimmten Ladungszustandes zuzuschreiben sind. Mit großer Wahrscheinlichkeit gilt dies von sog. Oxydasen und Katalasen.

Es ist schon öfter in der Literatur die Vermutung ausgesprochen worden, daß die Toxine und Antitoxine und Substanzen dieser Art entgegengesetzt elektrisch geladene Kolloide sind, die sich gegenseitig ausfällen. Mit der gegenwärtig üblichen Untersuchungsmethode der Immunsera wird man diesem Problem nicht experimentell beikommen können. In der Capillarisation nach Grüss wäre nun eine Möglichkeit gegeben, nicht bloß positive von negativen Kolloiden im Serum zu trennen, sondern man kann, wie bei Grüss ersichtlich, auch die Zonen erhalten. Auch ich habe in zahlreichen Versuchen beobachtet, daß stärkere oder schwächere Grade von Elektropolarität sich im Fließpapier abgrenzen.

Für die Trennung von positiv und negativ wandernden Kolloiden stehen jetzt drei Methoden zur Verfügung. Die erste ist von Michaelis<sup>1)</sup>, mit der eine große Reihe genauer Untersuchungen erfolgt sind. Es kommen bei ihr 80 Volt auf ein Gefälle von etwa 1500 Millimetern, auf Zellentfernung also ganz minimale Spannungen, die weit unter den von der makroskopischen Elektrophysiologie gemessenen liegen. Die zweite Methode ist die von mir angegebene, die ich System Woborschil<sup>2)</sup> nenne, bei der 80 Volt auf 30 mm kommen, was in gewisser Beziehung den biologischen Verhältnissen sich mehr nähert, in Sekunden zu Resultaten führt,

<sup>1)</sup> Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914, Springer.

<sup>2)</sup> Nach dem Mechaniker des Physiologischen Instituts der deutschen Universität in Prag, dem ich diese Versuchsanordnung verdanke.

aber naturgemäß nur für ganz grobe Vorversuche qualitativer Art ausreicht. Ein Serum kann man damit nicht zerlegen, da sofort alles Eiweiß koaguliert wird. Die dritte ist die Methode von J. Grüss, die Zerlegung in Fließpapier mit nachherigem Auspressen oder Auslaugen der verschiedenen Regionen, der eine große Zukunft prophezeit werden kann.

Mit der Capillarisation von J. Grüss wird sich die Streitfrage, ob Komplemente stofflicher Natur und Kolloide sind, eindeutig entscheiden lassen und ähnliche Fragen wie die nach der entgegengesetzten Kolloidladung von Toxin und Antitoxin. Ich glaube nicht, daß die Präzipitine entgegengesetzt geladen sind wie die von ihnen ausgefallten Eiweiße; soweit sie Kolloide sind, werden sie wohl beide im Serum zur Anode wandern. Wenn eine Komplementablenkung in Fließpapier durch Capillarisation gelingt, so ist damit sichergestellt, daß das Komplement kein Kolloid ist. Man sieht, daß die Capillarisation eine Versuchsmethode ist, die auf interessante Fragen Antwort geben kann.

Einschaltung während des Druckes: Für praktische Versuche ist es empfehlenswert, daß die Fließpapierzonen rasch ausgeschnitten oder ausgestanzt werden. Infolge von Polarisation, Diffusion oder aus anderen Ursachen blässen die Indikatoren nach Beendigung der Capillarströmung oft sehr schnell ab. Läßt man beispielsweise durch Kalilauge entfärbtes Brillantblau II (Grübler) in Fließpapier wandern, so erhält man schöne Säurefarben (Anoden-) und Basenfarben (Kathoden-) Regionen, die aber nach dem Eintrocknen der Lösung sich direkt umkehren.

# Über den Einfluß einiger darmwirkender Arzneimittel auf die endogene Harnsäureausscheidung.

Von

W. Andree und H. Wendt.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität und der II. medizinischen Abteilung des allgemeinen Krankenhauses St. Georg zu Hamburg.)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Zu der großen Zahl von Versuchen und Arbeiten über den Purinstoffwechsel und insbesondere über die Harnsäure steht in gewissem Gegensatz die geringe Kenntnis, die wir über den Einfluß der verschiedenen Pharmaka auf die endogene Harnsäureausscheidung besitzen. Es soll daher diese Arbeit einen Beitrag hierzu liefern. Besonders soll es unsere Absicht sein, darzutun, wie sich die Harnsäureausscheidung darmwirkenden Mitteln, insbesondere Laxantien und Obstipantien, gegenüber verhält.

Auf diesem Gebiet arbeitete vor einigen Jahren Abl<sup>1)</sup>, er findet, daß die Abführmittel ein Ansteigen, die Stopfmittel dagegen ein Absinken der endogenen Harnsäure bewirken. Diese Befunde ließen sich in guten Zusammenhang bringen mit den Arbeiten von Weintraud<sup>2)</sup>, Mares<sup>3)</sup> und Smetanka<sup>4)</sup>, die dargetan hatten, daß die Harnsäureausscheidung in Abhängigkeitsverhältnis stand zur Tätigkeit des Darmes und der Verdauungsdrüsen. Es sollte vermehrte Tätigkeit des Verdauungstrakts auch eine größere Harnsäureausscheidung bewirken.

Eine Nachprüfung dieser Fragen und damit verbundene Versuche von Gudzent, Maase und Zondek<sup>5)</sup> ergaben eine — wie von ihnen selbst angegeben — nur teilweise Bestätigung der Ablschen<sup>6)</sup> Angaben: so für Sennes, Magn. sulf., Frang., dagegen nicht für Ricinus.

<sup>1)</sup> Abl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74.

<sup>2)</sup> Weintraud, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1896 und 1900.

<sup>3)</sup> Mares, Arch. f. d. ges. Physiol. 134 u. 149.

<sup>4)</sup> Smetanka, Arch. f. d. ges. Physiol. 138 u. 149.

<sup>5)</sup> Gudzent, Maase und Zondek, Zeitschr. f. klin. Medizin 66.

<sup>6)</sup> Abl, l. c.

Ob wir diese Schwankungen tatsächlich auf die Wirkung der betreffenden Pharmaka zurückführen dürfen, und ob die Schwankungsdifferenzen groß genug waren und nicht vielleicht innerhalb der gewöhnlichen Grenzen liegen, war für uns eine Frage, die einer Voruntersuchung bedurfte. Wenn wir den Einfluß eines Medikamentes auf die endogene Harnsäureausscheidung prüfen und beurteilen wollen, müssen wir zunächst einmal wissen, wie groß die Minimum- und Maximumwerte an Normaltagen sind, d. h. an Tagen, an denen keine Medikation erfolgte. Weiter mußten die Schwankungen auf ein Mindestmaß herabgedrückt werden durch geeignete Diät und Lebensweise, worauf wir weiter unten noch zu sprechen kommen. Wir können zum Vergleich nur Versuche nehmen, die bei einer genau abgewogenen, täglich gleichen, purinarmen Nahrung und sonstigen gleichen Versuchsbedingungen (Ausschaltung von stärkerer, körperlicher Arbeit) ausgeführt sind. Um einwandfreie Werte zu erhalten, ist es außerdem dringend notwendig, nur Selbstversuche in Betracht zu ziehen.

Wie groß sind nun bei dieser Versuchsanordnung die Schwankungen der endogenen Harnsäureausscheidung? Legt man den eben präzierten, strengen Maßstab an, so halten nur wenige Versuche, die sich in der Literatur finden, einer Kritik stand. Sämtliche uns bekannt gewordenen Versuche der Literatur, die in Betracht kommen, sind in Tabelle I zusammengestellt.

Auch Hungerversuche und Selbstversuche mit konstanter, aber purinhaltiger Kost finden sich in der Zusammenstellung. Bei Abelin und Blumberg<sup>1)</sup> finden wir noch einige Hungerwerte, die große Schwankungen zeigen. Als Beispiel soll nur der von dem Hungerkünstler Succi angeführt werden.

Die Versuche von Cathcart sowie von Burian und Schurr sind die einzigen, die allen Anforderungen genügen. Ihre Resultate sind jedoch recht verschieden. Cathcart, der sich 5 Tage nur mit einer täglichen Kost von 454 g Bananen und 250 g Honig begnügte, hat Schwankungen von 0,519—0,369, d. h. 40% auf den Minimalwert berechnet. Bei Burian und Schurr erhalten wir die Zahlen: höchstens 0,586—0,554 oder 5,8%, ja in einem Versuche differieren ihre Werte nur von 0,568—0,552 oder 2,8%. Bei dem Wert, den Brugsch und Schittenhelm an dem Hungerkünstler Succi erhielten, kommen wir auf einen Unterschied von 43%. Die Versuche, die Burian und Schurr bei konstanter Diät, aber mit genau abgewogenem Fleischzusatz machten, zeigen Schwankungsunterschiede von 5—19,5%. Herrmann und Pringsheims Selbstversuche mit konstanter, gemischter

<sup>1)</sup> Abelin und Blumberg, diese Zeitschr. 81.



Tabelle I.

Laufende Nr.	Name	Zahl der Vers.-Tage	Ü-Ausscheidung		Schwankung		Ver-suchs-art	Kost	Bemerkungen
			in g max.	pro die min.	in g	in % des Min.-Wertes			
1	Cathcart <sup>1)</sup>	5	0,519	0,369	0,150	40,6	Selbst	Alle Tage konstant	454 g Bananen, 290 g Honig.
2	Burian und Schur <sup>2)</sup>	3	0,586	0,554	0,032	5,8	"	"	1 l Milch, 10 Eier, 360 g Brot, 90 g Käse, 100 g Butter.
3	"	4	0,568	0,552	0,016	2,8	"	"	500 g Kartoffeln, 100 g Reis, 360 g Weißbrot, 150 g Butter, 40 g Zucker, Kopfsalat.
4	"	4	0,399	0,389	0,010	2,6	"	"	190 g Fleisch, 390 g Brot, 0,450 l Milch, 6 Eier, 5 St. Kartoffeln, 45 g Kaffee, Zucker, Butter.
5	Herrmann <sup>3)</sup>	9	0,761	0,631	0,130	20,6	"	"	Purinarm mit 420 g Fleisch.
6	"	5	0,689	0,581	0,108	18,6	"	"	" 420 g "
7	"	8	0,707	0,624	0,083	13,3	"	"	" 420 g "
8	Pringsheim <sup>4)</sup>	4	0,727	0,625	0,102	16,3	"	"	Fleischkost.
9	Burian und Schur <sup>5)</sup>	4	0,915	0,871	0,044	5,0	"	"	250 g Fleisch, 120 g Schinken, 300 g Brot, 30 g Käse, 100 g Butter, 30 g Zucker, 30 g Kaffee, 0,600 l Bier.
10	"	4	0,617	0,510	0,101	19,5	"	"	1 1/2 l Milch, 10 Eier, 360 g Brot, Butter, Zucker.
11	"	5	1,059	1,013	0,046	4,5	"	"	"
12	Hungerkünstler Succ <sup>5)</sup>	10	0,447	0,312	0,135	43,3	"	Hunger	"

1) Cathcart, Journ. of physiol. 39.

2) Burian u. Schur, Archiv f. d. ges. Physiol., 80.

3) Herrmann, Dtsch. Archiv f. klin. Med., 43.

4) Pringsheim, Zeitschr. f. phys. und diät. Ther. 10.

5) Brugsch u. Schittenhelm, Zeitschr. f. experim. Pathol. und Ther. 1.

Kost zeigen Schwankungen von 13—20, bzw. 16%. Versuche an Patienten von Mohr und Kaufmann<sup>1)</sup>, Hefter<sup>2)</sup> Hirschstein<sup>3)</sup>, Brugsch und Schittenhelm<sup>4)</sup>, Pietrulla<sup>5)</sup> weisen noch größere Schwankungen auf, die vielleicht mit auf die Unzuverlässigkeit von nicht interessierten Personen bei solchen Versuchen zu beziehen sind.

Der Widerspruch bei den Werten in Cathcarts und Burian und Schurs Versuchen, die von allen als die einwandfreiesten zu betrachten sind, ließ es uns wünschenswert erscheinen, der Frage durch Selbstversuche noch einmal nachzugehen, da diese normalen Schwankungen uns erst die Grundlage für die Beurteilung unserer Versuche mit Arzneimitteln geben.

Zu diesem Zwecke stellten wir Untersuchungen an uns selbst an mit einer Kost, die lediglich aus täglich gleichen, genau abgewogenen Mengen purinarmer Nahrungsmittel bestand. Wir waren ferner bemüht, eine möglichst gleichmäßige Lebensweise innezuhalten. Der Urin wurde täglich morgens 8<sup>h</sup> abgegrenzt und die 24stündige Menge gemessen.

Die Harnsäurebestimmungen wurden nach der Folin-Shaferschen Methode in Doppelbestimmungen gemacht, an einigen Tagen und bei zwei Versuchsreihen durchgehend Nebenanalysen nach Wörner ausgeführt. Beide Methoden ergaben gute Übereinstimmungen. Es seien nun die Resultate unserer Selbstversuche an Normaltagen wiedergegeben: Tab. II, III, IV und V.

Tabelle II.  
Prof. B. gesund.

Datum	Urinmenge ccm	$\bar{U}$ in ‰ in g	$\bar{U}$ pro die in g	Kost	Bemerkungen
12. XII.	1450	0,290	0,421	450 g Brot	Purinfreie Kost seit 9. XII. Max.-Wert 0,546, Min.-Wert 0,421, Diff. 0,125 oder 29,7%.
13. XII.	1375	0,390	0,536	50 g Syrup	
14. XII.	2100	0,260	0,546	50 g Käse	
				25 g Fett 20 g Zucker 500 g Kartoffeln 100 g Haferflocken $\frac{1}{4}$ l Milch	

<sup>1)</sup> Mohr und Kaufmann, Dtsch. Archiv f. klin. Med. 74.

<sup>2)</sup> Hefter, Arch. f. klin. Med. 109.

<sup>3)</sup> Hirschstein, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57.

<sup>4)</sup> Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. I.

<sup>5)</sup> Pietrulla, Arch. f. Verdauungskrankh. 19.

Tabelle III.  
Prof. B. gesund.

Datum	Urin- menge ccm	$\bar{U}$ ‰ in g	$\bar{U}$ pro die in g	Spez. Gewicht	Tages-N in g	Kost	Bemerkungen
29. I.	1450	0,423	0,613	1014	11,12	450 g Brot	Beginn der Kost schon am 28. I. Max.-Wert 0,621, Min.-Wert 0,518, Diff. 0,103 oder 19,8%.
30. I.	1290	0,489	0,621	1018	9,0	50 g Käse	
31. I.	1560	0,390	0,608	1016	8,8	50 g Marmelade	
1. II.	1240	0,434	0,537	1018	8,36	30 g Fett	
2. II.	1035	0,500	0,518	1020	8,05	20 g Zucker	
3. II.	1180	0,482	0,569	1020	9,09	100 g Haferflocken	
4. II.	1280	0,459	0,588	1020	9,0	500 g Kartoffeln	
5. II.	1075	0,547	0,588	1024	9,15	$\frac{1}{4}$ l Milch	

Tabelle IV.  
Dr. W., 30 J., gesund.

Datum	Urin- menge ccm	$\bar{U}$ ‰ in g	$\bar{U}$ pro die in g	Spez. Gewicht	Tages-N in g	Kost	Bemerkungen
9. II.	860	0,522	0,449	—	7,9	450 g Brot	Max.-Wert 0,513, Min.-Wert 0,412, Diff. 0,101 oder 24,5%.
10. II.	780	0,586	0,457	—	9,28	50 g Butter	
11. II.	1070	0,446	0,477	—	10,28	50 g Käse	
12. II.	850	0,485	0,412	—	9,14	30 g Marmelade	
13. II.	1050	0,444	0,466	—	8,7	400 g Kartoffeln	
14. II.	770	0,644	0,496	—	8,8	20 g Zucker	
15. II.	1290	0,398	0,513	—	9,7	100 g Reis 1 Ei $\frac{1}{4}$ l Milch	

Tabelle V.  
Dr. A., 29 J., gesund.

Datum	Urin- menge ccm	$\bar{U}$ ‰ in g	$\bar{U}$ pro die in g	Körner- Methode	Tages-N in g	Kost	Bemerkungen
12. I.	960	0,452	0,434	—	8,47	40 g Haferflocken	Max.-Wert 0,434, Min.-Wert 0,345, Diff. 0,089 oder 25,8%.
13. I.	1240	0,278	0,345	0,345	7,7	60 g Reis	
14. I.	1010	0,358	0,362	0,356	7,15	450 g Brot	
15. I.	1360	0,260	0,354	0,344	7,8	45 g Butter	
						250 g Kartoffeln	
						20 g Zucker	
						20 g Honig	
						$\frac{1}{2}$ l Milch	
						1 Ei	
						0,6 l Kornkaffee	

Hieraus ergeben sich die Schwankungswerte: 29,7%, 19,8%,  
24,5%, 25,8% über den in jeder Versuchsreihe niedrigsten Wert.  
Wir müssen also den Schluß ziehen, daß die endogene Harnsäure-

ausscheidung der gleichen Person bei völlig konstanter, purin-  
armer Kost und gleichmäßiger Lebensweise Schwankungen er-  
leidet, die zwischen 20 und 30% liegen. Das sind Zahlen, die von  
denen Burian und Schurs stark abweichen, dagegen niedriger  
sind als die von Cathcart. Sie liegen etwa zwischen beiden.  
Ziehen wir in Tab. V den Wert des ersten Tages ab, weil am Vor-  
tage noch Fleisch genossen wurde, so kommen wir allerdings zu  
einem Wert, der dem von Burian und Schur erheblich näher  
kommt. Wir erhalten dann nämlich nur 4,9% Unterschied. Aber  
die Zahl der niedrigen Schwankungen scheint uns doch nicht die  
Norm zu sein, wir müssen annehmen, daß gesunde Individuen  
bei konstanter, purinarmer Kost häufig Schwankungen in der täg-  
lichen Harnsäureausscheidung von 20—30% zeigen.

Erhalten wir also nach Darreichung einer Arznei nicht eine  
Mehrausscheidung an Harnsäure von mehr als 20—30% über das  
Minimum der Vortage oder von nicht mehr als 10—15% über das  
Mittel einer Reihe von Vortagen, so können wir sie nicht als vom  
Medikament hervorgerufen ansehen, sondern müssen sie als  
Normalschwankung betrachten. Wenn wir nun an unseren Nor-  
maltagen mit konstanter, purinarmer Kost schon derart große  
Schwankungen des Harnsäurespiegels bekommen, wie groß müssen  
diese erst sein, wenn zwar purinarmer, aber wechselnde Nahrung  
der Versuchsperson gereicht wird!

Anfangs erwähnten wir die Arbeiten von Abl<sup>1)</sup>, dessen Er-  
gebnisse durch die Untersuchungen von Gudzent, Maase und  
Zondek<sup>2)</sup> in gewissem Sinne Bestätigung fanden. Durch diese  
Forscher wurde der Einfluß von Medikamenten, insbesondere  
Darmmitteln, auf die Harnsäureausscheidung geprüft. Gegen diese  
Arbeiten müssen wie nach unseren eben beschriebenen Versuchen  
einige Bedenken geltend machen. Zum ersten wurden von ihnen  
Patienten benutzt, die ja in ihrer Bewertbarkeit nicht an Selbst-  
versuche heranreichen. Zum anderen aber wurde keine konstante,  
sondern wechselnde, schlechthin „purinarmer“ Diät gegeben. Es  
ist deshalb unseres Erachtens schwer zu beurteilen, ob die Auf-  
und Abschwankungen bei diesen Versuchen tatsächlich mit der  
Medikation in Abhängigkeitsverhältnis zu bringen sind oder ob  
sie nicht auf das Konto der Unzuverlässigkeit der Patienten, der

<sup>1)</sup> Abl, l. c.

<sup>2)</sup> Gudzent, Maase und Zondek, l. c.

Inkonstanz der Kost und der normalen Schwankungen der Harnsäureausscheidung zu schreiben sind. Wir selbst haben zuerst an Patienten und mit wechselnder, purinarmer Kost Versuche angestellt, waren aber so enttäuscht, daß wir davon abließen. Wir mußten uns leider auch von der Unzuverlässigkeit der nicht interessierten Patienten überzeugen. Die Ergebnisse seien deshalb auch nur ganz kurz später erwähnt. Es scheinen uns daher nur Selbstversuche mit konstanter, purinarmer Kost beweisend zu sein. Wir stellten unsere Versuche mit Medikamenten genau wie an den Normaltagen mit der gleichen Kost an, bzw. ließen sie direkt den Normaltagen folgen. Es wurden einige Abführ- und Stopfmittel und ihre Wirkung auf die Harnsäureausscheidung geprüft. Die Atophandarreichung hatte den Zweck, zu zeigen, daß die betr. Versuchspersonen auch tatsächlich imstande seien, Harnsäure in vermehrtem Maße auszuschcheiden<sup>1)</sup>.

Tabelle VI.

Prof. B.

Datum	Urinmenge in ccm	U in ‰ in g	U in g pro die	Kost	Medikation	Bemerkungen
Durchschnitt aus 3 Vortagen			0,501	konst.		
15. XII.	1390	0,358	0,498	purinfrei	3×3 g Sennes	
16. XII.	1320	0,334	0,441	—	0,6 g Rheum	
17. XII.	1312	0,375	0,495	—	3 g Atophan	
19. XII.	>1010	0,633	>0,639	—		Urin von 8 <sup>h</sup> mgs. bis 9 <sup>1/2</sup> <sup>h</sup> abds. = 13 <sup>1/2</sup> Stunden.

Tabelle VII.

Dr. W.

Datum	Urinmenge in ccm	U in ‰ in g	U in g pro die	Kost	Medikation	Bemerkungen
Durchschnitt aus 7 Vortagen			0,467	konst.		
18. II.	740	0,525	0,389	—	0,5 g Rheum	
21. II.	900	0,881	0,793	—	2 g Atophan	

<sup>1)</sup> Vgl. dazu den von Griesbach und Samson (diese Zeitschr. 94, 277.) in unserem Institut erbrachten Nachweis, daß gewisse Personen im Stadium der Unterernährung auf Atophandarreichung nicht mit vermehrter Harnsäureausscheidung reagieren.

Tabelle VIII.  
Dr. A.

Datum	Urin- menge in ccm	$\bar{U}$ in ‰ in g	$\bar{U}$ in g pro die	Kost	Medika- tion	Bemerkungen
Durchschnitt aus 3 Vortagen			0,355	konst.		
16. I.	890	0,372	0,331	—	0,6 g Rheum	
17. I.	720	0,459	0,331	—	—	
18. I.	1680	0,233	0,391	—	—	
19. I.	820	0,445	0,365	—	20 g Natr. sulf.	
20. I.	1180	0,332	0,392	—	—	
21. I.	915	0,493	0,451	—	2 g Bism. subnitr.	
22. I.	1075	0,368	0,396	—	—	
23. I.	1445	0,251	0,363	—	—	
26. I.	890	1,022	0,910	—	3 g Atophan	

Mit Deutlichkeit erhellt aus vorstehenden Tabellen, daß in keiner Weise von einer Wirkung der Abführmittel, (Rheum, Senna, Natriumsulfat) auf die Harnsäureausscheidung gesprochen werden kann. Schon gar nicht können wir ein Mehr erkennen, eher vielleicht ein geringes Weniger, das aber auch nicht infolge des Laxans hervorgerufen ist, sondern innerhalb der Schwankungsgrenzen an Normaltagen liegt. Gleichfalls ist das Bism. subnitr. ohne Wirkung geblieben.

Tabelle IX.

Laufende Nr.	Name	Krankheit	Zahl der Normaltage	Ü-Ausscheidung		Mittel	Medikation	Ü-Ausscheidung			in %
				Max.	Min.			an Tage d. Medikation	(vgl. m. dem Mittel) am Tage der Medikation %	am Nach- tage	
1	Dr. W.	gesund	3	0,537	0,434	0,453	Senna	0,564	+ 25	0,537	+ 23
2	Dr. A.	"	4	0,379	0,327	0,353	"	0,373	+ 6	0,280	- 27
3	"	"	4	0,379	0,327	0,353	Bitter- wasser	0,418	+ 19	0,280	- 21
4	Laatz	Bron- chitis	5	0,540	0,410	0,492	2 x 20 g Natri- umsulf.	0,440	- 10	0,570	+ 16
5	Kusel	Ulcus ventr.	6	0,380	0,260	0,290	"	0,400	+ 38	0,350	+ 20
6	Röhrig	Ulcus ventr.	3	0,460	0,380	0,407	Senna	0,340	- 16	0,444	+ 8
7	Riepen	Gelenk- rheum.	5	0,468	0,204	0,372	2 x 20 g Natri- umsulf.	0,355	- 5	—	—
8	Dr. A.	gesund	4	0,379	0,327	0,353	Uzara 40 mg	0,417	+ 15	0,385	+ 9

Unsere Versuche an Patienten und uns selbst mit purinarmer, aber nicht konstanter Kost seien der Gleichheit mit denen von Abl wegen kurz tabellarisch aufgeführt. Es sei aber betont, daß wir auf sie keinen ausschlaggebenden Wert legen möchten. (Siehe Tabelle IX.)

Bei näherer Betrachtung der Tabelle IX fällt uns zunächst die große Verschiedenheit der Schwankungswerte auf. Sie sind aber nicht größer als die Schwankungen, die wir an Normaltagen mit konstanter Kost bei Selbstversuchen erhielten. Der einzige Wert, der für die Versuchsergebnisse von Abl spräche, ist der, den wir bei dem Pat. Kusel nach Darreichung von  $2 \times 20$  g Natr. sulf. erhielten. Da wurde 38% mehr Harnsäure ausgeschieden als an den Normaltagen. Das könnte man als eine Mehrausscheidung im Abl'schen Sinne bezeichnen. Aber auch bei diesem Versuch müssen wir einen Abzug machen. Wir entnehmen nämlich aus dem ungekürzten Versuch für den Tag vor der Medikation schon einen Wert von 0,350 g Harnsäure. Also, an einem Normaltage eine beträchtliche Mehrausscheidung gegenüber den anderen Normaltagen ohne irgendwelche uns bekannte äußere Ursache. Hätten wir das Medikament an diesem Tage, also einen Tag vor der tatsächlichen Medikation, gegeben, so hätte man es im Sinne Abl's deuten können. Es kann sich bei der Erhöhung dieses Wertes vielleicht auch um einen Diätfehler des Patienten handeln. Dieses zufällige Ergebnis berechtigt uns nur allzu sehr der zu Forderung: es sind Selbstversuche mit konstanter Kost unbedingt notwendig, wenn anders wir nicht Ungenauigkeiten und Scheinresultaten und damit auch Trugschlüssen ausgesetzt sein wollen.

Die Wirkung des Uzara sei hier auch nur kurz erwähnt. Keinesfalls läßt das Mittel eine Herabminderung der Harnsäureausscheidung erkennen, absolut sogar eine Vermehrung, jedoch zu gering, um wirklich ins Gewicht fallen zu können.

Woran liegt nun der verschiedenartige Ausfall der Ergebnisse, die einerseits Abl, sowie Gudzent, Maase und Zondek zum Teil und wir andererseits gefunden haben?

Die Größe der Dosierung der einzelnen Mittel haben wir gleich der von Abl gemacht. Unseres Erachtens kommt nur die Inkonstanz der Nahrung und die Unzuverlässigkeit der Patienten in Betracht. Wer ist imstande, in einem großen Krankenhausbetriebe die einzelnen Personen genau zu überwachen? So ist mit

größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß unser Patient Kusel am Tage vor Darreichung des Abführmittels etwas gegessen hat, das die Harnsäureausscheidung beeinflußt hat.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß auch Abl an Normaltagen Schwankungen in der Harnsäureausscheidung bekommt, die größer sind als die, die durch Einwirkung von Medikamenten hervorgerufen sein sollen. So begegnen wir — neben höheren Werten — den Angaben: 27, 14, 15, 28, 27% Steigerung. Faktisch sind aber Schwankungsunterschiede an Normaltagen vorhanden, die sich auf 76, 33, 45 ja 93% belaufen. Wenn so große Unterschiede an Normaltagen vorkommen, können wir unmöglich für gleich große oder gar geringere Schwankungen in der Harnsäureausscheidung die Wirkung der Arzneimittel verantwortlich machen.

#### **Zusammenfassung.**

1. Die Normalschwankungen der endogenen Harnsäureausscheidung in Selbstversuchen mit konstanter, purinärmer Kost belaufen sich auf 20—30%.

2. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache haben entgegen der Angaben anderer Untersucher weder Abführmittel (Rheum, Senna, Glaubersalz) eine Mehr-, noch Stopfmittel (Bismut, subnitric., Uzara) eine Wenigerausscheidung der Harnsäure zur Folge.

---



**Über das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen  
im Blute von Kranken**  
(Diabetes mellitus, Nierenerkrankungen).

Von  
**Wilhelm Stepp.**

(Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Gießen [Prof. Voit].)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Im Verlaufe von Untersuchungen über den Blutzucker bei Diabetikern habe ich neben Reduktionsmethoden (Bertrand und Lehmann - Maquenne) auch das polarimetrische Verfahren verwendet<sup>1)</sup>. Dabei ergaben sich für die Mehrzahl der Fälle recht beträchtliche Unterschiede; die Drehungswerte lagen meist erheblich tiefer als die Reduktionswerte. Welche Werte durften nun auf Traubenzucker bezogen werden? Sowohl das Reduktions- wie das polarimetrische Verfahren ist bekanntlich nur dann zur quantitativen Zuckerbestimmung zu gebrauchen, wenn in der zu untersuchenden Lösung neben Zucker nicht gleichzeitig andere reduzierende oder drehende Substanzen zugegen sind. Das war aber offenbar hier der Fall, und so zog ich bei der weiteren Fortsetzung dieser Untersuchungen noch die quantitative Gärungsprobe heran<sup>2)</sup>. Zwar war nach den Untersuchungen Neubergs über zuckerfreie Hefegärung auch die Gärungsmethode nicht ganz fehlerfrei, aber man durfte hier doch wohl von vornherein mit geringeren Fehlern rechnen.

In der Tat brachte das Arbeiten mit der Gärungsprobe unter Verwendung des Lohnsteinschen Präzisionsgärungssaccharimeters eine ganz wesentliche Klärung der Frage. Die Polarisations- und Gärungswerte zeigten nämlich vielfach eine ganz auffallend gute Übereinstimmung, so daß man wohl annehmen darf, daß die

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. inn. Med. 40. Jahrg. Nr. 24. 1919.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 107, 29. 1919.

mit diesen beiden Methoden gefundenen Werte den Traubenzucker-  
gehalt des Blutes richtig anzeigen.

Welcher Art sind nun die Substanzen, die wohl reduzieren,  
aber weder drehen noch vergären? Einen wichtigen Fingerzeig  
dafür, in welcher Richtung man zu suchen hatte, gab die Be-  
stimmung der Reduktion in den zum Zwecke der Polarisierung  
im Vakuum (bei 38° C) eingeengten Blutauszügen. Zu meiner  
Überraschung fand ich, daß die Reduktion hier vielfach geringer  
war, als sie nach der Berechnung unter Berücksichtigung der  
Konzentration hätte ausfallen müssen. Da man mit einer Zer-  
störung von Zucker während des Einengungsverfahrens, wie in  
besonderen Versuchen an reinen Traubenzuckerlösungen in Über-  
einstimmung mit den Erfahrungen anderer Autoren dargetan  
werden konnte, nicht zu rechnen brauchte, so war ein Teil der  
reduzierenden Substanzen wahrscheinlich verlorengegangen.  
Sollte es sich dabei vielleicht um flüchtige reduzierende Verbin-  
dungen handeln, die bei der Vakuumdestillation abgesaugt wur-  
den? Dieser Gedanke fand sehr bald seine Bestätigung. Ich de-  
stillierte einen Teil der zu untersuchenden mit Phosphorwolfram-  
säure gefällten Blutproben unter starker Kühlung und fand in  
den in Eiswasser aufgefangenen Destillaten sehr deutliche Re-  
duktion gegenüber Fehlingscher Lösung. Daß man es hierbei  
in manchen Fällen mit ganz beträchtlichen Mengen zu tun hatte,  
zeigte der starke rote Niederschlag von Kupferoxydul bei Aus-  
führung der Bertrandschen Methode.

Neben ihrer Reduktionsfähigkeit gegenüber Fehlingscher  
Lösung zeigten nun die Destillate noch eine Reihe anderer wich-  
tiger Eigenschaften; davon soll später die Rede sein.

### **I. Das Verhalten der aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillate gegenüber Fehlingscher Lösung.**

Die zur Untersuchung verwandten Blutproben wurden meist mit  
Phosphorwolframsäure<sup>1)</sup>, in einigen Fällen auch mit Sublimat und Salz-  
säure nach Schenck oder, wenn es sich um Serum handelte, mit Eisen  
nach Rona<sup>2)</sup> entweißt.

Bei der Destillation arbeiteten wir in genau der Weise, wie es Embden  
und Schmitz für die Bestimmung des Gesamtacetons vorschlugen<sup>3)</sup>. In

<sup>1)</sup> In der Weise, wie ich es anderwärts beschrieb (Zeitschr. f. physiol.  
Chemie **107**, 29. 1919, s. bes. S. 31.).

<sup>2)</sup> Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **1**, 695. 1910.

<sup>3)</sup> Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden III, **2**, 913 u. 915. 1910.

den Fällen, in denen die beiden Autoren Blut oder Organe zu untersuchen hatten, wurden die Filtrate der Fällung nach Enteiweißung mittels des Schenck'schen Verfahrens ohne weiteren Zusatz verarbeitet. Auch wir gingen so vor und unterwarfen die Filtrate der Phosphorwolframsäurefällung der Destillation, ohne vorher die Phosphorwolframsäure entfernt zu haben. Wo dies in einigen Versuchen geschah, traten natürlich bei dem Wegschaffen des Schwefelwasserstoffs (der das zur Ausfällung der Phosphorwolframsäure benötigte Blei entfernen sollte, zu welchem Zwecke mehrere Stunden Luft durchgeleitet werden mußte), Verluste an Aceton und anderen flüchtigen Substanzen auf. Im übrigen blieben die Verhältnisse — und diese Feststellung ist wichtig — die gleichen. In den Versuchen wo mit Eisen gefällt worden war, wurde nicht besonders angesäuert, sondern wir begnügten uns mit der durch das primäre Natriumphosphat hergestellten sauren Reaktion.

Der Kühler des Destillationsapparates trug an seinem Ende ein spitz zulaufendes Glasrohr, das in eine mit Eiswasser gefüllte Vorlage tauchte, die selbst wieder in Eis gepackt war. Später wurden statt des Eiswassers gleich die zur Bertrand'schen Bestimmung benötigten Mengen der Bertrand'schen Lösungen I und II vorgelegt, so daß die kondensierten flüchtigen Substanzen sofort in die Kupferlösung kamen. Die Destillation selbst wurde mit besonderer Vorsicht ausgeführt, das Erhitzen erfolgte ganz allmählich, so daß nur langsam Luftblase für Luftblase durch die vorgelegte Flüssigkeit hindurchging.

Die Ermittlung der Reduktion des Destillats nach Bertrand erfolgte in der gewöhnlichen Weise, nur wurde auf das Kölbchen während des Kochens ein Rückflußkühler aufgesetzt, um etwaige Verluste zu vermeiden.

In dieser Weise wurden über 20 Fälle untersucht. Die Mehrzahl waren Diabetiker, der Rest Nephritiker und einige Leichtkranke, wo man größere Abweichungen vom Stoffwechsel des Normalen nicht anzunehmen hatte. Fast durchweg wurde das Blut den Patienten morgens im nüchternen Zustande entnommen; während des Ausfließens wurde es dauernd mit einem Glasstabe gerührt und das Rühren solange fortgesetzt, bis alles Fibrin an dem Glasstabe niedergeschlagen war. Die weitere Verarbeitung erfolgte in der früher beschriebenen Weise<sup>1)</sup>.

Um eine möglichst große Genauigkeit des Bertrand'schen Verfahrens zu erzielen, verwandte ich zur Titration an Stelle der sonst üblichen 0,5proz. Kaliumpermanganatlösung eine nur 0,25proz. Die Lösung, die unter besonderen Vorsichtsmaßregeln hergestellt war, hielt, unter den richtigen Bedingungen aufbewahrt<sup>2)</sup>,

<sup>1)</sup> Stepp, Zeitschr. f. physiol. Chemie **107**, 29. 1919.

<sup>2)</sup> Treadwell, Kurzes Lehrb. d. analyt. Chemie, Leipzig-Wien 1907, 4. Aufl.

ihren Titer monatelang unverändert fest. Die mit dieser Kaliumpermanganatlösung erhaltenen Bertrand-Werte sind so hoch, daß kleine etwaige Fehler nicht in Frage kommen. Im übrigen war ja, wie bereits bemerkt, die Reduktion vielfach so stark, daß das Kupferoxydul sich als roter Niederschlag am Boden des Kölbchens absetzte. Die bei der Titration verbrauchten  $\text{KMnO}_4$ -Mengen liegen (bei Verwendung einer entweißten Blutmenge, die etwa 5—6 ccm Blut entsprach) zwischen 0,1 ccm im Minimum und 1,9 ccm im Maximum.

Aus der Zahl der untersuchten Fälle seien hier einige in Tab. I mitgeteilt. Es handelt sich um Diabetiker (A), um Nierenkranke (B) und Normale bzw. Leichtkranke ohne nachweisbare Stoffwechselstörungen (C). Bei den Diabetikern sind die Fälle nach der Höhe des Blutzuckers geordnet, der sowohl nach Bertrand wie nach Lehmann - Maquenne bestimmt wurde.

Betrachten wir die in der ersten Abteilung (A) zusammengestellten Diabetesfälle, so müssen wir zunächst feststellen, daß irgendein Zusammenhang zwischen der Höhe des Blutzuckers (Kolonne 3 und 4) und der Menge der flüchtigen reduzierenden Substanzen (Kolonne 5) nicht zu erkennen ist. Bei Fall 2 beispielsweise, wo es sich nicht um Blut, sondern um Pleuraexsudat einer Diabetikerin handelte, ergibt die erste Untersuchung auf flüchtige reduzierende Verbindungen den recht hohen Wert von 69,6 mg (als Zucker berechnet), 4 Wochen später nur einen Wert von 4,7 mg. Der höchste Wert, der überhaupt gefunden wurde — wenn wir von dem untersuchten Pleuraexsudat absehen — wurde bei einem Patienten im Coma diabet. (Fall 6) festgestellt. Hier ergibt die Untersuchung des Serums 65,6, die des Gesamtblutes dagegen nur 16,5 mg. Da es sich hier um Blut ein und desselben Aderlasses handelte, dürfen wir den Schluß ziehen, daß die Hauptmenge der flüchtigen reduzierenden Verbindungen in dem flüssigen Anteil des Blutes und nur ein kleiner Teil in den Körperchen vorhanden ist. In einem Falle (Nr. 5) ist trotz beträchtlicher Hyperglykämie (von 0,41%) keine Spur von flüchtigen reduzierenden Stoffen nachzuweisen. Bei der Mehrzahl der Fälle sind es überhaupt nur kleine Mengen, die gefunden wurden.

Werfen wir nun einen Blick auf Kolonne 6, um einen Begriff von der bei der Bertrandschen Bestimmung in den

Tabelle I.

1	2	3		4	5	6	7	8	9
		Blutzucker in % (Gesamtreaktion)	Maquenne						
Fall	Name	Flüchtige reduzierende Substanzen				Bemerkungen			
		Reduktionswert (als Zucker berechnet) in % nach Bertrand	Verbrauchte KMnO <sub>4</sub> -Lösung (in ccm) bei der Bert. Destillation unterworfen wurde	Flüssigkeitsmenge, die der Bert. Destillation unterworfen wurde	Diederflüssigkeitsmenge, die der Bert. Destillation unterworfen wurde				
<b>A. Diabetiker.</b>									
1	Mn.	0,203	0,2028	0,00735	0,2	100	7	Keine Acidosis.	
2 a	Rd.	0,244	0,239	0,0696	1,9	100	6,25	Pleuraexsudat durch Punktion gewonnen, gefällt mit Eisen (Natr. biphosph. als Elektrolyt). Keine Acidosis.	
b	Rd.	0,254	0,256	0,0047	0,2	100	10	Pleuraexsudat durch eine zweite Punktion gewonnen, gefällt mit Phosphorwolframsäure. 4 Wochen nach der 1. Untersuchung. Keine Acidosis.	
3	Scho.	0,353	0,357	0,00594	0,2	100	8	Starke Acidosis; 5,72 g Ges. Aceton im Tagesharn.	
4	Me.	0,369	—	0,0131	0,3	100	5,97	Spuren von Aceton in Harn.	
5	Bü.	0,408	0,411	0	0	100	8	Keine Acidosis.	
6 a	La.	0,483	0,486	0,0165	0,55	125	8,62	Coma diab. Ges. Blut mit Phosphorwolframsäure gefällt.	
b	La.	0,5	—	0,06564	1,5	100	6,25	Serum von derselben Blutprobe; gefällt mit Eisen (Natr. biphosph. als Elektrolyt).	
<b>B. Nierenkranke.</b>									
7	Me.	0,244	0,241	0,0143	0,5	100	7,462	Schrumpfiere, echte Urämie (174mg Rest-N in 100Ser.).	
8	Sa.	0,177	0,172	0,0161	0,6	100	9	Nierensklerose, allgemeine Arteriosklerose.	
9	Bä.	0,155	0,154	0,024	0,9	100	10	Nierensklerose (Übergang zur Kombinationsform, beginnende Retention).	
10	Ke.	0,205	0,208	0,0076	0,2	100	6,25	Serum (m. Eisen gefällt). Schrumpfiere mit Retention.	
<b>C. Normale (bzw. Leichtkranke ohne Stoffwechselstörungen).</b>									
11	Sche.	0,134	0,139	0,0172	0,5	100	7	Alterserhehungen.	
12	Wo.	0,136	—	0,0025	0,1	100	8,5	Pleuritis exsudativa.	
13	Di.	0,144	0,144	0,0329	0,9	100	6,6	Vollkommen gesunder Kollege.	
14	Tei.	0,0905	—	0	0	100	10		

Destillaten verbrauchten Kaliumpermanganatlösung zu erhalten, so sehen wir, daß es sich meist nur um Bruchteile eines Kubikzentimeters handelt (0,2—0,3 ccm); die Werte sind jedoch nur als absolut zuverlässig zu betrachten, da genau bis zur ersten Spur Rosafärbung titriert wurde. Recht beachtenswerte Mengen der Kaliumpermanganatlösung wurden dagegen in den Fällen 2 und 6 verbraucht (1,9 und 1,5 ccm).

Bei den in der zweiten Abteilung (B) der Tab. II zusammengestellten Fällen (von Schrumpfnieren mit und ohne Retention) liegen die Werte enger zusammen (zwischen 7,6 und 24 mg als Zucker berechnet). Bei Fall 7 mit 14,3 mg an flüchtigen reduzierenden Substanzen bestand eine starke Erhöhung des Reststickstoffs (174 mg in 100 ccm Serum bei Fällung mit Uranylacetat), während bei Fall 9 mit dem höchsten Reduktionswert eine Retention stickstoffhaltiger Produkte eben nachzuweisen war.

Was endlich die in der dritten Abteilung (C) aufgeführten Fälle von Normalen und einigen Leichtkranken anlangt, so wäre zunächst der Fall 14 hervorzuheben, wo es sich um einen vollkommen gesunden blühenden kräftigen Kollegen handelte und wo keine Spur von flüchtigen reduzierenden Stoffen gefunden wurde. Merkwürdig ist der Befund bei Fall 13, einem alten Patienten mit alter, hartnäckiger Pleuritis; hier wurden 32,9 mg ermittelt. Weitere Untersuchungen bei Normalen und Leichtkranken wären wünschenswert.

Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, nahmen die Untersuchungen über flüchtige reduzierende Substanzen ihren Ausgangspunkt von der Feststellung, daß die aus den eingeengten Blutfiltraten erhaltenen Reduktionswerte bei einem Teil aller Diabetesfälle beträchtlich tiefer liegen als die Werte, die man bei Verarbeitung des frisch gefällten und stark verdünnten Blutes erhält. Nach den in diesem Kapitel mitgeteilten Befunden ist diese Abnahme des Reduktionsvermögens der Destillate während des Einengungsprozesses leicht verständlich. Es fragt sich nun, ob die Menge der bei der Destillation übergehenden reduzierenden Stoffe die Differenz im Reduktionsvermögen vor und nach der Einengung zu decken vermag. Wir haben bei fast allen untersuchten Fällen auf diesen Punkt ganz besonders geachtet, konnten aber nur ganz vereinzelt die Differenz in den Reduktionswerten im Destillat ungefähr wiederfinden, so z. B. in folgendem Fall (Nr. 9 in Tab. I):

**Maquenne-Wert** im verdünnten nicht eingeeengten Filtrat auf 100 ccm Blut berechnet 0,154%, im eingeeengten Filtrat 0,121%.

**Bertrand-Wert** für flüchtige reduzierende Substanzen 0,024%.

Die Differenz zwischen den beiden ersten Werten beträgt hier 0,033%, der Reduktionswert im Destillat 0,024%. In einem anderen Fall betrug die Differenz der beiden Reduktionswerte (Bertrand) 0,012% (1. Wert: 0,230%; 2. Wert: 0,218%); gefunden wurde im Destillat 0,011% (Bertrand). Dieser letztere Befund stimmt ganz ausgezeichnet mit der Differenz überein.

In anderen Fällen vermag dagegen der gefundene Destillationswert bei weitem nicht die Spannung zwischen der Reduktionszahl in dem verdünnten und dem eingeeengten Blutfiltrat zu erklären.

Die Ursache hierfür ist vorläufig noch nicht anzugeben. Es ist möglich, daß bei der Art unserer Destillation, wenn es sich, wie wir glauben, um sehr flüchtige Körper handelt, vielleicht doch nicht unerhebliche Verluste auftreten. Auf diesen Punkt wird noch besonders zu achten sein.

## II. Über das Jodbindungsvermögen der aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillate.

Bekanntlich reagieren nach Lieben alle Substanzen, die die Gruppe  $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH}$  — oder  $\text{CH}_3 \cdot \text{CO}$  — enthalten, mit Jod in alkalischer Lösung unter Jodoformbildung. Die Reaktion findet vielfach Anwendung zur Erkennung der genannten Gruppen und ist auch Grundlage eines quantitativen Bestimmungsverfahrens für Äthylalkohol und Aceton geworden.

Die im vorigen Kapitel mitgeteilten Befunde hatten gezeigt, daß in den Destillaten häufig kupferoxydreduzierende Körper vorkommen. Wegen ihrer Flüchtigkeit waren ganz bestimmte Substanzen ins Auge zu fassen; insbesondere galt es, durch Untersuchung des Jodbindungsvermögens weitere Anhaltspunkte für ihre chemische Natur zu gewinnen. Dabei war allerdings ein die Beurteilung erschwerender Umstand zu berücksichtigen, nämlich die Anwesenheit von Acetonkörpern im diabetischen Blute. Möglicherweise waren diese und andere jodbindende Substanzen gleichzeitig nebeneinander vorhanden; als solche kamen, wie sich sehr bald herausstellte, insbesondere aldehydartige Körper in Frage. Aldehyde werden sehr leicht durch Kochen mit Silber-

oxyd zerstört, während Aceton so gut wie nicht angegriffen wird. Man kann diese Tatsache zum Nachweis von aldehydartigen Substanzen neben Aceton benützen, indem man die zu untersuchende Flüssigkeit einige Zeit mit Silberoxyd kocht, sie dann einer Redestillation unterwirft und in dem Redestillat die Jodbindung bestimmt. Ergeben sich Unterschiede in dem Jodbindungsvermögen zwischen dem einfachen Destillat und dem nach Kochen mit Silberoxyd erhaltenen Redestillat in dem Sinne, daß letzteres geringere Werte aufweist, so darf man mit der Anwesenheit aldehydartiger Substanzen rechnen.

Masuda<sup>1)</sup> hat auf Veranlassung Embdens in dessen Laboratorium auf diese Weise bei Leberdurchblutungsversuchen auf aldehydartige Substanzen gefahndet und sich dabei eines von Embden und Baldes<sup>2)</sup> angegebenen Doppeldestillationsapparates bedient; nähere Angaben über die Handhabung des Apparats finden sich in jener Arbeit. Als Bildner aldehydartiger Substanzen erwiesen sich in den Versuchen Masudas die d-Zuckersäure, vor allem aber der Äthylalkohol; die aus letzterem gebildete aldehydartige Substanz ist nach Masudas Meinung nichts anderes als Acetaldehyd.

Schon vor Masuda hatte sich E. Friedmann<sup>3)</sup> beim Studium des Abbaus der Carbonsäuren im Tierkörper mit dem Nachweis von Acetaldehyd neben Aceton beschäftigt. Der Aldehyd konnte durch mehrstündiges Schütteln mit Silberoxyd sicher zerstört werden; indes gingen dabei auch nicht ganz kleine Mengen von Aceton verloren, so daß das Verfahren von Masuda, wobei größere Acetonverluste nicht auftraten, den Vorzug verdient. Ebenso wie mit Silberoxyd kann man übrigens, wie Mondschein<sup>4)</sup> in O. v. Fürths Laboratorium zeigte, in Lösungen, die Acetaldehyd und Aceton zugleich enthalten, den Aldehyd durch Kochen mit Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Lösung entfernen, wobei Aceton nur wenig angegriffen wird.

Auf Grund der hier mitgeteilten Beobachtungen war es also unschwer möglich, in den zur Untersuchung gelangenden Blutfiltraten das Vorhandensein oder Fehlen von aldehydartigen Substanzen zu erkennen. Freilich konnte vorerst nur ihr qualitativer Nachweis in Frage kommen — selbst in dem Falle, daß es sich nur um eine ganz bestimmte Substanz, wie z. B. Acetaldehyd handelte, denn die gleichzeitige Bestimmung der beiden Substanzen stieß auf nicht geringe Schwierigkeiten. Mittels des

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 45, 140. 1912.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 45, 157. 1912.

<sup>3)</sup> Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 202. 1908.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. 42, 991. 1912.



Messinger - Huppertschen Verfahrens kann man zwar das Aceton quantitativ sehr einfach und genau bestimmen, dagegen, wie es scheint, nicht die Aldehyde. O. v. Fürth und D. Charnaß<sup>1)</sup> haben sich in sehr eingehenden Untersuchungen mit dieser Frage befaßt und zeigen können, daß man bei der Bestimmung des Acetaldehyds nach Messinger - Huppert (analog der Acetonbestimmung) nur einen mehr oder minder großen Bruchteil der tatsächlich vorhandenen Menge findet. Für die Umsetzung des Aldehyds mit Jod spielen neben dem Verdünnungsgrade noch andere Faktoren eine Rolle. Im Verlaufe ihrer Untersuchung konnten Fürth und Charnaß schließlich die Bedingungen genau festlegen, unter denen die Jodbindungsmethode zur quantitativen Aldehydbestimmung zu gebrauchen ist. Erstens muß die Aldehydlösung sehr stark verdünnt sein (sie darf höchstens 0,02 g Aldehyd im Liter enthalten), sie muß ferner sehr stark alkalisch gemacht werden und der Jodzusatz darf nur in kleinen Portionen erfolgen, schließlich muß für sehr starke Kühlung gesorgt werden, so daß die Temperatur des Reaktionsgemisches 10° C nicht wesentlich übersteigt. Unter diesen Bedingungen erhielten die beiden Forscher 90—100% des theoretischen Wertes. Es ist also zweifellos möglich, mit Hilfe des Messinger - Huppertschen Verfahrens unter Einhaltung der genannten Bedingungen Aceton und Aldehyd zusammen quantitativ an Jod zu binden. Über die Verteilung der gefundenen Werte auf die beiden Körper erfährt man freilich dabei nichts Sicheres.

Während also die Jodbindung zur quantitativen Aldehydbestimmung nur unter ganz bestimmten Bedingungen brauchbar ist, hat das für die Aldehydbestimmung ganz ausgezeichnet geeignete Rippersche Verfahren<sup>2)</sup>, wobei der Aldehyd an Bisulfit gebunden wird, den Nachteil, daß gleichzeitig vorhandenes Aceton nur sehr langsam und unvollständig angelagert wird. Nach den Untersuchungen von Ad. Jolles<sup>3)</sup> muß man das Aceton mit dem Bisulfit mindestens 30 Stunden reagieren lassen, um alles Aceton zu bekommen. Natürlich besteht hier, wenn nicht die genügenden Vorsichts-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. **26**, 199. 1910.

<sup>2)</sup> Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch. math.-naturwiss. Klasse, Abtlg. II b. **108**, **109**, 844. 1899—1900.

<sup>3)</sup> Berichte d. Deutsch. chem. Ges. Jahrg. **39** (1906) Bd. II, S. 1306.

maßregeln eingehalten werden, die Gefahr, daß die Bisulfitlösung beim Stehen eine Änderung ihres Titors erfährt; man muß also immer eine Probe der Bisulfitlösung für sich allein zur Kontrolle stehenlassen. Unter Beachtung dieser Vorsichtsmaßregeln läßt sich dann auch mit dieser Methode eine quantitative Bestimmung von Acetaldehyd und Aceton nebeneinander durchführen.

Bei unseren Untersuchungen sind wir nun so vorgegangen, daß wir eine bestimmte Menge des Filtrats der Phosphorwolframsäurefällung der Destillation unterwarfen, und zwar in derselben Weise, wie zur Bestimmung der flüchtigen reduzierenden Substanzen; es sei auf die diesbezüglichen Ausführungen im vorigen Kapitel verwiesen.

Auch hier wurde auf besonderes Ansäuern verzichtet, da die Filtrate ja schon durch die Phosphorwolframsäure genügend stark sauer waren. Die Destillate, die sehr stark gekühlt waren, wurden in mehrere gleiche Teile geteilt und diese getrennt verarbeitet. In einem Teil wurde die Jodbindung in der Modifikation von Fürth und Charnaß bestimmt. Ein weiterer Teil wurde bei den ersten Untersuchungen nach der Methode Mondscheins mit Wasserstoffsuperoxyd bei alkalischer Reaktion, später ausschließlich mit Silberoxyd<sup>1)</sup> nach Embden-Masuda am Rückflußkühler gekocht, dann redestilliert und nun wiederum die Jodbindung in der modifizierten Art ermittelt. Besonders einfach gestaltete sich das Arbeiten, als wir schließlich den bereits erwähnten Doppeldestillationsapparat nach Embden und Baldes<sup>2)</sup> benutzten.

Sehr wichtig ist es, sich davon zu überzeugen, ob die Lauge nicht etwa jodbindende Substanzen enthält. Wenn das, wie ich mich überzeugte, häufig der Fall ist, so muß man selbstverständlich diese „Eigenjodbindung“ von den gefundenen Werten abziehen.

Die Tab. II bringt eine Auswahl unserer Untersuchungen zu der Frage.

<sup>1)</sup> Das Silberoxyd stellten wir uns in der Weise her, daß wir  $\frac{1}{10}$  Arg.-nitr.-Lösung mit  $\frac{1}{10}$  n-Lauge in hohen Zylindern versetzten, das ausgefallene Silberoxyd absetzen ließen, die darüber stehende Flüssigkeit abgossen und wiederholt mit destilliertem Wasser wuschen, bis die Reaktion nur noch ganz schwach alkalisch war.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 45, 157. 1911. (l. c.)



Bevor wir den Doppeldestillationsapparat von Embden und Baldes benutzten, wurden meist 300—400 ccm Blutfiltrat abdestilliert in der oben beschriebenen Weise unter stärkster Kühlung. Das Destillat wurde dann in vier gleiche Teile geteilt und darin in einem Teil sofort, in den anderen Teilen nach Redestillation bei saurer, bei alkalischer Reaktion, sowie nach dem Kochen mit Silberoxyd die Jodbindung in der Modifikation nach Fürth und Charnaß bestimmt. In der Tabelle finden sich jeweils neben den Jodbindungswerten die aus ihnen als Aceton berechneten Mengen von Aceton + aldehydartiger Substanz. Meist wurde Gesamtblut untersucht; wo es sich um Serum handelte, ist das stets vermerkt. Einmal wurde Pleuraexsudat einer Diabetikerin verarbeitet. Zur Enteiweißung wurde meist Phosphorwolframsäure, außerdem Eisen (nach Rona) oder das Schenck'sche Verfahren verwendet. Bei letzterem sind die Werte für Aceton und aldehydartige Substanz als zu niedrig zu betrachten, da vor der Destillation erst das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff und dann der Schwefelwasserstoff durch Luftdurchleiten entfernt worden war. Daß bei dem Luftdurchleiten Verluste an flüchtigen Substanzen auftraten, liegt auf der Hand.

Bei unseren Untersuchungen mußten wir uns mit verhältnismäßig kleinen Blutmengen für diesen Zweck begnügen, da das Blut gleichzeitig noch nach anderer Richtung durchforscht wurde.

Wir vergleichen zunächst (in der Abteilung A) die Kolonnen 5, 7, 9 und 11, wo die gebundenen Mengen Jodlösung in Kubikzentimetern angegeben sind und stellen fest, daß die Zahlen in den ersten 3 Kolonnen (5, 7 und 9) gut untereinander übereinstimmen und nur geringe Unterschiede aufweisen, die innerhalb bzw. nahe an der Fehlergrenze liegen. Wir dürfen daraus den wichtigen Schluß ziehen, daß unter den jodbindenden Substanzen sich keine flüchtigen Säuren in nennenswerter Menge finden. Stellen wir nun diesen Zahlen die in Kolonne 11 verzeichneten Werte gegenüber, die die Jodbindung nach dem Kochen mit Silberoxyd anzeigen, so sehen wir hier bei dem kleineren Teil der Fälle sehr große Differenzen, nämlich bei den Fällen 1, 7a und 7b (1, 2, 3 und 4). Die Unterschiede liegen hier weit jenseits der Fehlergrenzen. Einer besonderen Besprechung bedarf der Fall 7. Es handelte sich hier um einen Patienten im Coma diabeticum, bei dem zweimal Blut entnommen wurde; die zweite Blutentnahme fand eine Stunde vor dem Tode statt. Die Werte für die Untersuchung 7a, die zur ersten Blutentnahme gehören, sind sicher durchweg zu niedrig, da hier bei der Enteiweißung nach Schenck (im Verlauf der zur Entfernung des Quecksilbers und des Schwefelwasserstoffs nötigen Mani-

pulationen) mehrere Stunden Luft durchgeleitet wurde, wobei Verluste an flüchtigen jodbindenden Substanzen eintraten. Trotzdem ist der Unterschied in der Jodbindung zwischen dem alkalischen Redestillat und dem Redestillat nach Kochen mit Silberoxyd sehr deutlich ausgesprochen (2,3 und 1,5 ccm). Bei der zweiten Blutentnahme wurde das Gesamtblut sowohl mit Phosphorwolframsäure wie nach Schenck das Serum mit Eisen enteiweißt. Um zu sehen, wieviel von den jodbindenden Substanzen etwa verlorengeht, wenn man nach Entfernung des Fällungsmittels gezwungen ist, Luft durch die Flüssigkeit zu leiten, wurde das eine Mal ( $7b_1$ ) die Destillation in der gewöhnlichen Weise mit dem Filtrat nach Phosphorwolframsäurefällung, das andere Mal ( $7b_2$ ) nach vorheriger Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Bleiacetat, Entbleiung mit Schwefelwasserstoff und anschließender Entfernung dieses letzteren durch Luftdurchleiten ausgeführt. Es zeigen sich hierbei recht beträchtliche Unterschiede, wie der Vergleich von  $7b_1$  und  $7b_2$  in Kolonne 6 ergibt: das eine Mal 56,1, das andere Mal 33,66 mg jodbindende Substanz als Aceton berechnet. Die Entfernung der Phosphorwolframsäure in dem einen dieser beiden Versuche hatte den Zweck, zu zeigen daß die jodbindenden Substanzen nicht etwa als Kunstprodukt, aus anderem organischen Material unter dem Einfluß der Phosphorwolframsäure gebildet werden; und in der Tat sind auch bei der Untersuchung  $7b_2$  silberoxydempfindliche Substanzen nachgewiesen (vgl. besonders Kolonne 7 und 11). Vergleichen wir nun die Zahlen, die das eine Mal bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure, das andere Mal nach Schenck erhalten wurden, wobei in beiden Fällen das Fällungsmittel entfernt wurde (Untersuchung  $7b_2$  und  $7b_3$ ), so zeigen die als Aceton berechneten Jodbindungswerte eine recht befriedigende Übereinstimmung. Die gute Übereinstimmung ist besonders wichtig deshalb, weil die verwendeten Blutmengen und die Konzentration der Lösungen nach der Fällung ganz verschieden waren; beide Momente spielen beim Luftdurchleiten eine besondere Rolle. Für die Jodbindung berechneten sich im einfachen Destillat 33,66 und 32,04 mg (Kolonne 6), nach dem Kochen mit Silberoxyd 24,3 und 23,6 mg (Kolonne 12) als Aceton. Hier trifft also etwa  $\frac{1}{3}$  der Gesamtmenge auf aldehydartige Substanzen. Eine wertvolle Unterstützung dieser Befunde bietet die Untersuchung  $7b_4$ , wo

Serum desselben Blutes mit Eisen (und primärem Natriumphosphat als Elektrolyt) enteiweißt und das Filtrat der Fällung ohne einen anderen Zusatz — die Reaktion war durch das Natriumphosphat deutlich sauer — abdestilliert worden war. Auch hier entfallen rund 30% der gesamten Jodbindung auf aldehydartige Körper. Ihre künstliche Bildung ist hier, wo an fremden Substanzen dem Serum überhaupt nichts anderes als Wasser, kolloid. Eisenhydroxyd und primäres Natriumphosphat zugesetzt war, gänzlich ausgeschlossen.

Bei den übrigen Diabetikern sind silberoxydempfindliche Substanzen im Blute nicht nachweisbar. Hier darf man also annehmen, daß die Jodbindung lediglich auf Aceton und Acetessigsäure zu beziehen ist. Es handelt sich um Mengen zwischen 6 und 25 mg in 100 ccm Blut. Bei manchen Diabetesfällen sind jodbindende Substanzen überhaupt nicht nachzuweisen; ein Beispiel dafür bietet Fall 8.

Wir wenden uns nun zur Besprechung der Abteilung B von Tab. II, in der die Befunde bei einigen Nierenkranken zusammengestellt sind. Auch hier finden sich jodbindende Substanzen, wenn auch im Durchschnitt in geringerer Menge als bei den bisher besprochenen Diabetesfällen; nur bei Fall 13 und 15b sind es höhere Werte, und hier besteht auch eine recht beträchtliche Differenz in der Jodbindung des einfachen Destillats und des Destillats nach Kochen mit Silberoxyd (bzw. in Fall 15b nach Kochen mit Wasserstoffsuperoxyd). Wir dürfen also auch hier mit der Anwesenheit von aldehydartigen Substanzen rechnen ebenso wie beim Diabetes, und zwar nehmen sie den Hauptanteil der Jodbindung ein, während auf Aceton und Acetessigsäure nur 16—20% treffen.

Recht wichtig für die ganze Frage ist auch hier wieder der negative Befund, d. h. das völlige Fehlen von jodbindenden Substanzen in Fall 12a und b, weil das wiederum beweist, daß nicht an sich schon solche Körper bei der Art unseres Arbeitens entstehen. Übrigens geht das auch vollkommen klar aus den Untersuchungen an Blut völlig gesunder Personen hervor, woniemals auch nureine Spur von jodbindenden Substanzen gefunden werden konnte.

Was nun die weitere wichtige Frage anlangt, um welche aldehydartige Stoffe es sich denn hier handelt, so läßt sich darüber vorläufig mit Bestimmtheit noch nichts sagen. Für Identifizierungsversuche waren die Mengen, die zur Verfügung standen, bisher zu klein. Untersuchungen aus allerjüngster Zeit, die ich mit Herrn Kollegen Lange unternahm, die indes noch nicht abgeschlossen sind, haben uns gelehrt, daß Stoffe von dem gleichen Verhalten auch im Harn auftreten, wodurch es wohl möglich sein wird, größere Mengen der fraglichen Substanzen zu erhalten. Am nächsten liegt der Gedanke an den Acetaldehyd. Wie aus den Untersuchungen Embdens und seiner Mitarbeiter<sup>1)</sup> hervorgeht, ist der Acetaldehyd „als ein wahrscheinlich beim Kohlenhydratabbau in größter Menge auftretendes normales Stoffwechselprodukt anzusehen“<sup>2)</sup>. Und im gleichen Sinne sprechen die Arbeiten von Batelli und Stern<sup>3)</sup> und von Parnas<sup>4)</sup> für den Tierkörper. In den letzten Jahren haben Neuberg und seine Mitarbeiter<sup>5)</sup> in zahlreichen Arbeiten zeigen können, daß dem Acetaldehyd als Zwischenstufe bei der alkoholischen Gärung sowie bei der bakteriellen Vergärung von Zucker, Mannit und Glycerin tatsächlich eine außerordentlich wichtige Rolle zukommt. Weitere Untersuchungen werden zu zeigen haben, ob unsere Vermutung richtig ist. Glycerinaldehyd kommt, da er mit Wasserdämpfen nicht flüchtig ist, wohl kaum in Frage; ebensowenig wahrscheinlich der Glykolaldehyd, der nur in geringem Grade mit Wasserdämpfen flüchtig ist.

Wie wir bereits oben hervorhoben, war mit dem Fehlen von flüchtigen jodbindenden Substanzen im Blute von Gesunden und auch von manchen Kranken der Beweis geliefert, daß nicht etwa die Methode an sich zur Bildung von jodbindenden Kunstprodukten aus organischem Material Veranlassung gibt. Nichts

<sup>1)</sup> Siehe bes. die Arbeit von Embden und Oppenheimer „Über den Abbau der Brenztraubensäure im Tierkörper.“ Diese Zeitschr. 45, 186. 1912.

<sup>2)</sup> Siehe Embden und Oppenheimer in der erwähnten Arbeit, S. 201.

<sup>3)</sup> Bull. de la Soc. biol. 1910.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. 28, 274. 1910.

<sup>5)</sup> Neuberg und Färber, Diese Zeitschr. 78, 238. 1916; Neuberg und Reinfurth, ebenda 89, 365. 1918, und folgende Bände dieser Zeitschr.

desto trotz haben wir geglaubt, noch eine Reihe von besonderen Kontrollversuchen mit reinen Traubenzuckerlösungen ausführen zu sollen. Die Konzentration an Glucose wurde so hoch gewählt, wie sie bei Diabetesfällen häufig gefunden wird, also 0,3—0,4%. Die saure Reaktion wurde mit Phosphorwolframsäure (auch wieder in der Konzentration, wie wir zu arbeiten pflegten) oder mit Salzsäure (1 Tropfen 25proz. Salzsäure auf 100 ccm Flüssigkeit) hergestellt. Dann wurde genau in der gleichen Weise wie bei den sonstigen Untersuchungen destilliert und im Destillat die Jodbindung ermittelt. In mehreren derartigen Kontrollen wurde nicht eine Spur von Jodbindung gefunden. Damit war nun vollkommen einwandfrei bewiesen, daß unter den Bedingungen unseres Arbeitens jodbindende Substanzen aus Zucker nicht entstehen.

Es möge an dieser Stelle nur noch kurz auf eine Beobachtung hingewiesen werden, auf die wir in dieser Arbeit noch nicht näher eingingen, da sie vorläufig noch ganz unklar ist. In einigen Fällen fand sich in dem bei alkalischer Reaktion gewonnenen Redestillat ein wesentlich höherer Jodbindungswert als im einfachen Destillat und in den Redestillaten, die bei saurerer Reaktion oder nach dem Kochen mit Silberoxyd gewonnen waren. Die Differenzen liegen weit außerhalb der Fehlergrenzen, in einem Fall betrug der Wert der alkalischen Redestillation fast das Doppelte, in einem anderen das Dreifache der Jodbindung des bei saurer Reaktion gewonnenen Redestillats. Die Frage ist zur Zeit Gegenstand weiterer Untersuchungen.

### III. Über die Prüfung der aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillate auf Phenol bzw. Kresole.

Die Tatsache, daß sowohl Phenol wie die Kresole mit Jod in alkalischer Lösung unter Entstehung von Trijodphenol und Trijodkresol reagieren, verlangte noch eine besondere Prüfung der Destillate mit dem Millonschen Reagens. Bei der außerordentlich großen Empfindlichkeit der Millonschen Reaktion mußte sich die Gegenwart von Phenol sehr leicht erkennen lassen. Die Untersuchung kam selbstverständlich überhaupt nur in Frage bei Blutproben, die mit Phosphorwolframsäure gefällt waren. In den Fällen, wo als Fällungsmittel Eisen verwendet und die



sauere Reaktion bei der Destillation mit primärem Natriumphosphat hergestellt worden war, war mit der Anwesenheit von Phenolen im Destillat überhaupt nicht zu rechnen, da die Phenole niemals frei, sondern nur in Bindung an Schwefelsäure oder Glucuronsäure auftreten und für ihre Spaltung eine beträchtliche Konzentration an freier Mineralsäure unerlässlich ist. Wo also bei der Fällung mit Eisen jodbindende Substanzen nachgewiesen wurden, war an und für sich an Phenole oder Kresole nicht zu denken.

In den Fällen, wo wir die bei der Destillation mit Phosphorwolframsäure gewonnenen Destillate mit dem Millonschen Reagens prüften, erhielten wir stets einen negativen Befund.

Was das Verhalten von Phenol gegen ammoniakalische Silberlösung anlangt, der gegenüber die Destillate des weiteren geprüft wurden und wovon im nächsten Kapitel die Rede sein wird, so verändert es diese bei gewöhnlicher Temperatur nicht, nur aus heißer ammoniakalisch-alkalischer Silberlösung vermag es metallisches Silber abzuscheiden; Fehlingsche Lösung wird ebensowenig wie andere alkalische Kupferlösungen von ihm reduziert [Neuberg].

Somit ist also die Möglichkeit einer weitgehenden Täuschung durch Phenole und Kresole ausgeschlossen.

#### IV. Über das Verhalten der aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillate gegen Tollenssche (ammoniakal. — alkal.) Silberlösung.

Die Reduktion ammoniakalischer Silberlösung durch Aldehyde erfolgt bekanntlich besonders leicht in Gegenwart von etwas Natronlauge. Wir hielten uns bei der Anstellung der Reaktion streng an die Ausführungen von B. Tollens<sup>1)</sup>. Nach ihm löst man 3 g Silbernitrat in 30 g Wasser und andererseits 3 g Ätznatron in 30 g Wasser. Von diesen Lösungen, die man gesondert aufbewahrt (die Silberlösung in einer Glasstöpselflasche und im Dunkeln), mischt man zum Gebrauch gleiche Mengen in einem sorgfältig gereinigten Reagensglas, dann gibt man tropfenweise Ammoniak vom spezifischen Gewicht 0,923 zu, bis das Silberoxyd sich eben gelöst hat. Von diesem Tollensschen Reagens

<sup>1)</sup> Siehe bei Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. Berlin 1916. Springer, S. 681.

wurden in verschiedenen Proben einige Tropfen bis zu 1 oder 2 ccm mit einigen Kubikzentimetern der auf Aldehyde zu prüfenden Destillate vermischt und im Dunkeln stehengelassen. Bei jedem Versuch wurde gleichzeitig eine Kontrolle angesetzt unter genau den gleichen Bedingungen, wobei das Destillat durch Wasser ersetzt war. Alle Destillate, die auf diese Weise untersucht wurden — es waren alles Fälle, bei denen flüchtige jodbindende Substanzen fest gestellt worden waren —, gaben eine deutlich positive Reaktion. Schon nach wenigen Minuten, nicht selten auch sofort, trat eine braunschwarze, allmählich dunkler werdende Trübung auf und zwar ohne daß erwärmt wurde. Das Erwärmen haben wir überhaupt am liebsten ganz vermieden, da dabei häufig eine Trübung durch Zersetzung des Reagens auftritt, was die Beurteilung der Reaktion sehr erschwert.

Das starke Reduktionsvermögen der Blutdestillate gegen ammoniakalisch-alkalische Silberlösung spricht ganz im Sinne der bisherigen Ergebnisse unserer Untersuchungen; indessen irgendwelche bestimmte Schlußfolgerungen in bezug auf den Charakter der fraglichen Substanzen können daraus nicht gezogen werden, da neben den Aldehyden noch viele andere Körper, wie manche aromatischen Amine usw. ebenso reagieren.

#### V. Über das Verhalten der aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillate gegen fuchsinschweflige Säure.

Das Verhalten der Destillate gegen fuchsinschweflige Säure wurde nur in einigen Fällen geprüft. Die Reaktion, die mit einem sehr empfindlichen Präparat<sup>1)</sup> angestellt wurde, fiel zwar schwach, aber doch unverkennbar positiv aus. Die rote Färbung, die erst nach einiger Zeit eintrat, war besonders deutlich, wenn man das Reaktionsgemisch in dicker Schicht, etwa von der Höhe eines halben Reagensglases betrachtete. Selbstverständlich wurde hierbei auch jedesmal ein blinder Versuch angestellt.

Nach Abschluß der vorliegenden Untersuchungen wurden wir auf das Werk von R. Willstätter und Stoll (Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, Berlin, Springer 1918) aufmerksam, in dem in einem besonderen Kapitel die Erfahrungen

<sup>1)</sup> Das Präparat wurde mir von Herrn Privatdozenten Dr. Feulgen freundlichst überlassen.

der beiden Autoren über die Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure mitgeteilt werden. Sie berichten dort auch über eine wesentliche Verschärfung der Reaktion. Ob die Reaktion in dieser Form, in welcher sie besonders dem Nachweise von Formaldehyd dient, auch mit gleicher Schärfe andere Aldehyde anzeigt, bedarf erst noch der weiteren Untersuchung.

#### VI. Über den Ausfall der Riminischen Reaktion in den aus den Blutfiltraten gewonnenen Destillaten.

Die von Rimini angegebene Reaktion auf Acetaldehyd gilt als ein sehr scharfer und sicherer Nachweis dieses Körpers [Neuberg und Kerb<sup>1)</sup>]. Wir stellten sie sowohl in der gewöhnlichen Form mit Diäthylamin, wie in der Modifikation von Lewin<sup>2)</sup> mit Piperidin an. In den Fällen, wo gleichzeitig sehr reichlich Aceton vorhanden war oder wo dieses gar überwog, bekam man keine ganz reinen Farben, da das Aceton (besonders bei Verwendung von Piperidin) mit Nitroprussidnatrium eine tiefe Rotfärbung ergibt; dadurch wird natürlich die Entwicklung der schönen enzianblauen Färbung verhindert. Wir haben uns Mischungen aus reinsten Präparaten von Aceton und Acetaldehyd (Kahlbaum) hergestellt und beobachteten bei Anstellung der Reaktion mit solchen Mischungen eine dunkelrotblaue Färbung; beim Schütteln zeigte der Schaum einen Stich ins Blaugrüne. Genau den gleichen Farbenton sahen wir nun bei der Prüfung unserer Destillate auftreten. Viel schöner fiel die Reaktion aus in Fällen, wo im Destillate das Aceton zurücktrat. Schließlich stellte sich heraus, daß der Ausfall der Probe am eindeutigsten wurde, wenn man nur ganz wenig Nitroprussidnatrium nahm. Wir bereiteten uns ganz frische Lösungen von einer Konzentration, daß die Farbe ein schönes Rot zeigte. Von dieser Lösung wurden einige (2—4) Tropfen zu etwa 5—6 ccm des Destillats gefügt, so daß das Gemenge einen leicht gelblichroten Schimmer zeigte. Nun wurde Diäthylamin darauf geschichtet. An der Berührungsstelle trat sofort ein tief blaugrüner Ring auf. Beim Umschütteln wurde dann das Ganze schön blaugrün. Die Reaktion war also zweifellos als positiv zu betrachten und damit die Anwesenheit von Acetaldehyd nach-

<sup>1)</sup> C. Neuberg und J. Kerb, diese Zeitschr. **43**, 494. 1912.

<sup>2)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **32**, 3388. 1899.

gewiesen. Immerhin erscheint es wünschenswert, den Nachweis des Acetaldehyds durch Darstellung eines Hydrazons (etwa des p-Nitrophenylhydrazons) noch zu erhärten. Wir sind mit solchen Versuchen zur Zeit beschäftigt.

### VII. Zusammenfassende Betrachtung der Ergebnisse.

Es ist nun unsere Aufgabe, die Ergebnisse der in den vorigen Kapiteln niedergelegten Untersuchungen zusammenhängend zu betrachten. Es konnte gezeigt werden, daß bei einem gewissen Prozentsatz der untersuchten Diabetiker und Nephritiker (sowie einiger anderer Kranker) im Blute flüchtige Substanzen auftreten, die alle Eigenschaften von Aldehyden zeigen. Sie reagieren mit Jod in alkalischer Lösung unter Jodoformbildung, sie reduzieren Fehlingsche Lösung und ammoniakalisch-alkalische Silberlösung, röten fuchsinschweflige Säure und werden durch Erhitzen mit Silberoxyd zerstört. Daß es sich nicht etwa um Säuren mit Aldehydcharakter handelt, konnte in besonderen Versuchen, in denen aus alkalischer Lösung redestilliert wurde, gezeigt werden. Auch die Riminische Reaktion fiel in einigen Fällen, wo sie angestellt wurde, positiv aus. Da sie eine sehr scharfe und eindeutige Probe auf Acetaldehyd darstellt, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß wir es mit Acetaldehyd zu tun haben, sehr groß. Indes wird die Beurteilung der Verhältnisse dadurch erschwert, daß die Jodbindung und die Reduktion Fehlingscher Lösung in den Destillaten vorläufig noch nicht miteinander in Einklang gebracht werden konnten. Solange hier nicht eine weitere Klärung erreicht ist, wird man vorläufig zunächst darauf verzichten müssen, sich auf Grund dieser Befunde bestimmtere Vorstellungen über den Zuckerabbau beim Diabetes mellitus zu machen. Doch das läßt sich jetzt schon sagen, daß es sich beim Diabetes nicht um eine einheitliche Störung handelt; die Verhältnisse scheinen vielmehr bei den einzelnen Fällen ganz verschieden zu liegen, worauf auch meine früheren Untersuchungen über den Restkohlenstoff des Blutes<sup>1)</sup> und den Blutzucker<sup>2)</sup> so bestimmt gedeutet haben.

<sup>1)</sup> Stepp, Zeitschr. f. physiol. Chemie **97**, 213. 1916; Dtsch. Archiv f. klin. Med. **124**, 177. 1917; Münch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 28, S. 771.

<sup>2)</sup> Stepp, Zentralbl. f. inn. Med. **40**. Jahrg. 1919, Nr. 24; Zeitschr. f. physiol. Chemie **107**, 29. 1919.

Und als weiteres Ergebnis der hier vorliegenden Untersuchungen müssen wir feststellen — und auch hierbei besteht eine vollständige Übereinstimmung mit den Erfahrungen über den Restkohlenstoff —, daß die Hyperglykämie beim Diabetes unmöglich allein erklärt werden kann durch die Annahme einer vermehrten Zuckermobilisation. Alles deutet vielmehr darauf hin, daß am Zuckerabbau sich tiefgreifende Veränderungen abspielen; über weitere Einzelheiten müssen fortzusetzende Untersuchungen Aufschluß ergeben.

Ein anderer, wie es scheint nicht unwichtiger Befund dieser Untersuchungen ist die Feststellung, daß die Ergebnisse der quantitativen Acetonbestimmung nur dann als zuverlässig betrachtet werden können, wenn die Abwesenheit von silberoxydempfindlichen Substanzen nachgewiesen ist. Es wird sich also empfehlen, bei wissenschaftlichen Untersuchungen neben der einfachen Jodbindung in der gewöhnlichen Weise noch die Jodbindung nach alkalischer Redestillation und nach dem Kochen mit Silberoxyd zu bestimmen. Erst wenn die drei Werte übereinstimmen, läßt sich mit Sicherheit sagen, daß neben Aceton andere jodbindende Substanzen nicht vorliegen.

# Die Änderung der Aussalzbarkeit von Bakterien der Typhusgruppe durch verschiedene Verhältnisse.

Von

F. Verzár und R. Beck.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität in Debreczen.)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Die Agglutination von Bakterien wird derzeit fast allgemein als eine Kolloidfällungsreaktion betrachtet. Zwei Substanzen sind zur Fällung der Bakterien nötig: das spezifische Agglutinin und Salze. Man nimmt an, daß das Agglutinin am Bakterienkörper verankert wird (Phase I nach Bordet), wodurch dann eine Kolloidfällung durch Salze möglich wird (Phase II). Nach den Anschauungen von Mines, Pribram u. a. wäre der Verlauf der Agglutination der, daß die Bakterien als Emulsionskolloid das Agglutinin, ein hydrophiles Kolloid adsorbieren und dadurch in ein Suspensionskolloid verwandelt werden, welches bereits durch NaCl ausgefällt wird.

Es sind nun verschiedene Umstände bekannt, in welchen ihre Fällbarkeit sich ändert. Sie können in- oder hypagglutinabel werden, oder sie können schon spontan agglutinieren, d. h. schon durch NaCl ausgefällt werden.

Bezüglich der großen Literatur dieser Frage sei besonders auf die Referate von Paltauf<sup>1)</sup> und Volk<sup>2)</sup> verwiesen. Die Inagglutinabilität, welche durch Erwärmung oder Säurewirkung entsteht, wird nach der Darstellung Paltaufs, die sich besonders auf die diesbezüglichen Untersuchungen von Porges stützt, dadurch bewirkt, daß ein Hemmkörper, Schutzkolloid entsteht, wahrscheinlich Nucleine. Die Ursache liegt also in der zweiten Phase, denn die Bakterien binden noch Agglutinin. Sie werden auch schwerer aussalzbar wie das Porges sowie Eisler und So konstatierten (S. 502, 506). Nach Paltauf sind die hypagglutinablen Stämme „Spielarten, welche entweder reichlich oder Protein von solcher

<sup>1)</sup> Handb. von Kolle-Wassermann 1913. II. Aufl. Bd. I, 483.

<sup>2)</sup> Handb. von Kraus-Levaditi, 1909.

chemisch physikalischer Beschaffenheit bilden, daß die Stabilität der Bakteriensuspension dadurch gesteigert ist“ (S. 506).

Die Spontanagglutinierbarkeit und überhaupt die leichtere Agglutinierbarkeit würde umgekehrt dadurch bedingt, daß der Gehalt an Schutzkolloid abgenommen hat, also ebenfalls durch Änderung der II. Phase. Diese Ansicht stützt sich besonders auf die Untersuchungen von Neisser und Friedemann, Bechhold, Porges und anderen. Spontan, also bereits in NaCl-Lösung agglutinierende Stämme können in verdünnter Salzlösung durch spezifisches Agglutinin in gewöhnlicher Weise agglutiniert werden (Verzár)<sup>1)</sup>. „Im Gegensatz zu normalen Bakterien verhalten sich spontan agglutinierende Bakterien wie Kolloide und Suspensionen von geringer Stabilität . . . Es fehlt ihnen eben der Eiweißkörper, welcher normale Bakterien in Suspension erhält“, sagt Volk.

Nun haben aber P. Th. Müller, Kierstein, Cole und Hirschbruch in agglutinierendem Serumbouillon von 1 : 25, 1 : 50 (Titer 1 : 10 000 bzw. 50 000) solche hypagglutinable Stämme gezüchtet, bei denen mehrfach eine Herabsetzung des Bindungsvermögens für Agglutinin festgestellt wurde. Ferner züchtete Hamburger in Immuns Serum Cholera vibrionen, die ebenfalls keine nachweisbaren Mengen von Agglutinin absorbierten und dabei spontan agglutinierten. Daraus geht aber hervor, daß die Änderungen der Agglutinabilität nicht immer so einfach zu erklären sind. Palt auf selbst bemerkt das, wenn er sagt: „Es scheinen somit bei dieser Hypagglutinabilität verschiedene Verhältnisse vorzuliegen, diese sind noch nicht untersucht und man kann nur Vermutungen aufstellen . . .“ (S. 507) und so findet er sich genötigt für die Fälle von Hypagglutinabilität unter gleichzeitiger Herabsetzung der Bindungsfähigkeit für Agglutinin eine molekulare Änderung des Proteins“ anzunehmen.

Es scheint aus dem Vorangehenden zu folgen, daß es möglich ist, daß der Gehalt an Agglutinin bindender Substanz und an der als Schutzkolloid bezeichneten Substanz unter verschiedenen Verhältnissen sehr verschieden sein kann. Das soll hier tatsächlich nachgewiesen werden.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, unter welchen Bedingungen sich die Stabilität einer Bakterienaufschwemmung der Typhusgruppe ändert, besonders ab- oder zunimmt, was sich in der geringeren oder größeren Aussalzbarekeit der Bakterien äußern muß. Diese Frage schien uns von Bedeutung, weil es möglich ist, daß gerade die Substanz, welche die Bakterien in Emulsion hält, auch der Träger anderer wichtiger Eigenschaften sein kann, so daß Veränderungen dieser auch mit anderen Eigenschaften des Bakteriums in Zusammenhang stehen könnten. Doch sei bereits jetzt bemerkt, daß kein Versuch ge-

<sup>1)</sup> Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 80, 161. 1917.

macht wird, einen derartigen Zusammenhang jetzt schon festzustellen.

Gewisse Beobachtungen weisen daraufhin, daß der Gehalt-Salzstabilität eine besondere Bedeutung zukommen muß. So wurde von einem von uns (l. c.) gezeigt, daß bei einem Dauerausscheider der im Urin ausgeschiedene Typhusstamm plötzlich für 0,85% NaCl spontan agglutinabel wurde. Genauere Auswertung zeigte, daß der Stamm bis 0,425% NaCl stabil war.

Dann zeigten auch Nachforschungen in der Literatur, daß auch die anderen höchst selten isolierten spontan agglutinierenden Stämme von Bacillenträgern stammen. In 4 Fällen konnte Gildemeister<sup>1)</sup> spontan agglutinierende Stämme bei Rekonvaleszenten bzw. Bacillenträgern züchten.

Auch der einzige experimentell hervorgerufene Fall von Ausscheidung spontan agglutinierender Typhusbacillen (Wagner und Emmerich<sup>2)</sup>) stammt von einem Dauerausscheider-Kaninchen.

Endlich stammt, soviel wir wissen, auch ein von Bien und Sonntag<sup>3)</sup> isolierter Paratyphus, B-Stamm, der spontan agglutinierte, von einem Dauerausscheider.

Hieraus schien mit einiger Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, daß die spontane Agglutination bei Individuen entsteht, die bereits einen hohen Grad von Immunität besitzen und vielleicht der Ausdruck einer hierdurch bedingten Schädigung der Bakterien ist.

Gestützt wurde diese Annahme durch die Befunde von einigen Autoren, denen es gelegentlich glückte, durch Züchtung spontan agglutinierende Stämme zu erhalten. Das gelang Porges und Prantschoff, Hamburger, Nicolle durch Züchtung in hochwertigem Immuserum, während Bail, Ransom, Kitashima, Walker und Müller und Müller<sup>4)</sup> nur hypagglutinable Stämme erhielten und wieder umgekehrt Tarchetti, Pfeiffer und Friedberger Zunahme der Agglutinierbarkeit, aber keine spontane Agglutination fanden. Die Ursache für diese so gegensätzlichen Resultate konnte sein, daß verschiedener Agglutiningehalt des Nährbodens auch zu recht verschiedenen Resultaten führen könnte.

<sup>1)</sup> Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. 78, 129. 1916.

<sup>2)</sup> Med. Klin. 33, 879. 1916.

<sup>3)</sup> Dtsch. med. Wochenschr. 1917 S. 9.

<sup>4)</sup> Lit. s. bei Paltauf.



## I.

Es wurde deshalb zuerst untersucht, ob es durch Züchtung in Immuserum von verschiedenen Konzentrationen gelingt, spontan agglutinierbare oder wenigstens leichter ausfällbare Stämme regelmäßig zu erhalten, während das gesetzmäßig bisher nicht der Fall war.

Die Versuche wurden auf die folgende Weise ausgeführt. Gezüchtet wurde in mit agglutinierendem Serum versetzten Bouillon. In serologische Reagensröhrchen kam zu je  $\frac{1}{2}$  ccm Bouillon  $\frac{1}{2}$  ccm Serumverdünnung, so daß die Konzentration an Immuserum im ersten Röhrchen 1 : 1, dann 1 : 2, 1 : 4 bis zu 1 : 1,048,576 war. Das benutzte Typhusserum hatte einen Titer von 1 : 100 000, das Paratyphusserum 1 : 10 000. In jedes Röhrchen kam ein Tropfen Bacillenemulsion. Dann folgte Züchtung bei 37° C. Nach 24 Stunden wurde aus jedem Röhrchen auf ein neues mit ebenso verdünnter Immuserumbouillon beschicktes Röhrchen weiter geimpft. Nach einigen Tagen wurde dann aus allen oder einigen Röhrchen auf Endoagar überimpft und nach weiteren 24 Stunden die Agglutination geprüft. Ferner wurde als Kontrolle die Kultur auch in 0,85% NaCl aufgestellt zur Prüfung, ob spontane Agglutination eintritt. Außerdem wurde täglich auch in gewöhnlichen Bouillon geimpft und das Verhalten der hierin gewachsenen Bakterien geprüft

Versuch I. Typhus S. Agglutiniert am 26. VII. bis 1 : 24 000. Nun tägliche Überimpfung in Immuserumbouillon. Nach 6 maliger Überimpfung am 1. VIII:

a)	gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . .	agglutiniert bis 1 : 100 000
b)	„ „ „ 1 : 1892 . . . . .	„ „ 6 400
c)	„ „ „ 1 : 65536 . . . . .	„ „ = 3 200

keine Spontanagglutination.

Inzwischen wird täglich in Immuserumbouillon weiter gezüchtet. Am 13. Tag (7. VIII.) wie oben:

d)	gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . .	agglutiniert bis 100
e)	„ „ „ 1 : 32 . . . . .	„ „ 100
f)	„ „ „ 1 : 1024 . . . . .	„ nicht
g)	„ „ „ 1 : 16384 . . . . .	
h)	„ „ „ 1 : 1048576 . . . . .	„ „

keine Spontanagglutination.

**Versuch II. Typhus N. Züchtung wie Versuch I vom 13. VIII. bis 17. VIII. Nach 4 maliger Überimpfung am 17. VIII.:**

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert 1 : 200
- b) " " " 1 : 128 . . . . . " 1 : 200
- c) " " " 1 : 2048 . . . . . " 1 : 200
- d) " " " 1 : 65536 . . . . . " 1 : 200

**Versuch III. Typhus M. Züchtung wie Versuch I vom 28. VIII bis 1. IX. Titer des Immunserums 1 : 10 000. Agglutiniert am 28. IX. 1 : 10 000.**

**Nach 4 maliger Überimpfung am 1. IX.:**

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert nicht
- b) " " " 1 : 128 . . . . . " "
- c) " " " 1 : 2048 . . . . . " "
- d) " " " 1 : 65536 . . . . . " "

weiter gezüchtet bis 4. IX. wie oben:

- e) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert 1 : 200
- f) " " " 1 : 1024 . . . . . " nicht
- g) " " " 1 : 8192 . . . . . " "
- h) " " " 1 : 32768 . . . . . " "

**Versuch IV. Typhus XVIII. Titer des Immunserums 1 : 100 000. Es wurden ebenso wie in Versuch I Bouillon-Serum-Gemische beimpft, dagegen wurde nicht täglich überimpft, sondern im Thermostat vom 18. II. bis 25. II. stehengelassen. Dann Überimpfung auf Endoagar und Agglutination:**

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert bis 12800
- b) " " " 1 : 4 . . . . . " " 6400
- c) " " " 1 : 16 . . . . . " " 3200
- d) " " " 1 : 256 . . . . . " " 3200
- e) " " " 1 : 8192 . . . . . " " 3200
- f) " " " 1 : 32768 . . . . . " " 3200
- g) " " " 1 : 131072 . . . . . " " 3200
- h) " " " gewöhnlichem Bouillon. . . . . " " 12800

**Versuch V. Paratyphus B. III. Züchtung wie in Versuch I vom 4. VIII. bis 10. VIII. Am 10. VIII.:**

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert bis 3200
- b) " " " 1 : 128 . . . . . " " 3200
- c) " " " 1 : 8198 . . . . . " " 3200
- d) " " " 1 : 1048576 . . . . . " " 3200

keine spontane Agglutination.

**Versuch VI. Paratyphus B. II. Züchtung wie in Versuch I vom 13. VIII. bis 17. VIII. und weiter bis 21. VIII.**

**Am 17. VIII.:**

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert bis 1 : 200
- b) " " " 1 : 128 . . . . . " " 200
- c) " " " 1 : 2048 . . . . . " " 10000
- d) " " " 1 : 32768 . . . . . " " 10000

## Am 21. VIII.:

- e) gezüchtet in Serum 1 : 16 . . . . . agglutiniert bis 10000  
 f) „ „ „ 1 : 2048 . . . . . „ „ 10000.  
 keine spontane Agglutination.

Versuch VII. Paratyphus B. XV. Züchtung wie in Versuch I, jedoch Titer des Immuserums 1 : 8000. Agglutiniert am 28. VIII. bis 1 : 8000. Tägliche Überimpfung vom 28. VIII. bis 1. IX. und weiter bis 4. IX.

## Am 1. IX.:

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert bis 1 : 1600  
 b) „ „ „ 1 : 128 . . . . . „ „ 1 : 24900  
 c) „ „ „ 1 : 2048 . . . . . „ „ 1 : 24900

## Am 4. IX.:

- d) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert nicht  
 e) „ „ „ 1 : 1024 . . . . . „ „  
 f) „ „ „ 1 : 8193 . . . . . „ „  
 g) „ „ „ 1 : 32768 . . . . . bis 1 : 400  
 keine spontane Agglutination.

Versuch VIII. Paratyphus B. XIX. Züchtung wie in Versuch I vom 7. IX. bis 10. IX. Am 7. IX. agglutiniert bis 6400.

## Am 10. IX.:

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 . . . . . agglutiniert bis 1 : 1600  
 b) „ „ „ 1 : 128 . . . . . „ „ 1 : 3200  
 c) „ „ „ 1 : 32768 . . . . . „ „ 1 : 3200

Wie aus obigen Versuchsprotokollen hervorgeht, wurden je 4 Versuchsreihen mit Typhus- und Paratyphus B-Bacillen ausgeführt. Jede Versuchsreihe wurde mit einem verschiedenen Stamm gemacht. Bei Typhusbacillen wurde gewöhnlich in 20, bei Paratyphusbacillen in 15 verschiedenen Konzentrationen gezüchtet.

Das übereinstimmende Resultat in allen diesen Versuchen war, daß es in keinerlei Konzentration gelang, weder durch verschieden langes Züchten bzw. wiederholtes Überimpfen spontan agglutinierende Stämme zu erhalten. Das Auftreten der spontan agglutinierenden Varietät des Typhus- und Paratyphusbacillus hängt also nicht mit dem Agglutinin-gehalt des Nährbodens zusammen. Wenn es früher manchen Autoren gelang, durch Züchtung auf Immuserum solche Stämme zu erhalten, so war das ein Resultat, wofür vielleicht irgendein anderer Faktor des Serums verantwortlich war, der in unseren Sera fehlte. Es sei dabei daran erinnert, daß es z. B. Kirstein gelang, einmal unter 9 Fällen auf eiweißfreiem Asparaginagar

einen spontan agglutinierenden Stamm zu züchten, ohne daß man daraus auf einen ursächlichen Zusammenhang folgern könnte.

Wie ändert sich nun die Agglutinierbarkeit bei der Züchtung in verschieden konzentrierter Agglutininbouillon?

Bei Typhusbakterien zeigte sich in allen Versuchen nach der wiederholten Überimpfung eine Abnahme der Agglutinabilität. Dieses Resultat ist in Übereinstimmung mit dem eines Teiles der früheren Autoren (s. oben). Bekanntlich hat nicht nur Züchtung in Immuserumbouillon, sondern auch wiederholtes Überimpfen in gewöhnlichen Bouillon oft denselben Erfolg.

Es ist nun interessant, daß bei Züchtung in höher konzentriertem Immuserum die Typhusbacillen besser agglutinierbar bleiben, als in stark verdünntem. In Versuch I z. B. agglutinierten die in nur doppelt verdünntem Serum gezüchteten bis 1 : 100 000, während die in stärker verdünntem nur bis 6 400, und noch verdünnter gezüchtete nur bis 3200. Als dann nach noch längerer Züchtung die im Immuserum von 1 : 1024 und noch stärkeren Verdünnungen gezüchteten Bakterien inagglutinabel geworden waren, hatten die in 1 : 1, oder 1 : 32 gezüchteten noch eine geringe Agglutinierbarkeit behalten.

Dasselbe sieht man im zweiten Teil von Versuch III, wo letztere bis 1 : 200 agglutinieren, während die in stark verdünntem Immuserum gewachsenen inagglutinabel geworden sind.

Von Bedeutung ist in dieser Hinsicht Versuch IV, in welchem zwar alle Stämme hypagglutinabel werden, aber um so weniger, je konzentrierter der Nährboden an Agglutinin ist. Dieser Versuch gibt auch Antwort auf einen Einwand, den man machen könnte. Es wäre ja leicht möglich, daß nicht der Gehalt an Agglutinin es ist, der die Wirkung hat, sondern, daß es überhaupt der Gehalt an Serum ist, welcher die Agglutinierbarkeit begünstigt. Daß dem nicht so ist, geht daraus hervor, daß in reiner Bouillon gewachsene Bacillen ebenso agglutinabel sind, wie solche, die im höchstkonzentrierten Immuserumbouillon gewachsen sind. Es geht also aus diesen Versuchen hervor, daß geringe Quantitäten Agglutinin Hypagglutinabilität bewirken; große Agglutininmengen haben bei Typhusbacillen eine schützende Wirkung, in ihnen nimmt die Agglutinabilität nicht mehr ab als in gewöhnlichem Bouillon bei wiederholter Überimpfung.

In den Paratyphus-B-Versuchen ist das Resultat anders. Hier tritt die Hypagglutinabilität in Versuch VI und VII viel stärker in den in höher konzentriertem Agglutininbouillon gezüchteten Stämmen auf, als bei den in stark verdünntem gezüchteten. Im ersten Teil von Versuch VII wurden sogar die in den zwei größten Verdünnungen gezüchteten Bacillen ausgesprochen mehr agglutinierbar.

Zwischen Typhus- und Paratyphus-B-Stämmen zeigt sich also ein deutlicher Unterschied. Jene verlieren in konzentriertem Agglutininbouillon weniger von ihrer Agglutinabilität als in stark verdünntem, letztere werden gerade umgekehrt, besonders in konzentriertem, stärker hypagglutinabel. Zwischen Typhus und Paratyphusbacillen gibt es auch sonst verschiedene Unterschiede bezüglich ihrer Fällbarkeit durch Salze und Säure. Wodurch der hier beobachtete Unterschied bedingt ist, läßt sich derzeit nicht vermuten.

Wir haben auch versucht, die Salzstabilität unserer Stämme so zu untersuchen, daß wir nicht nur nach Agglutination in phys. NaCl forschten, sondern auch konzentriertere Kochsalzlösungen benützten. Hierzu wurde konzentrierte Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 9, 2 : 8, 3 : 7 usw. mit destilliertem Wasser gemischt. Davon wurde zu je 0,9 ccm je 0,1 ccm in destilliertem Wasser emulgierte Bacillen gegeben. In Versuch I wurden die am 8. VIII. in der Konzentration 1 : 1 und 1 : 1024 gewachsenen Typhusbacillen auf diese Weise untersucht (Versuch Ia). Ebenso wurde in Versuch V mit dem Paratyphus B III verfahren nach 4 tägiger Züchtung am 8. III. (Versuch Va). Auch in dem Versuch IV wurde der vom 8. II.—17. II. gezüchtete Stamm am 17. II. untersucht (Versuch IVa).

In keinem dieser Fälle konnte nachgewiesen werden, daß die Stämme salzempfindlich geworden wären. Selbst diese hohen NaCl-Konzentrationen haben in keinem Fall zu einer spontanen Agglutination geführt.

## II.

Die bisherigen Versuche entscheiden nicht darüber, ob die Änderungen der Agglutination nicht dennoch mit einer gewissen Änderung der Aussalzbarekeit einhergehen. Normale Bakterien sind in keiner NaCl-Konzentration ausfällbar. Spontan agglu-

tinierbare dagegen bereits durch mehr-weniger verdünnte NaCl-Lösungen.

Es war nun aber leicht möglich, daß Änderungen im Gehalte des hypothetischen Schutzkolloids oder was dasselbe sagt, eine Änderung der Stabilität der Bakterienemulsion vorkommen kann, ohne daß es gelingt, dies mit NaCl nachzuweisen. Wie oben erwähnt, sind normale Bacillen gegenüber NaCl und ebenso  $\text{NaSO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  usw. nach Neisser und Bechhold unempfindlich. Zur Aussalzung eignet sich dagegen gut das  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Hofmeister), von welchem (nach Kraus, Levaditi, S. 639) bekannt ist [Porges, Liefmann<sup>1)</sup>], daß es Bakterien um so leichter ausfällen soll, je leichter diese agglutinierbar sind. Das wurde jedoch nur an Bakterien bestimmt, deren Agglutinierbarkeit durch Erwärmung geändert wurde, wobei normale, auf 80° und auf 100° erwärmte Kulturen verglichen wurden.

Wie verhalten sich nun bezüglich ihrer Aussalzbareit durch  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Bakterienstämme von verschiedener Agglutinabilität, welche durch Züchtung auf Immunserum oder auf anderen Nährböden geändert wurde? Die Fällbarkeit durch  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  soll uns hier das Mittel sein, um den Gehalt an Schutzkolloid zu beurteilen. Wir vergessen dabei natürlich nicht, daß es sich nicht nur um eine Abnahme, sondern auch um qualitative Änderungen des Schutzkolloids bzw. der Bakteriensubstanz handeln kann.

Unsere Methodik war dabei die folgende: Es wurde eine konzentrierte  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung hergestellt und davon die folgenden Verdünnungen gemacht. Der Einfachheit halber wird in den Versuchsprotokollen nur die Nummer des Reagensrohres angegeben: 1) destilliertes Wasser 9 Teile und  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 Teil, 2) 8:2, 3) 7:3, 4) 6:4, 5) 5:5, 6) 4:7, 7) 3:7, 8) 2:8, 9) 1:9, 10) konz.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Das 10. Röhrchen wurde nicht immer aufgestellt.

Zuerst wurden einige Stämme verschiedener Provenienz untersucht. Davon seien zwei mitgeteilt, in welchen sich das Resultat ergab, daß die aus dem Blut gezüchteten Bacillen, die inagglutinabel waren mit  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  leicht ausgefällt wurden, während vom selben Individuum aus dem Stuhl gezüchtete besser

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Bakt. u. Parasitenk. **202**, 47. 1913; Münch. med. Wochenschr. **1417**. 1913.

agglutinierbare Bacillen mit  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  nicht fällbar waren (Versuch 9 u. 10).

Versuch IX. Typhus Ka. VIII. 26.

Herkunft	Agglutination	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung
aus Blut	negativ	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ----- + + +
aus Stuhl	1 : 800	negativ.

Versuch X. Typhus Ce VIII. 26.

aus Blut	negativ	----- + + +
aus Stuhl	1 : 100	negativ

Ferner wurde bei 6 Typhusbacillen-Dauerausscheidern die aus dem Stuhl gezüchteten Stämme untersucht, alle waren sehr gut agglutinierbar.

Versuch XI. Typhusstamm O. P. Q. R. S. T.

Mit  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  werden alle vom 5.—9. Röhrchen ausgefällt. Das Röhrchen Nr. 10 wurde nicht aufgestellt. Bei Wiederholung hat gelegentlich sogar noch Röhrchen 4 Fällung gegeben. Alle waren also sehr leicht ausfällbar.

Es sollten dann durch längere Züchtung und tägliche Überimpfung auf gewöhnlichen Nähragar in ihrer Agglutinierbarkeit veränderte Stämme auf ihre Salzfallbarkeit untersucht werden. Hierüber berichtet Versuch 12—19 an 5 Typhus, 2 Paratyphus B und ein Paratyphus A. Stamm. Diese Versuche sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Änderung der Agglutinierbarkeit nicht immer parallel mit der Fällbarkeit durch Salze geht, während man in anderen Fällen einen ziemlich genauen Parallelismus sieht. So nimmt z. B. in Versuch XIV die Agglutinierbarkeit am 1. XIII. ab, die Salzfallbarkeit dagegen zu, und erst später folgt dann auch eine Zunahme der Agglutinierbarkeit. Ähnlich in Versuch XVI, wo am 1. XIII. eine deutliche Zunahme der Salzfallbarkeit ohne Zunahme der Agglutinierbarkeit auftrat, welche erst später auch größer wurde.

Bezüglich der Fällbarkeit durch das Salz herrscht ein Unterschied zwischen den Typhus- und Paratyphusbacillen. Letztere sind innerhalb eines viel größeren Konzentrationsbereiches fällbar. Typhusbacillen werden nicht oder nur feinflockig im 10. Röhrchen, maximal im 9. und 8. und gewöhnlich noch im 5. Röhrchen ausgefällt<sup>1)</sup>. Paratyphusbacillen werden dagegen regelmäßig stark grobflockig im 10. und fast immer im 4., oft auch im 3., ja 2. Röhrchen ausgefällt. Dabei ist die Fällung in den meisten Röhrchen viel gröber als bei Typhus. Porges und Liefmann (l. c.) haben für

<sup>1)</sup> Ausnahme s. Vers. XXI bis zu Rohr 3

Tabelle I.

Versuch Nr.	Datum	Widal												(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Fällung										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
XII Ty M	8. I.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
		+	+	+	+															+	+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
	13. I.	+	+	+	+															+	+	+	+	+
		+	+	+	+																+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
17. I.	+	+	+	+	+	+	+	+											+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+														+	+	+	+	
	+	+	+	+																	+	+	+	
XIII Ty K	8. I.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
		+	+	+	+	+															+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
	13. I.	+	+	+	+																+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
17. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								+	+	+	
XIV Ty Y	8. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
		+	+	+	+	+																+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
	13. I.	+	+	+	+																+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
17. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+		
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+									+	+	+	
XV Ty 101	8. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
		+	+	+	+	+																+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
	13. I.	+	+	+	+																+	+	+	+
		+	+	+	+																	+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
17. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+		
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+									+	+	+	
XVI Ty 354	8. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
		+	+	+	+	+																+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
	13. I.	+	+	+	+	+	+														+	+	+	+
		+	+	+	+	+																+	+	+
		+	+	+	+																		+	+
17. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+		
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+									+	+	+	



Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Datum	Widal											(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Fällung															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
XVII Paly A	8. I.	+	+	+	-	-	-	-									-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
		+																-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+																-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	13. I.	+	+	+	-	-	-	-										-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
17. I.	+	+	-	-	-	-	-										-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+															-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+															-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
XVIII Paly B	8. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	-							-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
		+	+															-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+															-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	13. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+	+								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+	+								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
17. I.	+	+	+	+	-	-	-	-	-								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+													-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+													-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
XIX Paly B	8. I.	+	+	+	+	-	-	-	-								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	13. I.	+	+	+	+	-	-	-	-	-								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+														-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
17. I.	+	+	+	+	-	-	-	-	-								-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+													-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+													-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	

Salzfällung und L. Michaelis<sup>1)</sup> für die Säureagglutination auch charakteristische Unterschiede zwischen diesen Gruppen gesehen.

Die Versuche mit Paratyphusbacillen zeigten noch deutlicher, daß die Salzfällbarkeit sich unabhängig von der Agglutinierbarkeit ändert. In allen drei Versuchen (Vers. XVII, XVIII, XIX) nimmt im Laufe der Züchtung die Salzfällbarkeit deutlich zu. Sie steigt in den beiden Paratyphus B. Versuchen vom 5.—3. bzw. vom 4.—2. Röhrcchen. Demgegenüber nimmt die Agglutinabilität in Versuch XVIII ab und bleibt in Versuch XIX konstant gering. Dieser Versuch ist auch ein gutes Beispiel dafür, daß die Salzfällbarkeit keinesfalls gleichwertig mit der Agglutinierbarkeit ist, denn der schwach agglutinable Stamm im Versuch XIX ist stärker fällbar als der gut agglutinierbare in Versuch XVIII.

Aus allen diesen Versuchen geht demnach hervor, daß die Agglutinierbarkeit und die Salzfällbarkeit sich unabhängig voneinander ändern, allerdings oft auch parallel gehen. Sie können also nicht Folgen des Zustandes einer und derselben Substanz sein.

<sup>1)</sup> Dtsch. med. Wochenschr. 1915, S. 19.

Es frug sich nun, wie sich die Fällbarkeit durch  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  bei Stämmen verhält, die durch Züchtung auf Immunserum hypagglutinabel wurden. Es war das, wie bereits einleitend bemerkt, deshalb von Interesse, weil sich vielleicht auf diese Weise Einblicke in die Änderungen des Schutzkolloids gewinnen ließen, dessen Verschwinden zuletzt die Spontanagglutination durch NaCl zur Folge hat. Auch hierbei zeigte sich eine vielfache Unabhängigkeit des Schutzkolloids von dem mit dem Agglutinin reagierenden Teil.

Versuch XX. Typhus. Die im Versuch I gezüchteten Stämme:

- d) agglutiniert 1 : 1000 gibt  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung im Rohr 7, 8, 9  
 f) „ nicht „ „ „ „ „ 8, 9.

Versuch XXI. Typhus. Die in Versuch 3 in Serum gezüchteten Stämme.

- VIII. 28. aggl. 1 : 10000 gibt  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung im Rohr 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9  
 b) „ nicht „ „ „ „ „ nicht  
 d) „ „ „ „ „ „ „ 4, 5, 6, 7, 8, 9  
 e) „ 1 : 200 „ „ „ „ „ nicht  
 f) „ nicht „ „ „ „ „ nicht  
 g) „ „ „ „ „ „ „ 5, 6, 7, 8, 9  
 h) „ „ „ „ „ „ „ 5, 6, 7, 8, 9

Versuch XXII. Typhus IX. 7. Züchtung in Agglutinin Traubenzucker-Bouillon, tägliche Überimpfung.

Am 10. IX. Überimpfung auf Endoagar und mit der 18-stündigen Kultur am 11. IX.:

- a) gezüchtet in Serum 1 : 1 inagglutinabel  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fällung nicht  
 b) „ „ „ 1 : 128 „ „ „ 45678  
 c) „ „ „ 1 : 32768 „ „ „ 89

Aus diesen 3 Versuchen mit Typhusbacillen geht hervor, daß häufig ein Parallelismus zwischen Salzfällbarkeit und Agglutinierbarkeit besteht; so z. B. in Versuch XX zwischen Stamm d und f. Noch deutlicher ist das in Versuch XXI, wo der zuerst hochagglutinable Stamm ganz inagglutinabel wurde, wobei die zuerst sehr große Salzfällbarkeit ganz aufgehoben wird (Stämme b, e, f).

Dagegen tritt im selben Versuch bei Stamm g und h (Züchtung in sehr verdünntem Immunserum) ein Rückschlag auf und der Stamm wird stark salzfällbar, trotzdem er ganz inagglutinabel ist. Hier besteht auch ein Gegensatz zwischen Stamm e einerseits und Stamm g andererseits, indem e etwas agglutinierbarer aber ganz salzunfällbar ist, g, h dagegen umgekehrt. Hieraus folgt, daß Agglutinierbarkeit und Salzfällbarkeit nicht notwendigerweise parallel gehen müssen. Ebenso zeigen sich Unter-

schiede in Versuch XXII. Der Stamm ist in jeder Zucht inagglutinabel, und trotzdem sind sie gegen Salzausfällung sehr verschieden empfindlich.

Während wir oben zeigten, daß bei Typhusbacillen bei Züchtung in konzentriertem Immunserum die Agglutinierbarkeit sich nicht so stark vermindert wie in verdünnterem Serum, ist hier gerade im allgemeinen die Salzfällbarkeit um so größer, in je verdünnterem Immunserum gezüchtet wurde (Versuch XXI, XXII). Es ließ sich aber auch auf diese Weise nicht nachweisen, daß durch Züchtung in irgendwelcher Immunserumkonzentration die Fällbarkeit gegenüber der Norm vermehrt würde.

#### Versuch XXIII. Paratyphus B.

Die in Versuch V in verschiedenen Serumkonzentrationen gezüchteten Kulturen a, b, c, d agglutinieren alle bis 1 : 3200 und zeigten Salzfällung im Röhrchen 5, 6, 7, 8, 9.

#### Versuch XXIV. Paratyphus B.

Die in Versuch VI gezüchteten Kulturen e f agglutinieren bis 1 : 10000 und geben Salzfällung im Röhrchen 4, 5, 6, 7, 8, 9.

#### Versuch XXV. Paratyphus B.

Die in Versuch VII gezüchteten Kulturen.

Am 28. VIII. normaler Stamm agglutiniert 1 : 8000 Salzfällung 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

#### Am 1. IX.:

a)	gezüchtet in Serum 1 : 1	agglut. 1 : 1600	Salzfällung 5, 6, 7, 8, 9
b)	„ „ „ 1 : 128	„ 1 : 24800	„ 5, 6, 7, 8, 9
c)	„ „ „ 1 : 2048	„ 1 : 24800	„ 5, 6, 7, 8, 9

#### Am 4. IX.:

d)	gezüchtet in Serum 1 : 1	agglut. nicht	Salzfällung 5, 6, 7, 8, 9
e)	„ „ „ 1 : 1224	„ „	5, 6, 7, 8, 9
f)	„ „ „ 1 : 8192	„ „	„ nicht
g)	„ „ „ 1 : 32768	„ 1 : 400	„ „

#### Versuch XXVI. Paratyphus B.

Die in Versuch VIII gezüchteten Kulturen.

Der normale Stamm agglutiniert 1 : 6400 Salzfällung 4, 5, 6, 7, 8, 9

Stamm a)	agglutiniert 1 : 6400	Salzfällung 4, 5, 6, 7, 8, 9
„ b)	„ 1 : 1600	„ 5, 6, 7, 8, 9
„ c)	„ 1 : 3200	„ 5, 6, 7, 8, 9.

In diesen 4 Versuchen an Paratyphus-B-Bacillen ergibt sich vor allem auch eine Inkongruenz zwischen Agglutinierbarkeit und Salzfällbarkeit, was besonders in Versuch XXV deutlich ist, wo Stamm b und c agglutinierbarer wurden, während

die Salzfällbarkeit abnahm. Noch auffallender ist das bei g. Sonst gibt es aber auch genug Beispiele für ein Parallelgehen der beiden Erscheinungen (s. Versuch XXIII und Versuch XXIV, ferner Versuch XXV, Stammkultur und Kultur a.

Betrachtet man diese Resultate vom Standpunkt der Serumkonzentration in der gezüchtet wurde, so findet man, daß ebenso wie bezüglich der Agglutinierbarkeit die Verhältnisse hier gerade umgekehrt wie beim Typhusbacillus liegen. Dort sahen wir, daß die Salzfällbarkeit um so größer ist, in je verdünnterem Serum die Kultur erfolgte, hier dagegen wurde die Salzfällbarkeit in verdünntem Serum geringer, als in konzentriertem (Versuch f, g XXV). Die Agglutinierbarkeit verhielt sich gerade umgekehrt.

Endlich sei hier noch ein Kontrollversuch erwähnt.

Bei Kraus - Levaditi, S. 639, findet man die Bemerkung: „Sucht man die Ausflockungsgrenze nach Hofmeisters Methode mittels  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  für verschiedene dichte Emulsionen zu ermitteln, so findet man, daß die untere Ausflockungsgrenze mit zunehmender Verdünnung der Bakterienaufschwemmung steigt, während die obere Ausflockungsgrenze konstant bleibt, ein Verhalten, wie es den Eiweißkörpern bei der Salzfällung zukommt.“

Um nun zu kontrollieren, inwiefern unsere Versuchsergebnisse möglicherweise dadurch beeinflußt wurden, daß die verwendeten Bakterienemulsionen eventuell nicht gleich konzentriert waren, wurde der folgende Kontrollversuch gemacht. Dabei sei zuerst bemerkt, daß bei den gewöhnlichen Kulturen immer ein Schrägagarröhrchen mit 10 ccm destilliertem Wasser abgeschwämmt wurde, so daß Konzentrationsunterschiede nur dann möglich gewesen wären, wenn die Kultur verschieden üppig gewachsen wäre. Zum Kontrollversuch wurde eine Schrägagarkultur mit 3 ccm abgespült, dann aufs Doppelte und auf das Vierfache verdünnt.

	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
Abgespült mit 3 ccm gibt Salzfällung i. Röhrchen	----- + + + + + +
"    "    6    "    "    "    "    "    "	----- + + + + + +
"    "    12   "    "    "    "    "    "	----- + + + + + +

Hieraus folgt, daß selbst so große Konzentrationsunterschiede der Bacillen, wie sie in unseren Versuchen nie vorkamen, unter diesen Versuchsbedingungen das Resultat nicht beeinflussen. Nur in der konzentriertesten Lösung waren die beiden extremsten Werte deutlicher. Für unsere Methodik ist das bedeutungslos

Fassen wir das Resultat dieser Untersuchungen zusammen: Durch Züchtung in verschiedenst konzentriertem, agglutininhaltigem Bouillon und täglicher Überimpfung in solchen, gelang es niemals stärker agglutinierbare Typhus- oder Paratyphusstämmen zu züchten. Eben- sowenig erfolgte spontane Agglutination oder vergrö- ßerte sich auch die Empfindlichkeit gegenüber NaCl nicht und auch gegenüber  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  entstand keine beson- dere Empfindlichkeit.

Es folgt daraus, daß für das Auftreten von spontan agglutinierenden Stämmen, also solchen mit vermehrter Salzempfindlichkeit, der Gehalt des Nährbodens an Agglu- tinin keine Erklärung gibt. Wenn man auch früher gelegent- lich solche Beobachtungen machte, so kann es sich dabei doch kaum um einen ursächlichen Zusammenhang gehandelt haben.

Immerhin ist es auffallend, daß spontan agglutinierende Stämme, wie es scheint, nur bei Rekonvaleszenten bzw. Dauerausscheidern gefunden werden, so daß es sich wohl doch um eine „Schädigung“ der Bacillen durch Wachstum auf immunem Nährboden handeln dürfte, wenn dies auch in keinem Zusammenhang mit dem Agglutiningehalt steht.

In Übereinstimmung mit manchen früheren Autoren konnte nur eine Abnahme der Agglutinierbarkeit durch Züch- tung in Immuserum erreicht werden. Dabei zeigte sich, daß bei Typhusbacillen die Abnahme der Agglutinierbarkeit in konzen- triertem Immuserum geringer war als in verdünntem, bei Para- typhus-B-Bacillen dagegen umgekehrt besonders stark, wenn in konzentriertem Immuserum gezüchtet.

Diese Versuche zeigten einen mannigfachen Unter- schied zwischen der Salzfallbarkeit durch  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  und der Agglutinierbarkeit durch spezifisches Agglu- tinin. Man nahm bisher an, daß diese beiden Vorgänge parallel gehen auf Grund von Versuchen, in welchen die Agglutinierbar- keit der Bacillen durch verschiedenes Erwärmen verändert war. Wenn man, wie es hier geschehen ist, die Agglutinierbarkeit durch verschiedene Umzüchtung, Provenienz usw. ändert, so sieht man zwar auch häufig einen Parallelismus, aber ebenso häufig auch — und das ist hier das Wesentliche — auch einen mehr-weniger großen Gegensatz zwischen der Salzfallbarkeit und der Agglu-

tinierbarkeit. Es gibt gut agglutinierbare Stämme, die keine Salzfällung geben, und noch öfter hypagglutinable Stämme oder inagglutinable, die sehr empfindlich für Salzausfällung sind.<sup>1)</sup>

So gibt uns die Salzausfällung ein Mittel in die Hand, um über eine von der Agglutinierbarkeit unabhängige Eigenschaft der Bacillen ein Bild zu gewinnen. Es scheint uns theoretisch wichtig zu sein, daß auf Grund dieser Versuche das supponierte Schutzkolloid nicht identisch sein kann mit dem Körper, der mit dem Agglutinin reagiert, sonst würden sich beide nicht unabhängig voneinander ändern. Andererseits geht das auch schon aus der von einer von uns früher mitgeteilten Beobachtung hervor, nach welcher auch spontan agglutinierende Bakterien in entsprechend verdünnter Salzlösung durch Agglutinin ebenso ausgefällt werden, wie normale. Auch hieraus ergibt sich, daß die Instabilität des spontan agglutinierenden Bakterienkörpers unabhängig von der Reaktionsfähigkeit mit dem Agglutinin aufgetreten war.

Wenn man erkannt hat, daß die Verfolgung der Salzstabilität uns Aufklärung über bisher wenig studierte Eigenschaften des Bakteriums geben kann, so darf die Hoffnung ausgesprochen werden, daß es vielleicht gelingen wird, Beziehungen zwischen diesen und anderen biologischen Eigenschaften der Bakterien festzustellen.

<sup>1)</sup> Anmerk. bei der Korrektur: In einer soeben erschienenen Arbeit, die uns im Original noch nicht zugänglich war, kommt Eisenberg zu ähnlichen Resultaten. (Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 83, 561; cf. Zentralbl. Bioch Bioph. XXII. 5. VI.

# Zur Frage des Nachweises der Permeabilitätsänderung des Nerven bei Narkose und Erregung.

Von  
Fritz Verzár.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität in Debreczen.)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Das Studium der Narkose ist deshalb so bedeutungsvoll geworden, weil es nicht nur das Narkoseproblem selbst, sondern besonders auch die Gesetze der physiologischen Stoffaufnahme in die Zelle und andererseits die bei dem Erregungsvorgang ablaufenden Zustandsänderungen beleuchtet.

Die Theorie der Narkose hat zwei voneinander unabhängige Fragen zu beantworten: 1. auf Grund welcher Eigenschaften wird ein Narkoticum in die Zelle aufgenommen? 2. Welche Änderungen bewirkt es in der Zelle, die zur Aufhebung der Erregbarkeit führen?

Auf die erste Frage antwortet die Lipoidtheorie oder Traubes Haftdrucktheorie. Auf die zweite Frage — und nur diese beschäftigt uns hier — haben andere Theorien zu antworten gesucht; vor allem die immer mehr verlassene Erstickungstheorie, dann die Theorie der Verdrängung von den Oberflächen, die nur wenig ausgebaute Theorie der Molekularverbindungen und vor allem die Permeabilitätstheorie. (Die Koagulationstheorie ist wohl nur als Ergänzung zu letzterer zu betrachten.)

In dankenswerter Weise hat vor kurzem Winterstein<sup>1)</sup> unsere Kenntnisse über die Narkose und besonders auch über diese Theorien zusammengefaßt und kommt zu dem Resultat, daß auf Grund des vorliegenden Tatsachenmaterials der Mechanismus der Wirkung der Narkotica eine „Änderung der normalen Grenzflächenbeschaffenheit“, „eine reversible Verminderung der Durchgängigkeit“ (S. 277), also eine Permeabilitätsänderung ist. Man muß sich vorstellen, daß erstens gewisse Substanzen auf Grund ihrer Oberflächenaktivität in die Zellen gelangen und zweitens dort den Erregungsvorgang dadurch hemmen, daß sie die physiologi-

sche Permeabilität ändern, entweder durch Koagulation der Kolloide (Zustandsänderung) in der Membran, oder durch Verdrängung der weniger oberflächenaktiven Substanzen von den Oberflächen. In beiden Fällen wird die Verteilung der Zellbestandteile geändert. Es ist klar, daß hier das Problem der Narkose uns auch Aufklärungen geben muß für das Problem der Erregung. Es ist ja eine allgemeine Methode aus der Hemmung eines Vorganges auf dessen Natur zu folgern. Deshalb lohnt es sich, die Beweise zu betrachten, auf Grund deren die Permeabilitätstheorie aufgebaut ist. An Hand von Wintersteins Buch<sup>2)</sup> kommen die folgenden Versuche in Betracht: 1. Der Versuch von Alcock<sup>3)</sup>: Chloroform vermindert den Ruhestrom der Froschhaut und der Nerven, besonders auch dann, wenn es nur auf den Längsschnitt wirkt. 2. Chiaris Versuche<sup>4)</sup>: Beschleunigung der Autolyse der Leber durch Chloroformdämpfe, ebenso wie durch Zerspaltung der Zellen. 3. Höber<sup>5)</sup> zeigt, daß die Salzruhestrome des Muskels durch Narkotica abgeschwächt werden. 4. Lillie<sup>6)</sup>: Pigmentaustritt aus Zellen von niederen Tieren bei Narkose; Hemmung der Cytolyse. 5. Lepeschkin<sup>7)</sup>: Verminderte Farbstoffspeicherung in Pflanzenzellen und Durchgängigkeit für Salpeter unter dem Einfluß von Narkotica. 6. Osterhout<sup>8)</sup> fand eine reversible Verminderung der elektrischen Leitfähigkeit von Laminariascheiben, später aber eine irreversible Erhöhung. 7. Loeb<sup>9)</sup> bestimmt die Zeit, welche Funduluseier zum Schrumpfen in hypertonen Salzlösungen brauchen unter dem Einfluß von Narkotica. 8. Joel<sup>10)</sup> maß die Beeinflussung der Hämolyse im Rohrzucker; ebenso Katz<sup>11)</sup>. 9. McClendon<sup>12)</sup> sah durch geringe Quantitäten von Narkotica den durch Nitrate bedingten Austritt von Salzen aus Funduluseiern hemmen.

Man muß Winterstein durchaus recht geben, wenn er gegen die Beweiskraft aller dieser Versuche gewichtige Einwände macht und zu manchem ließen sich noch neue hinzufügen. So gilt vor allem für die Versuche an Pflanzenzellen von Lepeschkin und Osterhout, ebenso auch für die Versuche an Leberzellen von Chiari, roten Blutkörperchen (Joel, Katz), an Funduluseiern (McClendon, Lillie, Loeb) — wie das auch von Winterstein hervorgehoben wird — daß es nicht erwiesen ist, daß die beobachteten Veränderungen auch wirklich mit einer Narkose, einer reversiblen Aufhebung der Erregbarkeit, verbunden sind. Es bleiben dann noch die elektrophysiologischen Versuche von Alcock und Höber. Gegen Alcock läßt sich einwenden, daß (abgesehen davon, daß er meist sehr hohe, sicher schädigende Konzentrationen verwendete) die Abnahme des Ruhestromes nur dann eine Permeabilitätsänderung beweist, wenn man als Ursache der Potentialdifferenz semipermeable Membranen annimmt. Also ist die Grundlage des Versuches hypothetisch. Dasselbe gilt für Höbers Versuch.

Wenn also Winterstein auf Grund dieser Versuche zu der Überzeugung gelangt, daß es neuer und beweisenderer Versuche bedarf, um die Permeabilitätsänderung in der Narkose zu beweisen, so stimme ich ihm ganz bei. Tatsächlich hat er 1916<sup>13)</sup> gezeigt, daß bei Muskeln gleichzeitig mit der Aufhebung der Reizbarkeit, auch eine Verminderung der Salz- und Wasser-Permeabilität einhergeht. Dagegen wäre nur das einzuwenden.



daß die natürlichen Wege der Wasserdiffusion von außen in das Innere der Muskelfasern führen, dagegen in Wintersteins Versuchen, in welchen dünne Muskeln als Membranen aufgespannt wurden, erfolgte die Diffusion des Wassers und der Salze für den Muskel von außen nach außen, also möglicherweise nur durch die Zwischensubstanz und nicht durch die Muskelfibrillen selbst. Jedenfalls ist aber auch dieser Versuch eine Stütze der Permeabilitätstheorie.

## I.

Demgegenüber möchte ich die Aufmerksamkeit darauf lenken, daß ein alter physiologischer Versuch, welcher vor langer Zeit, unabhängig von den Problemen der Permeabilität ausgeführt wurde, meiner Ansicht nach ein guter, physikalisch-chemisch exakter Beweis dafür ist, daß sich bei der Narkose des Nerven seine Permeabilität ändert. Ich habe bereits 1913<sup>14)</sup> in anderem Zusammenhange darauf hingewiesen. Es ist dies „die zuerst von Biedermann<sup>15)</sup>, dann auch von Waller<sup>16)</sup>, Boruttau<sup>17)</sup> und Alcock<sup>18)</sup> beobachtete Abnahme der Polarisierbarkeit des Nerven in der Narkose“. „Diese Tatsache, die ich bei vielfacher Wiederholung immer wieder bestätigt fand, scheint mir zum Verständnis der Nerventätigkeit wie der Theorie der Narkose von großer Bedeutung zu sein und verdient wohl viel mehr Beachtung als ihr bisher entgegengebracht wurde.“ (Arch. f. d. ges. Physiol. 152, 340. 1913.)

Der Versuch ist der, daß man mittels unpolarisierbarer Elektroden durch einen Froschnerven einen konstanten elektrischen Strom leitet und extrapolar den anelektrotonischen und kat-elektrotonischen Strom mißt. Läßt man nun in die feuchte Kammer einige wenige Blasen Äther oder Chloroform gelangen, so verschwindet der Polarisationsstrom. (Man kann übrigens auch intrapolar messen und dann bestimmen, daß der „scheinbare Widerstand“ sich bei der Narkose ändert.) Dieser Versuch wurde seinerzeit deshalb ausgeführt, um zu zeigen, daß der Elektrotonus etwas mit dem Leben Zusammenhängendes sei. Biedermann hat auch auf diese Weise physiologischen und physikalischen Elektrotonus zu unterscheiden gesucht, und Alcock hat auch auf Grund der Polarisationsänderung auf Änderungen der Permeabilität bei Narkose geschlossen

Dieser Versuch ist nun fast eindeutig zur Erklärung der bei der Narkose entstehenden Änderungen. Er hat 1. den Vorteil,

daß er am Nerven ausführbar ist, wo sich mit Leichtigkeit konstatieren läßt, daß gleichzeitig mit dem Verschwinden der Reizbarkeit auch die Polarisationsströme fast ganz verschwinden. Es kann hier also gar kein Zweifel bestehen, daß die Erscheinung auf das Engste mit der Narkose in Zusammenhang steht; 2. hat er den Vorzug vor den anderen elektrophysiologischen Versuchen, daß er nicht, wie die anderen in dieser Fragestellung ausgeführten Versuche, vom Ruhestrom ausgeht, bezüglich dessen Ursachen man noch Hypothesen aufstellen kann, also nicht auf einer theoretischen Basis aufgebaut ist; 3. daß er nichts anderes als die Anwendung einer einfachen physikalisch-chemischen Methode ist, der Durchleitung eines konstanten elektrischen Stromes durch einen feuchten Leiter mit gleichzeitiger Messung der Stromstärke.

Als Folge dieser drei Vorzüge ist die Deutung dieses Versuchsergebnisses vom Standpunkt der Narkosetheorie einfach. Es zeigt sich, daß, wenn der Nerv narkotisiert wird, die Polarisierbarkeit abnimmt und insbesondere die extrapolaren Ströme fast ganz verschwinden. Da es sich um einen feuchten Leiter handelt, ist das auf zweierlei Weise möglich: a) entweder dadurch, daß sich die Zahl der Ionen, die durch den konstanten Strom beeinflusst werden, in der Narkose geändert hat. Es gibt keinen Versuch, der uns einen Anhaltspunkt dafür geben könnte, daß in der Narkose die Zahl der Ionen sich momentan ändert<sup>19)</sup>. Wenn man diese Möglichkeit außer acht läßt, dann gibt es noch eine zweite Möglichkeit: b) Die Permeabilität jener Membran, an welcher die Polarisation stattfindet, welche die verschiedenen Ionen voneinander trennt, muß sich bei der Narkose ändern und dadurch ändert sich die Polarisierbarkeit, deren Ausdruck die kat- und anelektrotonischen Ströme sind. Dabei ist es ganz gleich ob man anstatt von einer trennenden Membran einfach von Grenzflächen verschiedener Phasen spricht, in denen die verschiedenen Ionen gelöst sind, oder von Grenzflächen, von denen sie verdrängt werden. In diesem Falle wird man sagen müssen, daß sich der Zustand einer Phase durch die Narkose geändert hat, wodurch sich auch die Verteilung der Ionen geändert haben muß, z. B. dadurch, daß die Löslichkeit oder Adsorbierbarkeit sich nun geändert haben muß. Ich glaube, daß man ganz gleich, ob man von Änderung einer Membran oder Phasengrenzflächen spricht,

nur verschiedene Ausdrücke für wesensgleiche Vorgänge benützt, denn das wesentliche ist, daß die Verteilung der Ionen sich durch die Narkose ändert und zwar so, daß die Polarisierbarkeit vermindert wird

## II.

Ich habe auch auf eine andere Weise einen Beleg dafür zu liefern gesucht, daß sich in der Narkose die Permeabilität von Membranen im Nerven ändert. Doch hat dieser Versuch nicht den großen Vorteil des vorigen, daß auch seine Grundlagen eindeutig sind, denn er geht von der Membrantheorie der bioelektrischen Ströme aus (l. c. S. 30).

Leitet man von zwei Stellen eines Froschnerven zum Galvanometer und erwärmt oder kühlt dann die eine Ableitungsstelle, so findet man, daß zwischen beiden ein elektrischer Strom (Thermostrom) entsteht. Dieser beträgt im Durchschnitt pro  $1^{\circ}\text{C}$   $8,10^{-5}\text{V}$ . Macht man diesen Versuch zuerst am normalen und dann am narkotisierten Nerven, so findet man, daß der Thermostrom in der Narkose größer wird. So wurde pro  $1^{\circ}\text{C}$  bei vier verschiedenen Nerven vor der Narkose 6,1 bzw. 6,2; 7,6; 18,5 und während der Narkose 7,6 bzw. 9,9; 8,8;  $21,2 \times 10^{-5}\text{Volt}$  pro  $1^{\circ}\text{C}$  gefunden. Die Thermostrome können mit der Annahme erklärt werden, daß die bioelektrischen Ströme Konzentrationsströme sind. [Siehe hierzu Bernstein<sup>20</sup>), Verzár<sup>21</sup>), jedoch auch Pauli und Matula<sup>22</sup>), Bernstein<sup>23</sup>)]. Demgemäß könnte auch dieser Versuch auf zweierlei Weise erklärt werden; entweder hat sich in der Narkose die Zahl der polarisierbaren Ionen geändert, oder hat sich die Permeabilität der Membranen geändert, an denen die Polarisation sich abspielt. Nachdem kein Anhaltspunkt für die erste Möglichkeit besteht, bleibt als Erklärung nur die Annahme der Änderung der Permeabilität. So ist auch dieser Versuch eine Stütze der Permeabilitätstheorie

## III

Dieser Teil des Narkoseproblems ist deshalb so wichtig, weil er uns Einblick gibt in die beim Erregungsvorgang vor sich gehenden Veränderungen. Dieselbe physikalisch-chemische Methode, welche zur Erkenntnis der Permeabilitätsänderung in der Narkose geführt hat, gibt auch Einblick in das Wesen des Erregungsvorganges. Ein alter Versuch von Bernstein lehrt,

daß die extrapolaren Ströme bei der Erregung abnehmen (1866). Der polarisierende Strom selbst zeigt eine positive Schwankung, er wird verstärkt (Grünhagen 1869, Hermann 1872). Wie ich bereits früher (l. c.) ausgeführt habe, kam bereits Hermann zu der Überzeugung, daß diese Versuche eine Abnahme der Polarisierbarkeit in der Erregung beweisen. Es handelt sich also wieder um eine einfache physikalisch-chemische Methode. Durch einen feuchten Leiter (den Nerv) wird ein konstanter Strom geleitet. Der Leiter wird polarisiert und bei der Erregung nimmt die Polarisation ab. Wieder — wie oben — sind zwei Erklärungen möglich. Entweder die Zahl der Ionen ändert sich, die durch den elektrischen Strom polarisiert werden, oder die Membran (bzw. Phase) ändert sich an der die Polarisation stattfindet. Kein zwingender Grund ist bisher für die Annahme vorhanden, daß bei der Erregung sich die Zahl der Ionen ändere (cf. l. c.),<sup>1)</sup> so bleibt auch hier die mit der Membrantheorie übereinstimmende Annahme, daß es sich auch beim Erregungsvorgang um Änderungen der Permeabilität handeln dürfte. Diese Folgerung wurde bekanntlich schon vielfach gezogen, so besonders von Cremer, Bernstein, Höber usw.

Das wesentliche für die Narkosefrage scheint mir nun aber zu sein, daß sowohl bei der Erregung als bei der Narkose die Polarisierbarkeit des Nerven sich in gleichem Sinne ändert, nämlich abnimmt. In beiden Fällen wird die Membran also in gleichem Sinne verändert (Depolarisation? Permeabilitätsverminderung?). Man kommt so zu der überraschenden Überzeugung, daß Erregung und Narkose bezüglich der Permeabilitätsänderung nicht antagonistische sondern wesensgleiche Vorgänge sind. Man ist gewöhnlich geneigt anzunehmen, daß die bei der Narkose entstehende Lipoidfällung bzw. die den Dispersionsgrad von Kolloiden ändernde Wirkung, der Erregung entgegenwirkt. Auf Grund der Polarisationserscheinungen scheint aber das Gegenteil möglich zu sein. Man wird sich vorstellen können, daß das Narkoticum denselben Vorgang hervorruft wie die Erregung. Der narkotisierte Nerv gelangte also deshalb nicht mehr in Erregung, weil derselbe Prozeß bereits durch das Narkoticum hervorgebracht wäre. Wenn die

<sup>1)</sup> Besonders die thermodynamischen Überlegungen von Hill (Journ. of Physiol 43, 440) sprechen sehr dagegen.

Erregung wirkt, wie das Öffnen einer Tür, so kann in der Narkose das „Türöffnen“ deshalb nicht mehr zustande kommen, weil die Tür schon geöffnet ist, durch die identische Wirkung des Narkoticums.

Höber<sup>24)</sup> gelangte zu der Überzeugung, daß Erregung Lockerung von Kolloiden sein müsse. Es war nun ein Widerspruch, daß die Narkotica nach den meisten Untersuchungen nicht umgekehrt wirken, sondern auch durch Lockerung der Kolloide. Dieser Widerspruch verschwindet, wenn die Wirkung von beiden identisch ist. Es ist ferner klar, daß das Erregungsstadium der Narkose so leicht erklärbar ist. Es läßt sich, wenn man einen polarisierten Nerv narkotisiert, nicht beobachten, daß z. B. am Anfang der Narkose die Polarisationsströme stärker und erst später schwächer würden.

Nachträglich sehe ich, daß Boruttau, l. c. S. 358, gelegentlich auch eine anfängliche Steigerung der elektrotonischen Ströme am Anfang der Narkose, besonders mit Chloroform, gesehen hat. Sowohl das, wie die interessanten Beobachtungen Boruttaus über die Wirkung von Alkohol, das Verhalten der Erregungswelle, wie des kat- und anelektrotonischen Stromes soll in dieser Richtung noch später verwertet werden.

Also ein Erregungsstadium, das sich physikalisch-chemisch anders verhalten würde, als das Narkosestadium, fand man in diesen Versuchen nicht. Man müßte sich höchstens noch fragen, warum denn nicht jede Narkose auch am isolierten Nervmuskelpräparat mit einer Erregung beginnt. Das ist leicht verständlich, denn zur Erregung bedarf es auch einer gewissen Geschwindigkeit, mit der diese Änderung zustande kommt. Das relativ langsame Eindiffundieren des Narkoticums muß also durchaus nicht eine Erregung zur Folge haben. Später ist auch Winterstein (1916, 1918) zu ähnlichen Gedanken gekommen, denn er schreibt über das Erregungsstadium der Narkose auf S. 274 und 275 seines Buches: „Man könnte sich wohl vorstellen, daß ein leichter Grad von Permeabilitätsverminderung nur die schwer permeierenden Ionen betrifft und so durch weitere Verlangsamung ihres Durchtrittes eine mit Erregbarkeitssteigerung verbundene Erhöhung des Oberflächenpotentials bewirkt, während eine noch weitergehende Permeabilitätsverminderung schließlich auch den leicht permeierenden Ionen den Weg versperrt und so das Potential und die Erregbarkeit wieder abschwächt bzw. gänzlich beseitigt.“

Es scheint mir kaum möglich, aus den elektrophysiologischen Versuchen daraus zu folgern, ob es sich um eine Vermehrung oder um eine Verminderung der Permeabilität handelt<sup>25</sup>). Hierzu wird man anderwärtige Befunde verwerten müssen.

Die Anwendung einer physikalisch-chemischen Methode, nämlich die Prüfung der Polarisierbarkeit des Nerven, wie sie bereits vor langer Zeit ausgeführt wurde, bringt also, angenommen die Zahl der Ionen bleibe konstant, den Beweis, daß in der Narkose die Permeabilität von Membranen bzw. von Phasen im Nerven sich ändert. Bei Erregung scheinen dieselben Zustandsänderungen im Nerven vor sich zu gehen, so, daß der Erregungsvorgang und die Narkose bezüglich ihrer Permeabilitätswirkung gleiche Änderungen bedingen dürften. Die Narkose würde also deshalb die Erregung verhindern, weil sie bereits selbst dieselben Zustandsänderungen bewirkt wie jene.

---

#### Literatur.

- <sup>1</sup>) Die Narkose. Vieweg 1919. — <sup>2</sup>) S. Winterstein, S. 258—269. — <sup>3</sup>) Proc. Roy. Soc. **77**, 267; **78**, 159. 1906. — <sup>4</sup>) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 256. 1909; Münch. med. Wochenschr. 1577. 1909. — <sup>5</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 492. 1907. — <sup>6</sup>) Amer. Journ. of Physiol. 24—37. — <sup>7</sup>) Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **29**, 349. 1911. — <sup>8</sup>) Science **37**, 111. 1913. — <sup>9</sup>) Diese Zeitschr. **47**, 127. 1912. — <sup>10</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **161**, 5. 1915. — <sup>11</sup>) Diese Zeitschr. **90**, 153. 1918. — <sup>12</sup>) Amer. Journ. of Physiol. **38**. 1915. — <sup>13</sup>) Diese Zeitschr. **75**. 1916; **75** 48. 1916; Dtsch. med. Wochenschr. **14**. 1916. — <sup>14</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **132**, 304. 1913. — <sup>15</sup>) Elektrophysiologie S. 693—697. — <sup>16</sup>) Animal Electricity 1897, S. 101—123. — <sup>17</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **68**, 351—388. — <sup>18</sup>) l. c. — <sup>19</sup>) Winterstein hält allerdings bei der Kritik von Ousterhout (S. 265) Derartiges für möglich. — <sup>20</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **131** 589. 1910. — <sup>21</sup>) Arch. f. d. ges. Physiol. **143**, 252. 1911. — <sup>22</sup>) Ebenda **163**, 355. 1915. — <sup>23</sup>) Ebenda **164**, 102. 1916. — <sup>24</sup>) Physikal. Chemie der Zelle. 3. Aufl. S. 490—491. — <sup>25</sup>) Ebensovienig wie für die Aufhebung des Ruhestroms. S. Winterstein, S. 259.

# Über Veränderungen der Eitersekretion bei peroraler Kochsalzzufuhr.

Von  
H. Zuntz.

(Aus dem pharmakologischen Institut der hamburgischen Universität  
[Allg. Krankenhaus St. Georg].)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Wir werden im folgenden Untersuchungsbefunde mitteilen, die Aufschluß darüber geben, wie sich der Eiter und im Vergleich hiermit das Blutserum verhalten, wenn Kochsalz zugeführt oder aus der Nahrung entfernt wird. Diese Untersuchungen führten wir an Kranken mit eiternden Wunden aus.

Wir gingen so vor, daß wir ein Gummidrainrohr in die Wunde einlegten. Das Drainrohr wurde mit Hilfe eines gläsernen Ansatzstückes durch einen durchbohrten Korkstopfen mit einem gut graduierten, 10 ccm fassenden Glasröhrchen verbunden. Zum Ausgleich mit der umgebenden Luft wurde der Korkstopfen an einer Seite leicht eingekerbt. Das Glasröhrchen wurde mit Heftpflaster an der Haut befestigt und die Wunde im übrigen trocken steril verbunden. In den späteren Versuchen haben wir den gesamten während einer bestimmten Zeit secernierten Eiter festgestellt, indem wir den Stickstoff in der Verbandsgaze bestimmten und aus dem Eiter im Röhrchen und dem N in der Gaze die Gesamteitermenge in einfacher Weise berechneten.

Beispiel einer Berechnung:

Ges.-N. im Verband . . . . . 684 mg  
Ges.-N. im Eiter in 1 ccm des Röhrcheneiters . . . . . 16,8 mg  
Gleichung:  $1 : 16,8 = x : 684$  (wenn  $x$  die Eitermenge im Verband ist)  
 $684 : 16,8 = 40,8 = x$ .

Also fanden sich 40,8 ccm Eiter im Verband; zu dieser Summe wurde der Eiter des Röhrchens hinzuaddiert.

Die Gaze wurde, bevor sie zum Versuch benutzt wurde, mit kaltem, dann mit heißem destilliertem Wasser gewaschen und sterilisiert. Der im Verband befindliche Eiter wurde mit Kochsalzlösung, dann mit destilliertem Wasser im Schüttelapparat ausgezogen, bis sämtliche Substanz entfernt und der Auszug klar war. Er wurde dann auf 2 Liter aufgefüllt. Im Auszug wurde der N nach Kjeldahl bestimmt. Probeversuche mit einer abgemessenen Menge Eiter von bekanntem N-Gehalt, der derartig vorbereiteter Gaze zugesetzt wurde, ergaben die ausreichende Genauigkeit der Methode. Wir konnten nicht jede beliebige Wunde zu den Versuchen benutzen, sondern die Wunden mußten von einer bestimmten Beschaffenheit sein. Erstens durften die Wunden nicht ganz oberflächlich liegen, sondern sie mußten in die Tiefe gehen, damit wir ein Drainrohr einlegen konnten. Außerdem durfte die eiternde Wundöffnung nicht sehr weit sein, da sonst ein zu geringer Prozentsatz des Eiters in das Röhrchen abgeflossen wäre. Andererseits durfte die Sekretion aus den Wunden nicht zu geringfügig sein, da wir ja eine gewisse Menge von mindestens einigen Kubikzentimetern zu den chemischen Untersuchungen nötig hatten. Daher konnten wir leider auch keine tuberkulösen Fisteleiterungen untersuchen, obwohl sie sich wegen ihres chronischen und gleichmäßigen Verlaufes sicherlich an und für sich sehr gut geeignet hätten. Wir hatten aber keine einzige tuberkulöse Fistel mit quantitativ ausreichender Sekretion zur Verfügung. In der Regel ließen wir die Glasröhrchen 24 Stunden liegen, bei reichlicher Eitersekretion manchmal kürzere Zeit. Die Blutentnahmen zur Blutuntersuchung nahmen wir meistens gleichzeitig mit der Auswechslung des Eiterröhrchens vor. Der Urin wurde stets während der Versuche gesammelt und auf seinen Kochsalzgehalt geprüft. Diese Kochsalzuntersuchungen konnten uns dann ausreichend darüber unterrichten, ob die gewünschte Kochsalzmenge sich wirklich im Stoffwechsel befand. Kochsalzzulagen wurden stets prompt ausgeschieden, wie es bei gesunden Nieren erwartet werden muß. Wir bestimmten den Kochsalzgehalt des Urins nach Volhard, den des Blutserums mittels der Bangschen Mikromethode. Der Eiweißgehalt wurde im Blut- und Eiterserum refraktrometrisch, der Rest-N nach der Bangschen Mikromethode gefunden. Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgte nach Autenrieth stets mit demselben



Keil. Es sei noch erwähnt, daß die Kranken die gewöhnliche Ernährung oder die übliche Kochsalzarme Kost bekamen. Die Kranken durften, auch nach Kochsalzzulage, beliebig viel trinken.

Die ersten vier Fälle, bei denen die gesamten Eitermengen noch nicht bestimmt wurden, waren zwei postoperative Bauchdeckenabscesse, eine inzidierte Parulis und ein inzidiertes Bubo axillaris. Abb. 1 zeigt das

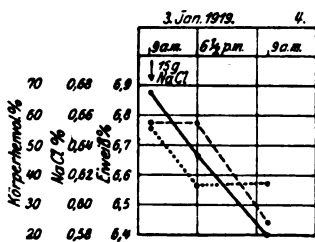


Abb. 1.

Verhalten des Eiters in einem Falle von Bauchdeckeneiterung. Man erkennt, daß nach Kochsalzzulage (15 g) ein starkes Absinken des Eiterkörperchenvolumens eintritt, und zwar ist das Körperchenvolumen in dem Eiter, der in den ersten 9 1/2 Stunden sich in dem Röhrchen sammelte, von 68% auf 47%, in den nächsten 14 1/2 Stunden auf 20% abgesunken. Die prozentuale Eiweißmenge bleibt in der ersten Hälfte des Versuches konstant, um

dann abzusinken, die prozentuale Kochsalzmenge fällt anfangs ab, um dann konstant zu bleiben. Nach 24 Stunden ist der Eiter also viel dünnflüssiger geworden und das Eiterserum enthält prozentual viel weniger Eiweiß und Kochsalz. Die bei Abnahme des Eiterröhrchens vorgenommenen Blutentnahmen ergaben folgende prozentuale Eiweißwerte: 8,17%; 7,1%; 7,85%. Die entsprechenden Eiterwerte waren: 6,77%; 6,77%; 6,44%. Stets war also der Eiweißgehalt des Blutes höher als der des Eiters. Der prozentuale Kochsalzgehalt war dagegen im Blute niedriger als im Eiter und schwankte nur wenig: 0,596%; 0,591%; 0,600%. Die entsprechenden Werte im Eiter waren: 0,650%; 0,615%; 0,617%. Die Hämoglobinwerte des Blutes wurden bei den ersten Versuchen nicht bestimmt.

Abb. 2 (Fall von Bubo axillaris) zeigt uns einen länger durchgeführten

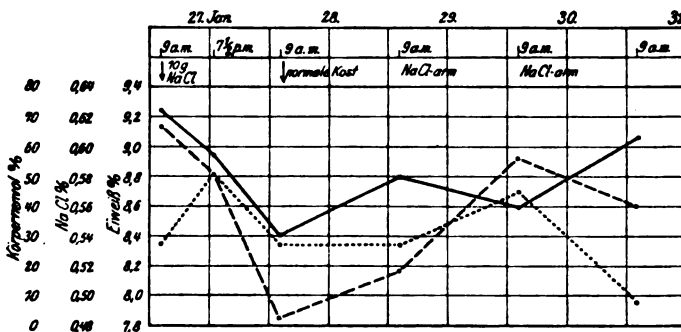


Abb. 2. Name: Lindhorst; Diagnose: Bubo axillaris.

Körperchenvol.: ————— NaCl%: ..... Eiweiß%: - - - -

Versuch. Bei dem elfjährigen Kinde wurden nach der ersten Abnahme des Eiterröhrchens 10 g Kochsalz gegeben. Wir sehen hier wieder das starke Absinken des Körperchenvolumens nach der Kochsalzzulage. Bei nor-

maler Kost ohne Kochsalzzulage steigt es in den nächsten 24 Stunden wieder mäßig an. An den beiden folgenden Tagen erhielt das Kind kochsalzarme Kost. Am ersten dieser Tage schied es noch 5,61 g, am zweiten nur 2,93 g Kochsalz mit dem Urin aus. Das Körperchenvolumen des Eiters ging, wie aus der Kurve ersichtlich ist, zuerst wieder etwas herunter, dann aber stark in die Höhe. In der Kurve des prozentualen Eiweiß- und Kochsalzgehaltes läßt sich in diesem Falle kein Parallelismus weder untereinander noch mit der Kurve des Körperchenvolumens nachweisen. Zwei Blutuntersuchungen zeigten etwas höhere prozentuale Kochsalzwerte als im Eiter (0,557 und 0,567% gegen 0,536% und 0,533%), die Eiweißwerte waren bei der ersten Untersuchung niedriger, bei der zweiten etwas höher als im Eiterserum (8,81% und 8,28% gegen 9,13% und 7,85%). Klinisch handelte es sich um einen incidierten *Bubo axillaris*, der z. Zt. des Versuches noch keine Heilungstendenz zeigte, sondern später nochmals ausgekratzt werden mußte. Zwecks Raumersparnis sei von den beiden anderen Fällen keine Kurve gebracht. Auch bei diesen beiden Untersuchungen fand sich das Herabgehen des Körperchenvolumens nach Kochsalzzufuhr. In einem Falle (Bauchdeckeneiterung) sank das Körperchenvolumen in 2×24 Stunden — eine Eiterportion war verschüttet worden — von 58% auf 47%. Bei Fortlassen des Kochsalzes trat wieder langsame Eindickung des Eiters ein bis 62% Körperchenvolumen. In dem anderen Fall (*Parulis*) zeigte sich nach Kochsalzgabe in 24 Stunden ein rapider Sturz des Körperchenvolumens von 74,1% auf 31,7%. Aus äußeren Gründen konnte dieser Fall nicht weiter untersucht werden. Hier ging auch die Eiweiß- und Kochsalzkonzentration im Eiter stark herunter (von 4,26% auf 3,94% (Eiweiß) und von 0,624% auf 0,474% (NaCl)). In dem ersten Fall fand sich ein anderes Verhalten, nämlich ein deutliches Gegenspiel des prozentualen Kochsalzgehaltes gegenüber der Flüssigkeitsmenge. Während des Abfallens des Körperchenvolumens stieg der Kochsalzgehalt an, um beim späteren Anstieg desselben abzusinken. Der Kochsalzgehalt des Blutes war hier stets niedriger als der im Eiter, der Eiweißgehalt teils gleich hoch, teils höher. Die beiden letzt-erwähnten Fälle heilten bald nach dem Versuche völlig aus.

Die nächsten vier Fälle bringen, wie schon erwähnt, eine verbesserte Untersuchung, indem die Gesamteitermenge bestimmt wurde. Von zweien dieser Fälle bringen wir wieder Kurven, die die für diese Mitteilungen wesentlichen Befunde veranschaulichen. Abb. 3 (S. 110) stammt von einer Frau mit schwerem Nackenkarbunkel. Zu Beginn der Untersuchung war der Eiter dickflüssig, das Eiterkörperchenvolumen betrug 76%. Wir gaben 20 g Kochsalz mit dem Erfolg, daß am nächsten Morgen das Körperchenvolumen nur noch 39% betrug. Eine abermalige Kochsalzgabe behielt die Kranke nicht bei sich, sondern erbrach nach knapp 2 Stunden einen großen Teil des Salzes. (Die Kochsalzausscheidung im Urin betrug an diesem Tage 14,6 g, am Tag vorher 17,6 g.) Der Eiter dickte sich an diesem Tage wieder etwas ein, so daß das Körperchenvolumen 24 Stunden nach dieser ausgebrochenen Kochsalzgabe 47% betrug. Am darauffolgenden Tage stieg es bei kochsalzärmer Kost auf 50%. Hier zeigte sich nun deutlich, daß es sich bei Abnahme des Körperchenvolumens nach Kochsalzzulage nicht

um eine geringere Eiterkörperchensekretion, sondern um eine Verdünnung des Eiters handelt. Die Gesamteitermenge, die aus dem N-Gehalte im Verband berechnet wurde, stieg am ersten Tage, als die große Kochsalzmenge in das Blut übertrat, von 42,5 ccm auf 109,3 ccm, während die absolute Menge von Eiterkörperchen sogar auch anstieg, aber in sehr viel geringerem

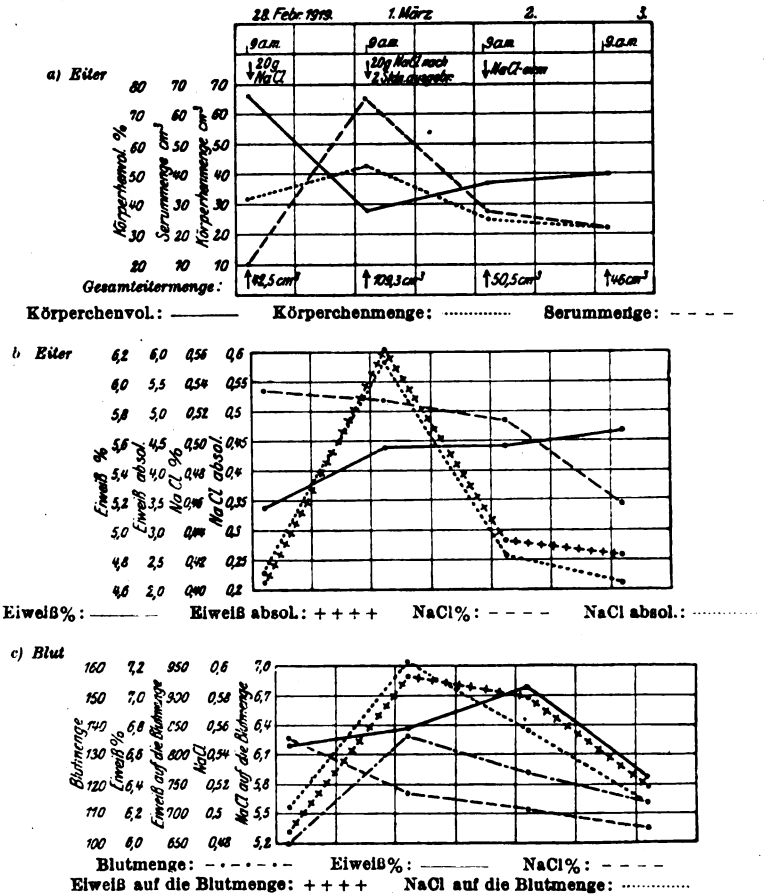


Abb. 3. Name Giffey; Diagnose Nackenkarbunkel.

Grade, nämlich von 32,5 ccm auf 42,5 ccm. Am folgenden Tage ging die Sekretion von Eiterkörperchen zurück, nämlich auf 24,1 ccm, die Serummenge nahm nicht nur entsprechend, sondern noch stärker ab sie betrug noch 26,4 ccm. Es wurde schon erwähnt, daß das Kochsalz an diesem Tage wieder ausgebrochen wurde und wenn auch noch eine große Kochsalzmenge im Urin zur Ausscheidung kam, so handelte es sich wohl größtenteils um Kochsalz, das vom vorhergehenden Tage noch retiniert und in den ersten Stunden oder mindestens in der ersten Hälfte dieses Versuchstages ausge-

schieden wurde. Das geht daraus hervor, daß die Kochsalzmenge im Gesamtblut, aus dem Hb.-Gehalte des Blutes berechnet (s. Abb. 3 c), die 24 Stunden nach der ersten Kochsalzgabe sehr erheblich angestiegen war, am nächsten Morgen wieder viel geringer war. Während der Eindickung des Eiters war also auch hier der Kochsalzgehalt des Blutes schon wieder niedriger geworden. Dabei ist bemerkenswert, daß die prozentuale Kochsalzmenge im Eiterserum (s. Abb. 3 b) ständig von Anfang an herunter ging (bei der ersten Eiterentnahme 0,533%, dann 0,529%; 0,515%; 0,458%). Ebenso ging die Kochsalzmenge prozentual im Blute herunter als Zeichen dafür, daß die Kranke, die nach Kochsalzzufuhr starken Durst hatte und viel Flüssigkeit zu sich nahm, ihr Blut mehr verdünnte, als dem zugeführten Kochsalz entsprach. (Kochsalz im Blut: 0,551%; 0,514%; 0,504%; 0,491%; siehe Abb. 3). Die Eiweißmenge im Blut ging prozentual in den Tagen der Kochsalzzulage dauernd etwas in die Höhe (6,66%; 6,77%; 7,06%), während die absoluten Mengen im Prinzip dieselben Veränderungen zeigten, wie die des Kochsalzes. 24 Stunden nach der ersten Kochsalzgabe fand sich eine ausgesprochene Hydrämie, gekennzeichnet durch das Absinken des Hb. von 61% auf 44%. Wie schon erwähnt, schlossen wir aus dem Hb.-Gehalte auf die Blutmenge, was zu größeren Fehlern kaum Veranlassung geben kann, da wir uns nicht vorstellen können, daß die absolute Menge von roten Blutkörperchen, wenn keine pathologische Hämolyse vorliegt, in kurzer Zeit sich wesentlich verändern kann. In ähnlicher Weise wurde der Hb.-Gehalt auch von anderen Autoren (z. B. Magnus) benutzt.

Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß häufig aus einer prozentualen Eiweiß- bzw. -abnahme auf höheren oder geringeren Flüssigkeitsgehalt des Blutes geschlossen wird (vgl. besonders die zusammenfassende Arbeit von Reis<sup>1)</sup> über Refraktometrie des Blutserums). Auch Veil<sup>2)</sup> schließt in einer kürzlich erschienenen Arbeit über intermediäre Veränderungen im Chlorstoffwechsel aus den prozentualen Eiweißwerten auf die Menge der Blutflüssigkeit. Unsere Befunde in diesem Falle, wo, wie erwähnt, während der Abnahme des Hb.-Gehaltes nicht nur keine Abnahme sondern sogar eine geringe Zunahme des prozentualen Eiweißgehaltes erfolgte, zwingen uns dazu, anzunehmen, daß Eiweißkonzentration und Flüssigkeitsmenge des Blutserums nicht in allen Fällen parallel gehen. Es sei noch darauf hingewiesen, daß das Blut stets in gleicher Weise aus der kurz gestauten Cubitalvene zur selben Zeit nach dem Frühstück entnommen wurde, so daß die Blutwerte ohne Einschränkung miteinander verglichen werden können. In diesem Falle war anfänglich die Eiweißkonzentration niedrig, wohl schon pathologisch niedrig (6,66%), aber auch in den folgenden Fällen mit völlig normaler Eiweißkonzentration findet sich teilweise dieses Fehlen der Abnahme der Eiweißkonzentration beim Heruntergehen des Hb.-Gehaltes (s. Abb. 4 [S. 112], wo wir folgende Zahlen fanden: Hb. 80%; 70,4%; 64% bei Eiweißwerten von 8,17%; 8,07%; 8,17%). Wir können also nur annehmen, daß die zum Blut hinzutretende Flüssigkeit eiweißhaltig, in dem Falle Abb. 3 sogar eiweißreicher war als das Blutserum der vorhergehenden Untersuchung. Vielleicht werden systematische Untersuchungen, die Körpergewicht, Refraktometrie und Hb.-Gehalt berücksichtigen, eine Aufklärung darüber

bringen, unter welchen Bedingungen das die Regel bildende Herabgehen des Eiweißgehaltes bei Blutverdünnung ausbleibt.

Dieser Fall verlief klinisch ungünstig. Am letzten Versuchstage bestand Fieber, es kam zu einer Sepsis mit maligner Endocarditis, die zum Tode führte.

Die letzte Tabelle (4) stammt von einem Fall von inzidierter Mastitis, die auf dem Boden einer Scabies entstanden war. Das Körperchenvolumen

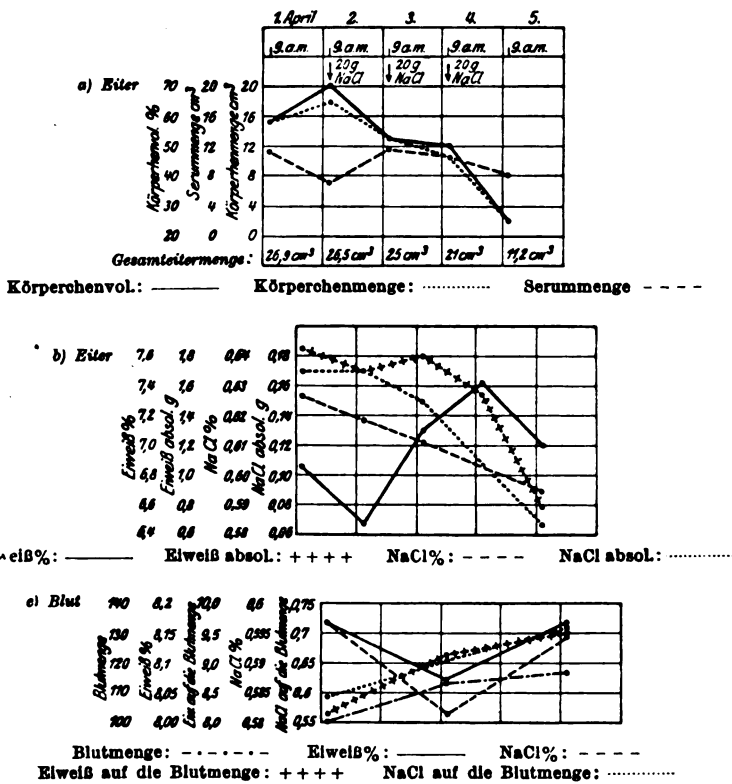


Abb. 4. Name: Dämel; Diagnose Mastitis.

ging wie in allen früheren Fällen nach Kochsalzzufuhr herunter, und zwar von 71% auf 53%, und bei weiterer Kochsalzzulage an den nächsten Tagen auf 50% und 25%. Hier handelte es sich von Anfang an auch um ein Geringerwerden der gesamten Eitermenge. Während am Tage nach der ersten Kochsalzgabe die Serummenge noch anstieg, die Eiterkörperchenmenge kleiner wurde, gingen am Schluß des Versuches sämtliche absolute Zahlen im Eiter rapide herunter. Es handelte sich hierbei um den Heilungsvorgang, kurze Zeit nach Beendigung des Versuchs hörte die Eitersekretion vollständig auf, die Wunde schloß sich. Auch in diesem Falle kam es wieder zu einer ausgesprochenen Hydrämie, die am letzten Versuchstage am

deutlichsten war. (Hb. zu Beginn 80%, am Ende des Versuches 64%). Die auf die Blutmenge berechneten Eiweiß- und Kochsalzwerte des Blutes nahmen deutlich zu. Dabei nahm der Kochsalzgehalt prozentual im Blut anfangs wieder deutlich ab und ähnlich verhielt sich der prozentuale Bluteiweißgehalt. Auch die beiden anderen Fälle ließen die Eiterverdünnung nach Kochsalzzulage wieder deutlich erkennen. Bei dem einen derselben, einer Bauchdeckeneiterung, handelte es sich wieder um einen ausheilenden Fall. Zwei Tage nach Abschluß des Versuchs war die Eitersekretion schon völlig versiegt. Dementsprechend nahm während des Versuches die absolute Menge der Eiterkörperchen langsam ab. Sie betrug bei der ersten Untersuchung 22,6 ccm; bei der zweiten 18,6 ccm; bei der dritten 16,5 ccm. Die zweite und dritte Untersuchung standen unter dem Einfluß von je 15 g peroraler NaCl-Gabe. Die prozentualen Werte der Eiterkörperchen — das Eiterkörperchenvolumen — betrug bei den drei Untersuchungen 76%, 59%, 63%. Die absolute Serummenge stieg also trotz der Heilungstendenz der Wunde. Sie betrug am ersten Tage 7,2 ccm; am zweiten 13,0 ccm und am dritten noch immer mehr als am ersten, nämlich 9,8 ccm. Bei einer Fisteleiterung bei chronischer Osteomyelitis bildete sich auch wieder eine ausgesprochene Hydrämie aus, während die Blutverhältnisse des anderen Falles (Bauchdeckeneiterung) sich leider nicht beurteilen ließen, da ein Hb.-Wert verlorengegangen ist. Bei der Osteomyelitis sank der Hb.-Gehalt nach zweimaliger Kochsalzzufuhr von je 10 g von 61% auf 51,5% in 48 Stunden. Auch hier wieder fiel der prozentuale Eiweißgehalt des Bluteserums nicht, sondern stieg ein wenig von 7,85% auf 7,95%.

Folgendes können wir also als Ergebnis unserer Untersuchungen festhalten. Die im Eiterserum prozentual sich findenden Kochsalz- und Eiweißmengen zeigen zwar größere Schwankungen als die des Bluteserums, doch finden sich niemals Werte, die wesentlich von dem abweichen, was hie und da auch im normalen Blut gefunden wird. Die folgenden Zahlen veranschaulichen dies.

**Niedrigste prozentuale Eiweißmenge.**

a) im Blut: 6,44% (Fall Giffey); b) im Eiter 5,14% (Fall G.).

**Höchste prozentuale Eiweißmenge:**

a) im Blut: 8,81% (Fall Lindhorst); b) im Eiter 9,13% (Fall Lindhorst).

**Niedrigste prozentuale Kochsalzmenge:**

a) im Blut 0,491% (Fall Giffey); b) im Eiter 0,415% (Fall Thiel).

**Höchste prozentuale Kochsalzmenge:**

a) im Blut 0,60% (Fall Ramm); b) im Eiter 0,68% (Fall Thiel).

Bei ein und demselben Fall betragen die niedrigsten und höchsten Eiweißwerte:

a) im Blut 6,77% und 8,07% (Differenz von 1,3%, Fall Beck); b) im Eiter 6,12% und 8,17% (Differenz von 2,05%, Fall Thiel).

Die entsprechenden Kochsalzwerte lauten:

a) im Blut 0,491% und 0,551% (Differenz 0,06%, Fall Giffey); b) im Eiter 0,522% und 0,687% (Differenz 0,165%, Fall Thiel).

Die Zufuhr bzw. die Entziehung von Kochsalz ergab als augenfälligstes, völlig konstantes Zeichen ein Heruntergehen des Körperchenvolumens als Folge einer Eiterverdünnung bei Zufuhr von Kochsalz und eine Eindickung des Eiters, die aber mehrmals nicht bis zur anfänglichen Konzentration führte, bei Entziehung des Kochsalzüberschusses bzw. Einschränkung des Kochsalzes in der Nahrung. Seit den Untersuchungen von Cohnstein<sup>3)</sup> wissen wir, daß der Körper auf intravenöse Kochsalzzufuhr mit einer Blutverdünnung antwortet. Neuere Untersuchungen [Veil<sup>2)</sup>] ergaben, daß bei kochsalzarmer Ernährung das Blut wasserärmer ist, als bei kochsalzreicher. Auch in unseren daraufhin untersuchten Fällen konnten wir, wie erwähnt, diese Hydrämie 24 Stunden nach der Kochsalzgabe aufs deutlichste nachweisen. Veil gab an, daß bei kochsalzarmer Ernährung der prozentuale Kochsalzgehalt des Blutserums niedriger liege, als bei kochsalzreicher Kost. In einigen Fällen sahen auch wir nach der Kochsalzzulage ein mäßiges Ansteigen des prozentualen Kochsalzgehaltes im Blut, doch fanden wir in anderen Fällen, wie es besonders bei Fall Giffey, Abb. 3, schon besprochen ist, daß 24 Stunden nach der Kochsalzzufuhr der NaCl-Gehalt im stark hydrämischen Blute niedriger war, als vor der Kochsalzzulage. Als konstanter Befund ist aber festzuhalten, daß bei Eiterungen an ganz verschiedenen Körpergegenden bei Hydrämie auch im Eiterserum eine an Intensität wechselnde, aber stets deutliche Flüssigkeitsanreicherung auftritt.

Bei intravenöser Kochsalzzufuhr tritt die Blutverdünnung sogleich ein [Cohnstein<sup>3)</sup>]. Wann die Verdünnung des Eiters eintritt, können wir nicht angeben, da wir keine Wunden mit so erheblicher Sekretion untersuchen konnten, um schon kurze Zeit nach der Kochsalzzufuhr genügend Eiter zur Verfügung zu haben. Doch ist aus den Versuchen (Abb. 1 und 2) deutlich zu ersehen, daß  $9\frac{1}{2}$  bzw.  $10\frac{1}{2}$  Stunden nach der Kochsalzgabe der Eiter schon erheblich verdünnt ist. Die Verdünnung nahm aber in dem Eiter, der in den nächsten  $14\frac{1}{2}$  bzw.  $13\frac{1}{2}$  Stunden sezerniert wurde, noch weiter zu. Alsdann begann der Eiter sich wieder einzudicken. Bei gesunden Nieren ist ja der größte Teil einer

peroralen Kochsalzzulage von 10—20 g nach 24 Stunden wieder ausgeschwemmt.

Wir können also sagen, daß das Kochsalz ebenso wie als Lymphagogen so auch als „Pyagogen“ wirkt. Wie weit wir im übrigen das Eiterserum der Lymphe gleichsetzen dürfen, wissen wir noch nicht. Die Eiterkörperchen jedenfalls wandern, wie wir seit Cohnheim<sup>4)</sup> wissen, aus den Gefäßen aus, um den Eiter zu bilden. Des weiteren bilden sich dann Eiterkörperchen durch Teilung der ausgewanderten und Umbildung von festen Gewebszellen [Klemensiewicz<sup>5)</sup>]. Unbekannt ist aber im einzelnen, wie sich das Eiterserum bildet. Unsicher ist ja auch heute immer noch die Frage der Lymphbildung (Theorien von Ludwig, Heidenhain, Asher), völlig unsicher ist es auch beim Eiterserum, ob wir für dessen Bildung die physikalische Lymphbildungstheorie Ludwigs, die sekretorische Heidenhains oder die cellular-physiologische Ashers zugrunde legen sollen. Die prompte Wasserzunahme des Eiterserums bei Hydrämie scheint für physikalische Einflüsse, das wechselnde Verhalten des Eiweiß- und Kochsalzgehaltes für sekretorische Vorgänge zu sprechen. Doch reichen selbstverständlich die bisherigen Untersuchungen zur Entscheidung dieser Fragen keineswegs aus. Besonders muß ja bedacht werden, daß es sich bei den Blutuntersuchungen um Stichproben in einem bestimmten Augenblick handelt, während der Eiter stets aus der Absonderung längerer Perioden stammt. Sicherlich darf man auch annehmen, daß der Bakteriengehalt und der wohl größtenteils hierdurch bedingte cytologische Befund des Eiters mancherlei Einfluß auf den Chemismus des Eiters haben. Wir untersuchten besonders in den letzten Versuchen auch bakteriologisch und cytologisch, doch reichen die Befunde nicht aus, um Gesetzmäßigkeiten daraus abzuleiten. Wir möchten nur kurz erwähnen, daß die Wunden stets durch verschiedene Keimarten infiziert waren, die in sehr wechselnder Zahl auftraten. Cytologisch handelte es sich stets um Eiter mit überwiegend polymorphkernigen Leukocyten, von denen manchmal nur einzelne manchmal die große Mehrzahl kaum noch erkennbare Kerne aufwies. Weitere Untersuchungen werden also nötig sein, um etwaige Zusammenhänge zwischen Chemismus einerseits und bakteriologisch-cytologischem Befund andererseits aufzuklären.



### Zusammenfassung.

Bei eitrigen Prozessen wurde nach Kochsalzzufuhr eine Vermehrung der Menge des abgesonderten Eiters gefunden. Die Vermehrung beruhte im wesentlichen auf einer Vermehrung des Eiterserums. Das Körperchenvolumen nahm dementsprechend ab. Kochsalz wirkt also als Pyagogen.

---

### Literatur.

<sup>1)</sup> Reiss, Die refraktometrische Blutuntersuchung und ihre Ergebnisse für die Physiologie und Pathologie des Menschen. *Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk.* 10. — <sup>2)</sup> Veil, *Diese Zeitschr.* 91. — <sup>3)</sup> Cohnstein, Über die Einwirkung intravenöser Kochsalzinfusionen auf die Zusammensetzung von Blut und Lymphe. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 59. — <sup>4)</sup> Cohnheim, Vorlesungen über allg. Pathologie. — <sup>5)</sup> Klemensiewicz, Entzündung und Eiterung. Jena 1893.

---

# **Kohlensäuredruck oder Eiweißquellung als Ursache der Muskelkontraktion?**

Von  
**Leonhard Wacker.**

(Aus dem pathologischen Institut der Universität München.)

*(Eingegangen am 14. April 1920.)*

Maschinen, bei denen als Kraftquelle ein unter Druck stehendes Gas dient, sind die Dampfmaschinen und die Gas- bzw. Benzin- oder Dieselmotore. Von den Dampfmaschinen, denen das Gas, d. i. gespannter Wasserdampf, bereits mit dem erforderlichen Betriebsdruck zugeführt wird, unterscheiden sich die genannten Motore wesentlich, da bei ihnen der für die Arbeitsleistung notwendige Druck des Gases erst im Maschinenkörper selbst, also unmittelbar an der eigentlichen Wirkungsstelle erzeugt wird, und zwar durch explosionsartige Verbrennung. Der Arbeitsvorgang beruht darauf, daß die eintretende, außerordentliche Gasvermehrung in einem abgeschlossenen, entsprechend klein bemessenen Raum stattfindet und sich daher als starke Drucksteigerung äußern muß. Zu einem Vergleich mit dieser Krafterzeugung regen gewisse biochemische Vorgänge an, von denen es außer Zweifel steht, daß Kohlensäure auch bei ihnen unter Druck frei wird, wenn sie sich in geschlossener Apparatur vollziehen. Es sind dies die Gärungsvorgänge. Bei der Weinbereitung ist es ein alter Erfahrungssatz, daß für den Most nur offene Gärbottiche verwendet werden dürfen, weil bei geschlossenen Behältern sich der Kohlensäuredruck so erheblich steigern kann, daß selbst in Eisenreifen gehaltene Gebinde gesprengt werden.

Es liegt daher nahe, eine ähnliche Bedeutung der bei der Muskelarbeit auftretenden Kohlensäure anzunehmen, mit der Einschränkung, daß die Kohlensäureproduktion im Organismus genau reguliert ist. Darauf weist auch die Tatsache hin, daß

der Gasaustausch durch die Lungen bei der Arbeit eine sehr starke Zunahme erfährt. So werden die Sauerstoffaufnahme und die Kohlensäureabgabe des Menschen bei Steigarbeit bis zum Siebenfachen des Ruhewertes erhöht<sup>1)</sup>, d. h. es werden in der Minute bis zu 1300 ccm Kohlensäure mehr abgegeben als in der Ruhe. Berücksichtigt man, daß diese Kohlensäure sehr wahrscheinlich fast ausschließlich im contractilen Teil der beteiligten Muskeln, also in einem verhältnismäßig kleinen Raum erzeugt wird, so ist diese Menge gewiß als sehr ins Gewicht fallend anzusprechen. Als weitere Folgerung drängt sich aber der Schluß auf, daß diese Kohlensäure unter Druck gebildet wird. Beim Studium der Atmungsvorgänge im Muskel<sup>2)</sup> selbst, gelangt man zu der Überzeugung, daß die Annahme eines Gasdruckes an den Bildungsstätten gerechtfertigt ist. Auch ist nur auf diese Weise ein Abströmen der Kohlensäure aus dem Muskel in das Blut erklärlich. Die chemischen Vorgänge hierbei sind folgende:

Die durch Abbau der Kohlenhydrate, hauptsächlich des Glykogens, entstandene Milchsäure wird im statu nascendi von den im Muskel vorhandenen alkalischen Salzen unter Bildung Kaliumlactat neutralisiert und liefert bei der Oxydation Kaliumbicarbonat. Dieses Bicarbonat befindet sich, da die Verbrennungsvorgänge sich in den Zellen vollziehen, innerhalb der Muskelfasern und zwar an der Bildungsstelle der Milchsäure. Die bei der Muskelaktion neu entstehende Milchsäure trifft also sofort mit Bicarbonat zusammen, wodurch Kohlensäure in Freiheit gesetzt wird. Bei Verlegung dieses Prozesses in die als contractile Substanz geltenden Muskelfibrillen unter Annahme einer Bläschenstruktur im Sinne Mc. Dougalls, muß notwendigerweise innerhalb dieser Bläschen (Muskelemente) eine Drucksteigerung angenommen werden, die durch die gleichzeitige Zunahme des osmotischen Druckes infolge des Zerfalles hochmolekularer Kohlenhydratverbindungen noch erhöht wird.

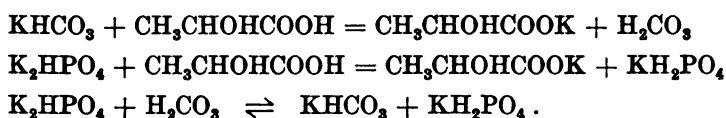
Die vorstehend im Prinzip geschilderte Kohlensäuredruck-

<sup>1)</sup> Vgl. A. Loewy, Handb. d. Biochemie d. Menschen u. d. Tiere 4, 248. 1911; Landois Lehrbuch der Physiologie des Menschen, 14. Aufl. 1916, II, S. 495.

<sup>2)</sup> L. Wacker, Ein chemischer Kreisprozeß im arbeitenden Muskel und seine Beziehungen zur Gewebsatmung. Arch. f. d. ges. Physiol. 174, 426. 1919.

theorie<sup>1)</sup> unterscheidet sich von den früheren Kontraktionslehren dadurch, daß sie dem Abbau der Milchsäure bis zur Kohlensäure Rechnung trägt, unter Berücksichtigung des Chemismus dieses Vorganges. In der Milchsäure sind noch 96%<sub>0</sub> des Energievorrates des Glykogens<sup>2)</sup> vorhanden und schon aus diesem Grunde kann m. E. deren Schicksal bei der Aufstellung der Lehre über die Muskelkontraktion nicht vernachlässigt werden.

Die Literaturangaben, daß die saure Reaktion des ermüdeten oder absterbenden (totenstarrten) Muskels auf die Anwesenheit von freier Milchsäure zurückzuführen sei, sind nicht stichhaltig. Die Reaktion des Muskels ist vielmehr in allen Stadien amphoter, doch überwiegt im ermüdeten Zustand das Monokaliumphosphat gegenüber dem Dikaliumphosphat. Der Vorgang erklärt sich durch die direkte oder indirekte Einwirkung der Milchsäure bzw. Kohlensäure auf das im ruhenden Muskel reichlich vorhandene Dikaliumphosphat, wie aus den folgenden chemischen Gleichungen ersichtlich ist:



Die irrtümliche Annahme des Vorhandenseins von freier Milchsäure im Muskel scheint auf die bei der Isolierung derselben aus Muskelextrakt zur Enteiweißung verwendeten Chemikalien (z. B. Sublimat und Salzsäure)<sup>3)</sup> zurückzuführen sein. Durch die Anwendung von Salzsäure wurde das vorhandene Kaliumlactat in Milchsäure und Chlorkalium zerlegt und dadurch der Anschein erweckt, als ob freie Milchsäure zugegen gewesen wäre. Dieser folgenschwere Irrtum ist in die ganze Muskelliteratur und in die Lehrbücher übergegangen, und höchstwahrscheinlich wäre eine sehr große Anzahl von arbeitsreichen Untersuchungen mit weitgehenden Schlußfolgerungen unterblieben, wenn man sich der Tatsache bewußt gewesen wäre, daß der Organismus bestrebt ist,

<sup>1)</sup> L. Wacker, Chemodynamische oder Kohlensäuretheorie der Muskelkontraktion. Arch. f. d. ges. Physiol. 168, 147. 1917; Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 7.

<sup>2)</sup> L. Wacker, Zur Kenntnis der Totenstarre und der physiologischen Vorgänge im Muskel. Münch. med. Wochenschr. 1915, Nr. 26 u. 27.

<sup>3)</sup> Vgl. Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden Bd. V/2, S. 1258. 1912.

den neutralen Zustand der Gewebe zu erhalten<sup>1)</sup>. Man kann sogar noch weiter gehen und behaupten, daß durch dieses Mißverständnis die ganze Muskelforschung auf ein falsches Geleise geschoben worden ist.

Nach der Oberflächenspannungstheorie der Muskelkontraktion<sup>2)</sup> soll die freie Milchsäure zu einer Zustandsänderung der Oberfläche kleinster Teilchen führen, welche die Ursache der Muskelaktion bilden, während nach der Eiweißquellungstheorie<sup>3)</sup> die Fibrillen gleichfalls durch Milchsäure in einen Quellungszustand versetzt werden, wodurch letzten Endes die Kontraktion eingeleitet werden soll. Besonders diese Theorie hat wegen ihrer Berührungspunkte mit der Kolloidchemie eine eingehende Bearbeitung gefunden. Wenn auch die Bedeutung dieses neuen Gebietes für das organische Leben nicht unterschätzt werden soll, so werden die Vertreter dieser Richtung doch die Ergebnisse anders gerichteter Forschung in wohlwollende Erwägung ziehen müssen, wenn man nicht früher oder später wieder auf dem Standpunkt des „Ignoramus“ angelangen will. Von diesen Gesichtspunkten aus habe ich es mit Rücksicht auf die Einwände Paulis und v. Fürths (a. a. O.) gegen die osmotische Theorie Mc. Dougalls und Zuntz', sowie gegen die von mir aufgestellte Kohlensäuretheorie unternommen:

**I. Die Eiweißquellung durch Säure als Unterlage für eine Lehre der Muskelkontraktion kritisch zu prüfen, und habe die wichtigsten Argumente hiergegen in den folgenden Leitsätzen zusammengefaßt:**

1. Die Säure-Eiweißquellungstheorie berücksichtigt weder das Schicksal der bei der Muskelarbeit gebildeten Milchsäure, noch den Zweck anderer im Muskel anwesender Chemikalien.

<sup>1)</sup> J. Henderson, Das Gleichgewicht zwischen Säuren und Basen im tierischen Organismus. Erg. d. Physiol. 8. Jahrg. S. 257. 1909.

<sup>2)</sup> J. Bernstein, Experimentelles und Kritisches zur Theorie der Muskelkontraktion. Arch. f. d. ges. Physiol. 162, 52. 1915; Die Energie des Muskels als Oberflächenenergie. Jbid. 85, 271. 1901.

<sup>3)</sup> W. Pauli, Kolloidchemie der Muskelkontraktion. Leipzig 1912, Steinkopf. O. v. Fürth, Die Kolloidchemie des Muskels und ihre Beziehungen zu den Problemen der Kontraktion und der Starre. Ergebn. d. Physiol. 17, Jahrg. S. 263. Siehe dort weitere Literatur. W. H. Strietmann und M. H. Fischer, Über die Contractilität von Catgut und die Theorie der Muskelcontractilität. Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide 10, 65. 1912.

2. Eine Quellung des Eiweißes ist ausgeschlossen, weil die hierzu erforderliche Milchsäure im Augenblick des Entstehens neutralisiert wird.

3. Die Erklärung der Restitution (Erschlaffung) bietet nach der Quellungstheorie Schwierigkeiten.

4. Die anoxybiotische Muskelarbeit ist bei Annahme der oxydativen Beseitigung der Milchsäure unmöglich.

5. Die zur Erholung des ermüdeten Muskels führende Regeneration der Alkaleszenz ist nicht erklärlich.

6. Die Ausnützung der dem Muskel zur Verfügung stehenden Energie ist nach der Quellungstheorie nicht ersichtlich.

7. Quellungs- und Entquellungsvorgänge vollziehen sich viel zu langsam, um für eine Kontraktionstheorie in Frage zu kommen.

1. Die Säure-Eiweißquellungstheorie berücksichtigt weder das Schicksal der bei der Muskelarbeit gebildeten Milchsäure, noch den Zweck anderer, im Muskel anwesender Chemikalien.

Die Milchsäure enthält noch den weitaus größten Teil der durch die Kohlenhydrate zur Verfügung stehenden Energie. Die Eiweißquellungstheorie vernachlässigt dies ganz, trotzdem damit zu rechnen war, daß die Erforschung des weiteren Abbaues bis zur Kohlensäure noch neue Gesichtspunkte über das Wesen der Muskelkontraktion zutage fördern konnte. Bemerkenswerte Fortschritte über den biochemischen Abbau sind bereits gemacht. Wie im nächsten Kapitel bewiesen werden wird, tritt Neutralisation<sup>1)</sup> der Milchsäure ein. Wir wissen ferner: Das Endprodukt der Oxydation des entstandenen Lactats ist Alkalibicarbonat<sup>2)</sup>.

Die schönen Untersuchungen Neubergs<sup>3)</sup> über die zuckerfreien Gärungen haben für die Salze der der Milchsäure nahe-

---

<sup>1)</sup> W. N. Berg, The physico-chemical basis of striated muscle contraction. *Biochemical Bulletin* 3, 177/187 (1914) Zit. nach v. Fürth. Die amerikanische Literatur war mir leider nicht zugänglich. L. Wacker, Ein chemischer Kreisprozeß im arbeitenden Muskel. a. a. O. ferner: Physiologische und chemische Vorgänge im überlebenden Muskel als Ursache der Totenstarre. *Diese Zeitschr.* 75, 116. 1916.

<sup>2)</sup> J. Liebig, *Annalen der Chemie u. Pharmazie* 50, 161. 1844. Nencki und Sieber, *Journ. f. prakt. Chemie* 26, 5. 1882. L. Wacker, *Arch. f. d. ges. Physiol.* 165, 455. 1916.

<sup>3)</sup> C. Neuberg, *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere, Zuckerumsatz der Zelle.* Erg. Bd. 1913, S. 605.

stehenden Oxydationsstufe — der Brenztraubensäure — bewiesen, daß auf fermentativem Weg Alkalibicarbonat als enzymatische Spaltprodukte entstehen können. Hieraus ergeben sich wichtige Anhaltspunkte über den Verlauf des stufenweisen Abbaues der Milchsäure im Muskel. Die Möglichkeit einer Entstehung von Alkalibicarbonat durch Spaltprozesse steht mit den Unterlagen der Kohlensäuretheorie in bestem Einklang.

Im Muskel befinden sich noch reichliche Mengen von Kaliumphosphat, Kaliumbicarbonat und Kaliumalbuminat, die neben der Neutralisation noch der Regulation der Kohlensäureabfuhr dienen. Die Quellungstheorie gibt über deren Zweck keinen Aufschluß. Die Anwesenheit von Kaliumalbuminat wird in dem Referate von v. Fürth (a. a. O. S. 447) in Abrede gestellt. Hierauf werde ich noch ausführlich zurückkommen.

Die Bedeutung der reversiblen chemischen Prozesse zwischen Alkaliphosphaten und Alkalialbuminaten einerseits und Kohlensäure und Alkalibicarbonat andererseits beim Transport der Kohlensäure im Blute ist bekannt<sup>1)</sup>. Da dieselben Salze im Pflanzen- und Tierreich immer dort zu finden sind, wo Kohlensäure dissimiliert oder assimiliert wird, ist anzunehmen, daß sie auch im Kohlensäurestoffwechsel des Muskels eine hervorragende Rolle spielen. Durch die Wechselwirkung zwischen Kohlensäure und Dikaliumphosphat erklärt die Kohlensäuretheorie die Erschlaffung.

2. Eine Quellung des Eiweißes ist ausgeschlossen, weil die hierzu erforderliche Milchsäure im Augenblick des Entstehens neutralisiert wird.

In seinem verdienstvollen Referate unterzog sich v. Fürth (a. a. O.) der mühevollen Aufgabe, die umfangreiche Literatur über die Kolloidchemie des Muskels und die Studien über die Säurequellung zusammenzustellen und zu sichten. Obschon sich v. Fürth der Tatsache bewußt ist, welche Schwierigkeiten der Säurequellung als Unterlage für eine Kontraktionstheorie durch die unwiderlegbaren Beweise für die Neutralisation der Milch-

<sup>1)</sup> Vgl. Abderhalden, Lehrbuch d. physiol. Chemie, 3. Aufl. 2, 971. 1914. L. Wacker, Die Kohlensäure des Muskels und ihre Beziehungen zur Entstehung und Lösung der Totenstarre. Arch. f. d. ges. Physiol. 165, 461. 1916.

säure<sup>1)</sup> einerseits und die Messungen der geringen Zunahme der H-Ionen im Muskel<sup>2)</sup> andererseits erwachsen, sucht er sie dennoch auf eine neue Basis zu stellen, und empfiehlt dieselbe als Arbeitshypothese. In einem besonderen Kapitel (a. a. O. S. 403) bespricht er die physikalisch-chemischen Vorbedingungen zur Bildung von Säureproteinen unter Anerkennung der Berechtigung der Einwände Bergs (a. a. O.), wonach eine Anhäufung von Milchsäure im Muskel wegen der Anwesenheit von „Pufferverbindungen“ (Phosphaten, Carbonaten, Albuminaten) unwahrscheinlich ist. Die Gründe, die ihn trotzdem veranlassen, die Möglichkeit einer Bildung von Säureproteinen das Wort zu reden, sind m. E. nicht überzeugend und lassen eine andere Deutung zu, wie die folgenden Ausführungen beweisen:

Die Zunahme der H-Ionenkonzentration bei der Muskel-tätigkeit ist so gering, daß sie durch die Produktion von Kohlen-säure und Monokaliumphosphat erklärlich wird. (Pechstein a. a. O., v. Fürth a. a. O. S. 393 und 404). Eigene eingehende Versuche (a. a. O.) durch fortlaufende Titration des Kochextraktes des frischen und totenstarrten Muskels lehrten, daß keine Spur freier Säure auftritt, weil die Summe von Alkaleszenz plus Acidität in allen Stadien eine konstante Zahl ist, woraus mit Sicherheit auf eine Neutralisation der Milchsäure durch Bicarbonat bzw. das Dikaliumphosphat geschlossen werden muß. Nach Bottazzi und d'Agostino<sup>3)</sup> verursacht Milchsäurezugabe in dem physiologisch in Betracht kommendem Ausmaße zum Muskelpreßsaft eine mächtige Säurequellung. Diese Angabe sucht v. Fürth als Stütze für seine Anschauung heranzuziehen, mit der Begründung, daß die Puffersalze nicht neutralisierend gewirkt hätten. Die Ver-

<sup>1)</sup> J. Henderson (1909) und W. N. Berg (1914) a. a. O. L. Wacker, Münch. med. Wochenschr. 1915, a. a. O. L. Wacker, Anoxybiotische Vorgänge im Muskel (Kohlensäureentbindung und Wärmebildung als Begleiterscheinungen eines Neutralisationsprozesses im arbeitenden und überlebenden Muskel). Arch. f. d. ges. Physiol. 163, 491. 1916. A. v. Tschermack, Allg. Physiol. 1, 154. 1916.

<sup>2)</sup> H. Pechstein, Die Reaktion des ruhenden und arbeitenden Froschmuskels. Diese Zeitschr. 68, 140. 1914. J. Goldberger, Über die Änderung der H-Ionenkonzentr. während der Arbeit. Diese Zeitschr. 84, 200. 1917. Weitere Literatur siehe bei v. Fürth, a. a. O. S. 404.

<sup>3)</sup> F. Bottazzi und E. d'Agostino, Atti R. Accad. dei Lincei 1913, 22. 2. Sem. S. 183 (zit. nach v. Fürth).



suchsanordnung der beiden Autoren würde aber nur dann beweiskräftig sein, wenn der Preßsaft vorher neutralisiert worden wäre, denn schon durch die Operation des Auspressens bildet sich Milchsäure in solchem Umfang, daß ein solcher Preßsaft nicht über die Verhältnisse des intakten Gewebes zu orientieren vermag. (v. Fürth a. a. O. S. 392). Durch die reichliche Milchsäureneubildung wurden natürlich die Puffersalze aufgebraucht, und es kann dann nicht überraschen, wenn ein nochmaliger Säurezusatz Quellungserscheinungen hervorruft. Die Quellungen sind also unter Verhältnissen erzeugt worden, wie sie im Muskel nie auftreten.

Weiter vertritt v. Fürth den Standpunkt, daß die Muskel-eiweißkörper trotz der Anwesenheit der Puffersalze mit der Milchsäure Verbindungen eingehen können. Dies ist schon aus dem Grunde unwahrscheinlich, weil Myosin und Myogen Globulincharakter haben und an sich schwach sauer sind. Es wird sich daher keine Säure mit einer anderen Säure verbinden, besonders wenn noch Bicarbonat und Dikaliumphosphat in ausreichender Menge vorhanden sind. Dieser Fall ist ein lehrreiches Beispiel dafür, zu welchen Konsequenzen es führt, wenn man die chemischen Prozesse der Theorie anpassen will. Pauli (a. a. O. S. 18) sowie v. Fürth (a. a. O. S. 554) vertreten den Standpunkt, daß die Erschlaffung des Muskels durch Neutralisation der Milchsäure erfolgen kann. Die gleiche Milchsäure soll also behufs Auslösung von Quellungserscheinungen der Neutralisation durch die Puffersalze entgangen sein, um im nächsten Augenblick, behufs Einleitung der Restitution durch dieselben Salze, unwirksam gemacht zu werden.

Ein anderer Punkt, der v. Fürth veranlaßte, die Quellungstheorie als Arbeitshypothese zu empfehlen, bildete eine Beobachtung Mondscheins<sup>1)</sup>, wonach ein Drittel der Milchsäure im Muskel so fest verankert ist, daß sie durch Auskochen mit Wasser nicht extrahiert werden kann. Zur Isolierung muß man den Muskel mit 10 proz. Natronlauge kochen, d. h. die Eiweißkörper zerstören. Über den Ursprung der auf diese Weise gewonnenen Milchsäure kann man verschiedener Meinung sein, auf alle Fälle handelt es sich aber um keine reversible Eiweiß-Milchsäure-

<sup>1)</sup> J. Mondschein, Quantitative Bestimmung der Milchsäure bei Gegenwart von Eiweißkörpern. Diese Zeitschr. 42, 105. 1912.

verbindung, wie sie zur Erklärung der Kontraktionserscheinungen einschließlich Restitution in erster Linie notwendig wäre.

Als letzten Beweis für seine Auffassung zieht v. Fürth von ihm in Gemeinschaft mit Lenk<sup>1)</sup> durchgeführte Quellungsversuche heran, bei denen sie Gelatine mit verschiedenen Salzen, unter anderem mit Trikaliumphosphat, imprägniert haben und ein Ausbleiben der Wasseraufnahme beim Einlegen in Säure erwarteten. Sie fanden aber, daß die so behandelte Gelatine stärker quillt als reine Gelatine und schließen daraus, daß die Phosphate die Quellung unterstützen. Bei dieser Versuchsanordnung wurde aber in dem Trikaliumphosphat ein stark basisches Salz gewählt, das im Muskel nicht vorkommt und an sich dieser basischen Eigenschaften wegen zu einer Hydratation führen muß. Beim Einlegen in Säure wird das in den äußeren Partien der Gelatine befindliche Phosphat neutralisiert und ausgelaut, und der Säureüberschuß kann sogar eine Säurequellung hervorrufen, während im Innern der Gelatinewürfel eine Alkali-quellung bestehen kann. Auf diese Weise ließen sich diese Befunde erklären, aber selbst, wenn das nicht der Fall wäre, so liegen die Verhältnisse im Muskel doch verschieden, weil überhaupt keine freie Säure vorhanden ist.

Es ergibt sich also hieraus, daß nicht nur alle Bedingungen zur Einleitung einer Säure-Eiweißquellung fehlen, sondern daß der Organismus sogar Abwehrmaßregeln in den Puffersystemen geschaffen hat, um die Quellung zu verhindern.

Theorien über das Zustandekommen der Muskelkontraktion und der Totenstarre auf dieser Basis werden sich daher auf die Dauer nicht halten können.

3. Die Erklärung des Restitutionsvorganges (Erschlaffung) bietet nach der Quellungstheorie Schwierigkeiten.

Wie wir im vorangehenden Abschnitt gesehen haben, ist es unmöglich, sich vorzustellen, wie in Anwesenheit der Pufferverbindungen Säurequellungen zustande kommen sollen, die zur Kontraktion des Muskels führen. Diese Schwierigkeiten vermehren sich, wenn man sich über die Einleitung der Dehydratation der Eiweißkörper, welche der Erschlaffung vorangehen muß, durch die Beseitigung der Milchsäure ein Bild zu machen sucht.

<sup>1)</sup> v. Fürth und Lenk, Diese Zeitschr. 33, 356. 1911.

Der plausibelste Vorgang wäre deren Neutralisation, aber da erhebt sich sofort die Frage, warum dies nicht schon im *statu nascendi* der Säure geschieht? Bei sofortiger Neutralisation wäre natürlich die Quellung ausgeschlossen. Der oxydativen Beseitigung stehen vom rein chemischen Standpunkt Bedenken entgegen, denn die Erfahrung lehrt, daß die Salze organischer Säuren im alkalischen Medium der Oxydation am leichtesten zugänglich sind. Der wichtigste Einwand liegt aber darin, daß die Oxydation die anoxybiotische Muskelarbeit nicht erklärt (v. Fürth a. a. O. S. 554). Die Annahme der Beseitigung der Milchsäure durch Überführung in eine ihrer Vorstufe ist chemisch nicht begründet und hat daher nur heuristischen Wert. Sie bringt uns dem Ziele nicht näher, weil wir im ermüdeten oder absterbenden Muskel nur eine Anhäufung von milchsaurem Kalium finden. Die Beseitigung der Milchsäure aus dem säuregequollenen Eiweiß durch Neutralsalze stößt auch auf unüberwindliche Schwierigkeiten, denn diese Salze müßten schon während der Kontraktion anwesend sein und also eigentlich die Quellung verhindern. Ferner sind die Kaliumsalze fast ausschließlich als Phosphate zugegen und würden entsprechend der Beweisführung v. Fürth und Lenks an Gelatinewürfeln (siehe den vorangegangenen Abschnitt) die Entquellung gar nicht einleiten können.

4. Die anoxybiotische Muskelarbeit ist bei Annahme der oxydativen Beseitigung der Milchsäure unmöglich.

Die Paulische Formulierung der Erschlaffung des Muskels durch oxydative Beseitigung der Milchsäure erklärt zwar theoretisch die Möglichkeit der Restitution, sie verschafft aber keine Vorstellung über die anoxybiotische Muskelarbeit bei vorübergehender starker Beanspruchung bei höheren Tieren sowohl wie bei der Anoxybiose der Ascariden und Taenien.

Nach der Kohlensäuretheorie ist eine anoxybiotische Muskelarbeit möglich, so lange der Vorrat an alkalischen Salzen, die zum Teil aus dem Blut ergänzt werden können, reicht. Anoxybiotisch lebende Individuen wie Taenien und Ascariden, können die Alkaleszenz aus dem Organismus (Darm) des Wirtes ergänzen und sind daher vollständig unabhängig von deren Regeneration durch Sauerstoff.

5. Die zur Erholung des ermüdeten Muskels führende Regeneration der Alkaleszenz ist nicht erklärlich.

Im erholten, ruhenden Muskel herrscht Dikaliumphosphat vor, während sich im ermüdeten Monokaliumphosphat neben Kaliumlactat als Ermüdungsstoffe befinden. Dikaliumphosphat ist alkalisch, Monokaliumphosphat dagegen sauer. Die Annahme von freier Milchsäure im ermüdeten Muskel ist irrig. Bei der Erholung stellt sich unter Sauerstoffaufnahme der alte Zustand wieder her, der Muskel wird wieder alkalisch, d. h. es regeneriert sich Dikaliumphosphat, während das Kaliumlactat verschwindet. Es fragt sich also, woher dieser Gewinn an Alkaleszenz kommt, und durch welche chemischen Prozesse er hervorgerufen wird? Auf die Dauer und ohne Regeneration kann die Alkaleszenz aus dem Blute auch nicht bezogen werden, weil dieses dann selbst an diesen Stoffen verarmen müßte. Die Quellungstheorie gibt darüber keinen Aufschluß. Eine Erklärung hierfür liefert die Kohlensäuretheorie. Sie lehrt, daß die Regeneration durch Oxydation des Lactats zu Bicarbonat erfolgt und daß die Wechselwirkung zwischen Dikaliumphosphat und Kohlensäure, bzw. Monokaliumphosphat und Kaliumbicarbonat ein reversibler chemischer Prozeß ist (cf. Fußnoten S. 118 Nr. 2, S. 119 Nr. 1 u. 2, S. 122 Nr. 1, S. 123 Nr. 1).

6. Die Ausnützung der dem Muskel zur Verfügung stehenden Energie ist nach der Quellungstheorie nicht ersichtlich.

Die Einwirkung verdünnter Säuren auf Leimgallerten ist ein exothermischer Prozeß (v. Fürth a. a. O. S. 399). Bei Erzeugung des Quellungsdruckes durch Einwirkung der supponierten freien Milchsäure auf die Eiweißkörper des Muskels wird neben der zu leistenden Arbeit noch Wärme produziert (v. Fürth a. a. O. S. 502/503), die nicht aus dem Energievorrat des Muskels stammt. Zur Kontraktion wird also nur die Energiemenge beansprucht, die zum hydrolytischen Abbau des Glykogens zur Milchsäure nötig ist, und diese beträgt nur etwa 4% der Gesamtenergie des Glykogens. Osmotische Kräfte und andere durch den anoxybiotischen Abbau verfügbare Energie, oder die durch Verbrennung der Milchsäure freiwerdende Wärme werden zur Kontraktion nicht benötigt. (Pauli a. a. O. S. 18.) Der größte Energieaufwand muß nach Pauli im Gegensatz zu allen bisherigen Vorstellungen

auf die Restitutionsvorgänge, also auf die Herstellung des mechanischen Ausgangspotentials im Muskel entfallen. Dem Muskel muß demnach zur Einleitung der Entquellung (Dehydratation) Wärme zugeführt werden, und zwar muß diese der geleisteten Arbeit äquivalent sein und ferner noch die beim Quellungsprozeß als solche frei gewordene Wärme ersetzen. Die Restitution wäre daher ein thermodynamischer Prozeß, während die Kontraktion als chemodynamischer Vorgang bezeichnet werden kann. Da aber eine Kontraktion ohne Restitution nicht denkbar ist, muß die Arbeitsleistung nach der Quellungstheorie als ein thermodynamischer Vorgang angesehen werden, denn die verfügbare Energie kommt nur auf diesem Wege zur Geltung.

Die Anhänger der Quellungstheorie stehen somit vor dem Problem, den Beweis zu erbringen, ob die Einwände Ficks gegen die thermodynamische Theorie Engelmanns nicht auch in diesem Fall Geltung besitzen. (Vgl. dazu v. Fürth, a. a. O. S. 538.)

Pauli (a. a. O. S. 18) schreibt mit Recht über die Energieverwertung nach der Quellungstheorie: „Bei Zucker als Energiequelle würde nur etwa  $\frac{1}{30}$  seiner Verbrennungswärme auf die Kontraktion, der Rest auf die Erschlaffung verwendet werden. Wir haben lange gezögert, mit dieser auf den ersten Blick paradox erscheinenden Ansicht hervorzutreten.“ Woraus zu ersehen ist, daß selbst bei den Vertretern der Quellungstheorie Zweifel über die Verwertbarkeit dieser Lehre bestanden haben.

7. Die Quellungs- und Entquellungsvorgänge vollziehen sich viel zu langsam, um für eine Kontraktionslehre in Frage zu kommen.

Nach landläufigen Begriffen sind Quellungs- und Entquellungsvorgänge langsame Prozesse, während eine Muskelkontraktion mit explosionsartiger Geschwindigkeit erfolgen kann.

Wenn auf einen langsamen Quellungsprozeß eine ebenso zeitraubende Entquellung folgen soll, kann man sich nicht vorstellen, wie z. B. die enorme Geschwindigkeit der Bewegung eines Insektenflügels, die 400 Kontraktionen in der Sekunde erfordert, zustande kommt, ganz abgesehen von der Zeit, die die Beseitigung der Milchsäure beansprucht.

Nach dieser kritischen Besprechung der Berechtigung der Säure-Eiweißquellung als Unterlage für die Kontraktionstheorie sollen im folgenden die Einwände v. Fürths gegen andere Theorien etwas eingehender geprüft werden, da er in seinem Referate „Über die Kolloidchemie des Muskels und ihre Beziehungen zu den Problemen der Kontraktion und der Starre“ unter anderem in Kapitel 21, S. 530—534 die osmotische Theorie von Mc. Dougall (a. a. O.) mit der Ergänzung von Zuntz<sup>1)</sup> und im Zusammenhang damit auch die von mir aufgestellte Kohlensäuretheorie (a. a. O.) in ablehnendem Sinne besprochen hat.

## II. Entgegnung auf die Einwände gegen die osmotische und die Kohlensäuretheorie.

### A. Einwände gegen die osmotische Theorie (v. Fürth a. a. O. S. 531, 532).

a) Fehlen einer Längsfaltung der Bläschenwände (Bernstein). Bernstein (a. a. O. 1915, S. 20) hat insofern gegen die Bläschenstruktur der Fibrillen nach Mc. Dougall Bedenken geäußert, als er die kontraktile Elemente nur dann als verkürzungsfähig erklärte, wenn sie in der Längsrichtung ausdehnbar sind, und in der Querrichtung elastisch dehnbare Wandungen besitzen. Hierzu äußert sich W. Biedermann<sup>2)</sup> wörtlich wie folgt:

„Die Voraussetzungen, von welchen Mc. Dougall bei Aufstellung seiner Theorie ausgegangen ist, sind aber, wie mir scheint, ganz wesentlich verschieden von jenen Bernsteins. Die einzelnen Fibrillensegmente (Sarkomeren) sind nach Auffassung Mc. Dougalls nicht allseitig von elastischen Wänden begrenzte Zylinder oder Rotationsellipsoide, sondern voneinander durch ebene, unausdehnbare Scheidewände (die Zwischenscheibe Z) getrennt, welche von beiden Seiten her unter gleichem Druck stehen. In diesem Falle würde aber jede Volumenzunahme des flüssigen Inhaltes notwendig zu einer Verkürzung unter Näherung jener Septen führen müssen. Ja selbst dann, wenn man die Annahme einer seitlichen Fibrillenmembran ganz fallen läßt und die Fibrillen von gallertartiger Konsistenz auffaßt, erweist sich, wie später gezeigt werden soll, der Grundgedanke Mc. Dougalls noch leistungsfähig.“

So weit Biedermann. Durch meine Muskelmodelle<sup>3)</sup>, die im

<sup>1)</sup> N. Zuntz, Der Mechanismus der Muskelarbeit. Handbuch d. Biochemie d. Menschen u. d. Tiere Bd. 4/I, S. 863, 1911.

<sup>2)</sup> W. Biedermann, Vergleichende Physiologie der irritablen Substanzen. Ergebn d. Physiol. 8, 183. 1909. Siehe dort auch weitere Literatur.

<sup>3)</sup> L. Wacker, Über einige Modelle zur Demonstration der Muskelkontraktion nach der Drucktheorie. Arch. f. d. ges. Physiol. 169, 492. 1917.

Referate v. Fürths noch keine Berücksichtigung gefunden haben, sind sogar durch Einfügung von unelastischen Längsfäden (Längslamellen) die Bernsteinschen Einwände behoben. Über die histologische Berechtigung dieser Längslamellen siehe unter Einwand g.

b) Allzu geringe Menge vorhandenen Sarkoplasmas, um eine ausgiebige Flüssigkeitsaufnahme aus dem Sarkoplasma in die Muskelelemente (Sarkomeren) plausibel erscheinen zu lassen.

Hier ist zu bemerken, daß die Menge des Sarkoplasmas sehr verschieden ist, sie kann u. U. sogar sehr groß sein. Nach den Angaben der Lehrbücher der Histologie<sup>1)</sup> ist sie abhängig von der Funktion des Muskels, worüber sich Mc. Dougall<sup>2)</sup> wörtlich wie folgt äußert:

„The view here adopted of the influence on contraction of the waste products of metabolism finds confirmation in the fact of those muscles of which very rapidly succeeding distinct contractions are required, contain a realitvly very large amount of sarcoplasma and elaborate arrangements for carrying off the waste products of metabolism. Thus the insect's wing muscle has a very large amount of sarcoplasm which is permeated in all its parts with a very dense network of fine airtubes. These tubes constitute a very perfect system for carrying carbonic acid away from the sarcoplasm. So also the fibres of the bat's wing contain a very large amount of sarcoplasm, and are very slender; and each of these slender fibres is surrounded by an extraordinarily dense network of capillary bloodvessels“<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Vgl. Stöhr, Lehrbuch d. Histologie, 16. Aufl. 1915, S. 102. P. Eisler in v. Bardelebens Handb. d. Anatomie Bd. II 2, 1 S. 5, 1912.

<sup>2)</sup> Mc. Dougall, A theory of Muscular Contraction. Journ. of Anatom. V, 32, p. 185, 1898.

<sup>3)</sup> Die in besonders klarer Weise dargestellten Vorrichtungen zur Abfuhr der Kohlensäure im Insekten- und Fledermausflügelmuskel veranlassen mich zur Beifügung der Übersetzung der oben angezogenen Stelle:

Die hier vertretene Anschauung des Einflusses der Abfallprodukte des Stoffwechsels auf die Kontraktion findet in der Tatsache Bestätigung, daß solche Muskeln, von denen sehr raschfolgende Kontraktionen gefordert werden, eine verhältnismäßig sehr große Menge Sarkoplasma enthalten und sorgfältige Einrichtungen zur Abfuhr der Abfallprodukte des Stoffwechsels besitzen. So hat der Insektenflügelmuskel eine sehr große Menge Sarkoplasma, das in allen seinen Teilen von einem sehr dichten Netz von feinen Luftschläuchen durchdrungen ist. Diese Schläuche stellen ein sehr vollkommenes System dar, um die Kohlensäure aus dem Sarkoplasma wegzuführen. Auch die Muskelfasern des Fledermausflügels enthalten sehr viel Sarkoplasma, sie sind sehr schlank und jede dieser schlanken Fasern ist umgeben von einem außergewöhnlich dichten Netzwerk von capillaren Blutgefäßen.

Der Begriff „allzuerliche Menge“ kann also nur für bestimmte Muskeln gelten, während andere über eine sehr große Menge („very large amount“) verfügen, im übrigen scheint es bei der Frage nach der Berechtigung der osmotischen Theorie in erster Linie darauf anzukommen, ob überhaupt Wasser von den Muskelementen aufgenommen wird oder nicht, und dies muß bejahend beantwortet werden, denn Hürthle<sup>1)</sup> und Meigs<sup>2)</sup> haben die Zwischenräume zwischen den einzelnen Fibrillen untersucht und berichten übereinstimmend über deren Abnahme bei der Kontraktion. Umgekehrt spricht die Vorwölbung der Q-Schicht der Muskelemente für deren Flüssigkeitsaufnahme. Näheres darüber im Abschnitt c.

Nach Literaturangaben nimmt der arbeitende Muskel Wasser aus dem Blute auf. Danach besteht die Möglichkeit einer Ergänzung des Flüssigkeitsbestandes des Sarkoplasmas aus dem Blut.

c) Volumkonstanz der Muskelemente (Sarkomeren). Bei Beobachtung der Kontraktion am lebenden Muskel vermochte Hürthle weder eine Volumzunahme der Fibrillen im ganzen, noch ihrer doppeltbrechenden Abschnitte festzustellen.

Hürthle hat seine Beobachtungen an Zupfpräparaten des lebenden Muskels des Wasserkäfers (*Hydrophilus*) gemacht, während Engelmann seine Präparate fixierte und dabei zu ganz entgegengesetzten Resultaten gelangte. Die Verschiedenheit der Beobachtung kann also nur in der Methode liegen. Hürthle betont selbst, daß genaue Volummessungen der einzelnen Schichten bei lebenden Fasern mit besonderen Schwierigkeiten verbunden sind (vgl. dazu W. Biedermann a. a. O. S. 207). Eine Entscheidung der Frage, welche Beobachtung den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, ist für den Nichthistologen unmöglich, aber es existieren andere gewichtige Gründe, welche die Frage im Sinne Engelmanns zu klären imstande zu sein scheinen. Nach den vorangegangenen Ausführungen nehmen bei der Kontraktion die Zwischenräume der Fibrillen ab. Ferner hat Mc. Dougall, a. a. O. beobachtet, daß bei der Kontraktion die Muskelemente

<sup>1)</sup> K. Hürthle, Über die Struktur des quergestreiften Muskels. Biol. Centralbl. 27, 112. 1907. Siehe a. Arch. f. d. ges. Physiol. Bonn 1909. Zit. nach v. Fürth.

<sup>2)</sup> E. B. Meigs, The structure of the element of cross striated muscle and the changes of form which it undergoes during contraction. Arch. f. allg. Physiol. 1908.



eine Faßform annehmen und die Q-Schichten sich vorwölben, was zu ringförmigen Einschnürungen der Z-Linien (Festons) führt. Diese Erscheinungen sind ohne eine Volumvermehrung kaum denkbar. Auch noch ein anderer Gesichtspunkt spricht gegen die Volumkonstanz. Ein physikalisches Grundgesetz lautet:

„Arbeit ist das Produkt aus Kraft mal Weg.“ Die Druckbildung im Innern der Muskelemente entspricht der Kraft, während der zugehörige Weg nur die Volumzunahme sein kann. Ohne diese Zunahme des Volumens gleichen die Muskelemente dem Zylinder einer Dampfmaschine, der zwar unter Dampfdruck steht, dessen Kolben aber festgehalten ist und demnach keine Arbeit leisten kann, weil die Maschine überhaupt nicht in Betrieb kommt. Dem allenfallsigen Einwand, es lägen bei den Muskelementen andere Verhältnisse vor, weil es zur Kontraktion genügt, wenn sie bei gleichbleibendem Volumen an Höhe (longitudinal) abnehmen, um dadurch an Dicke (transversal) zu gewinnen, ist entgegenzuhalten, daß schon diese Formänderung eine Arbeitsleistung bedingt.

Eine Volumvermehrung der Muskelemente bedeutet natürlich noch nicht, daß der ganze Muskel bei der Kontraktion gleichfalls zunehmen muß, es ist vielmehr wahrscheinlich, daß kompensatorische Erscheinungen, die ja auch im Wesen des osmotischen Ausgleichs liegen, in Aktion treten können.

d) Die Theorie scheint auf die glatten Muskeln nicht anwendbar, insofern sie an bestimmte morphologische Voraussetzungen geknüpft ist, die nur für die quergestreifte, nicht aber für die glatte Muskulatur gegeben erscheinen. (Pauli 1912).

Der histologische Bau der glatten Muskulatur ist in seinen Einzelheiten noch viel zu wenig geklärt, um hieraus auf die Berechtigung oder Nichtberechtigung einer Theorie Schlüsse ziehen zu können. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist die Architektur des glatten Muskels der des quergestreiften analog. Das Vorhandensein von Längsstreifen analog den Fibrillen kann als sicher gelten. Einzelne Forscher (Altmann, Mc. Dougall)<sup>1)</sup> wollen eine Querstreifung sowie ein Sarkoplasma beobachtet haben.

<sup>1)</sup> Vgl. dazu M. Heidenhain, Plasma und Zelle, 2. Lieferung. Jena 1911, S. 509, 600—603 in v. Bardenhebers Handbuch d. Anatomie 8. Mc. Dougall, a. a. O., S. 208 u. 209.

e) Die Theorie bietet keinen Anhaltspunkt für die Erklärung der elektrischen Erscheinungen bei der Muskelkontraktion (Pauli 1912).

Nach F. Haber und Z. Klemensiewicz<sup>1)</sup> entstehen die elektrischen Erscheinungen im Muskel auf Grund verschiedener Tension der Kohlensäure an der Grenze zwischen Fibrille und Sarkoplasma. W. Pauli a. a. O. spricht dagegen die Meinung aus, daß selbst dann noch Schwierigkeiten bestehen, wenn man die Kohlensäure durch Milchsäure ersetzt. Die Entstehung elektromotorischer Kräfte könne nur bei Annahme einer aktiven Beteiligung von Säureeweiß befriedigend erklärt werden.

Wie unter I, 2 erläutert, wird die Milchsäure im statu nascendi neutralisiert. Das zur Bildung eines Stromes erforderliche Säureeweiß ist also gar nicht vorhanden. Im Gegensatz zur Paulischen Auffassung steht die Habersche Theorie auf dem Boden gegebener Verhältnisse und stimmt mit dem Muskelstoffwechsel und der Kohlensäuretheorie gut überein.

f) Sie trägt dem Zusammenhang zwischen Doppelbrechung und Kontraktilität in keiner Weise Rechnung. (Pauli 1912.)

Das optische Verhalten des Muskels bei der Kontraktion ist der Gegenstand lebhafter Kontroversen gewesen (vgl. dazu W. Biedermann, a. a. O., S. 207). So besteht beispielsweise ein Gegensatz zwischen den Befunden Engelmanns und Hürthles bezüglich der Zunahme der Höhe der einfachbrechenden Schichten (J.). Solange die Ergebnisse der histologischen Forschung noch widersprechend sind und das optische Verhalten der Muskelchemikalien keine Berücksichtigung gefunden hat, ist es unmöglich, dazu Stellung zu nehmen. Glykogen und milchsaures Kalium sind bekanntlich optisch aktiv. Durch den Stoffwechsel und die Muskeltätigkeit bedingte Veränderungen in den Mengen und in der Lokalisation dieser Substanzen können ebenso wie Spannungsdifferenzen unter dem Polarisationsmikroskop Verschiebungen im Grade der Helligkeit hervorrufen.

g) Sie ist mit dem tatsächlich beobachteten Verkürzungsgrad des Muskels unvereinbar. Es ist nach

---

<sup>1)</sup> F. Haber u. Z. Klemensiewicz, Über elektrische Phasengrenzkräfte. Zeitschr. f. physikal. Chem. 67, 385. 1909.

Schäfer<sup>1)</sup> (1910) weder praktisch noch theoretisch möglich, ein Modell im Sinne von Mc. Dougall zu konstruieren, das sich so stark kontrahiert, wie der lebende Muskel. Dieser kann sich auf weniger als  $\frac{1}{5}$  seiner ursprünglichen Länge (nach Engelmann unter Umständen auf einen noch weit geringeren Bruchteil) zusammenziehen, während das Mc. Dougallsche Modell höchstens eine Zusammenziehung auf  $\frac{1}{5}$  seiner ursprünglichen Länge gestatten würde.

Dieser nochmals gegen die Kohlensäuredrucktheorie erhobene Einwand wird unter B.c) eingehend widerlegt.

**B. Einwände gegen die Kohlensäuretheorie (v. Fürth a. a. O. S. 534—537).**

a) Absolute Muskelkraft. v. Fürth versucht auf Grund des im absterbenden Muskel nachgewiesenen Milchsäurebildungsmaximums den Beweis zu führen, daß die Menge der bei der Neutralisation mit Kaliumbicarbonat freiwerdenden Kohlensäure zur Erklärung des erforderlichen Kohlensäuredruckes nicht ausreicht. Es entsteht, sagt v. Fürth, im günstigsten Fall ein Überdruck von  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären, während sich der Muskel in maximo mit einer Kraft zusammenzieht, die auf 10 kg pro qcm veranschlagt wird.

Diese Einwände sind jedoch histologisch und chemisch aus folgenden Gründen unhaltbar:

1. v. Fürth berechnet den Kohlensäuredruck auf das gesamte Muskelvolumen und berücksichtigt dabei nicht, daß sich die Kohlensäure nur innerhalb der als kontraktile Substanz geltenden Fibrillen bildet. Diese stellen aber nur etwa ein Drittel (vgl. W. Biedermann, a. a. O., S. 188) der ganzen Muskelmasse dar. Nach Schiefferdeckers<sup>2)</sup> Messungen und Berechnungen (bei Mensch und Hund) beträgt die Fibrillenmasse sogar nur  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{4}$  der Gesamtfasermenge. Man würde aber immer noch

<sup>1)</sup> E. A. Schäfer, On Mc. Dougalls Theory of muscular contraction with some remarks on Hürthles observations on muscle structure and the changes which it undergoes in contraction. Quarterly Journ. of experim. Physiol. 3, 63. 1910. Die Ausführungen Schäfers waren mir unzugänglich und konnten daher nicht berücksichtigt werden.

<sup>2)</sup> Vgl. P. Eisler in v. Bardelebens Handbuch der Anatomie, Bd. II, 1, S. 5. 1912.

fehlgehen, bei Annahme des ganzen äußeren Volumens der Fibrillen als aktiven Druckraum, denn Vorrichtungen, die einem Druck widerstehen sollen, müssen eine gewisse Festigkeit besitzen. Es ist also ein entsprechendes Volumen für die Wandungen abzuziehen; ferner müssen im vorliegenden Fall noch Lagerstätten für die Betriebsmittel, wie z. B. das Glykogen vorhanden sein, wodurch der für die Druckwirkung verfügbare Raum weiter verkleinert wird.

Bei Zugrundelegung der Hälfte des Fibrillenvolumens als Druckraum berechnet sich, daß von einem Kilo gleich etwa 1 Liter Muskel nur der 6. bis 10. Teil, d. i. etwa 170 bis 100 ccm als solcher in Frage kommt.

Die Berechnungsart, den gesamten Muskelinhalt inkl. Sarkoplasma, Sarkolem, Bindegewebe, Blut- und Lymphgefäßen, Nerven usw. als Druckraum anzunehmen, wäre etwa dem Fehler gleichbedeutend, den ein Ingenieur begehen würde, wenn er als Expansionsraum des Dampfes einer Dampfmaschine das ganze äußere Volumen der Maschine zuzüglich Kesselraum und Fundament in Rechnung stellen wollte.

2. Zur Richtigstellung des chemischen Teiles der Berechnung des Kohlensäuredruckes muß etwas weiter ausgeholt werden, weil es sich hier um eine irrümliche Anschauung handelt, der man in der Literatur häufiger begegnet:

Als Beweis für den Ursprung der Milchsäure aus Glykogen (bzw. Kohlehydraten) hat man im absterbenden Muskel eine dem Glykogenschwund theoretisch äquivalente Menge neugebildeter Milchsäure erwartet. In der Regel ist jedoch die Menge des verschwundenen Glykogens größer als der Neubildung der Milchsäure entspricht. Dieses Defizit an Milchsäure ist auf den Fortgang der Oxydationsprozesse im Muskel nach dem Tod zurückzuführen, denn es ist nicht einzusehen, weshalb gerade diese zum Stillstand kommen sollten, während andere Prozesse, wie derjenige der Milchsäurebildung noch weiterlaufen. Es wird demnach die Oxydation des milchsauren Kaliums zu Kaliumbicarbonat noch einige Zeit weitergehen und dadurch der Anschein erweckt, als sei eine im Vergleich zum Glykogenschwund zu geringe Milchsäuremenge gebildet worden.

Wenn v. Fürth zu dem Schlusse kommt, daß die zur Verfügung stehende Kohlensäure nur für  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären Druck

ausreicht, so hat er dabei, ganz abgesehen von den nicht zutreffenden Größenverhältnissen des Druckraumes, jene Kohlensäuremenge unberücksichtigt gelassen, die sich unseren rechnerischen und analytischen Wahrnehmungen entzogen hat; durch den Fortgang der Oxydationsprozesse während des Absterbens wurde Kaliumbicarbonat neu gebildet und aus diesem durch Neutralisation mit Milchsäure eine weitere Kohlensäuremenge produziert<sup>1)</sup>.

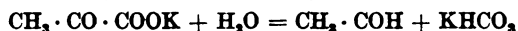
3. Außerdem nimmt v. Fürth an, im Muskel befände sich Alkalicarbonat ( $K_2CO_3$ ), während doch zweifellos primäres Salz ( $KHCO_3$ ) zugegen ist. Dadurch verdoppelt sich natürlich die Menge der berechneten Kohlensäure.

4. Nach der ursprünglichen Fassung der Kohlensäuretheorie kommt mit dem Kohlensäuredruck noch gleichzeitig der osmotische Druck zur Geltung. Es ist anzunehmen, daß v. Fürth dies auch so aufgefaßt hat, denn sonst bestünde keine Veranlassung, in seinem Referate die Kohlensäuretheorie gleichzeitig mit der osmotischen Theorie zu behandeln. Aus diesem Grunde dürfte bei den Berechnungen der absoluten Muskelkraft natürlich diese Druckquelle nicht ignoriert werden.

Seine rechnerische Beweisführung bezüglich der vorherrschenden Druckzustände in den Muskelementen kommt also den tatsächlich bestehenden Verhältnissen nicht annähernd nahe.

Rein äußerlich betrachtet, ist es ganz selbstverständlich, daß

<sup>1)</sup> Die fortschreitende Erkenntnis des stufenweisen Abbaues des milchsauren Kaliums im Muskel wird vielleicht lehren, daß die gesamte Kohlensäure durch Neutralisationsprozesse in Freiheit gesetzt wird. Es wurde bereits die wichtige Entdeckung Neubergs (a. a. O.) erwähnt, wonach brenztraubensaures Kali durch Gärung in Kaliumbicarbonat und Acetaldehyd zerfällt, gemäß der Gleichung:



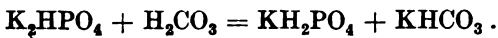
Wenn der als Spaltprodukt entstehende Aldehyd unter dem Einfluß des Sauerstoffes zu Essigsäure oxydiert wird, so kann durch Neutralisation ein weiteres Molekül  $CO_2$  abgespalten werden. Ferner ist nicht undenkbar, daß auf dem Wege gekoppelter Reaktionen sich am essigsäuren Kalium eine ähnliche fermentative Spaltung mit darauffolgender Oxydation und Neutralisation wiederholt. Eine derartige Vorstellung würde nicht nur mit der Kohlensäuretheorie gut vereinbar sein, sondern auch Anhaltspunkte über die Art der Ausnutzung der Energie liefern. Da die experimentellen Unterlagen hierzu noch im Marsche sind, muß einstweilen, so verlockend dieses Thema auch zu sein scheint, auf Berechnungen verzichtet werden.

die Kohlensäure im Muskel unter Druck sein muß, wenn sie ins Blut abwandern soll, weil dabei natürlich auch der Kohlensäuredruck des Blutes selbst, der zirka 30 mm beträgt, zu überwinden ist. Ziehen wir ferner in Betracht, daß bei der Muskelarbeit, wie schon eingangs erwähnt, die Kohlensäureproduktion um das Zehnfache des Ruhewertes<sup>1)</sup> steigen kann, und daß selbst die geringsten Bewegungen die Kohlensäureausfuhr vermehren, so wird die Bedeutung des Kohlensäuredruckes als Kraftquelle immer wahrscheinlicher.

b) Beobachtungen an Rohrzuckermuskeln. Einen weiteren Einwand v. Fürths gegen die Kohlensäuretheorie bildet das Verhalten der Muskeln gegen Rohrzuckerlösungen. Beim Einlegen in solche Lösungen verlieren sie die Erregbarkeit, um sie in Lösungen von Natriumsalzen wieder zu gewinnen. (Literatur hierzu siehe bei v. Fürth a. a. O. S. 536.) Dieses Verhalten wird auf die Extraktion der Natriumsalze durch die Zuckertlösung zurückgeführt.

In meiner ersten Publikation über die Kohlensäuretheorie wurde angenommen, daß sich im Muskel Natriumbicarbonat, entstanden durch Oxydation von milchsaurem Natron, befindet. Die Extraktion des Natriumbicarbonats durch die Rohrzuckerlösung erklärt also gut die Unmöglichkeit der Kontraktion nach dem Lagern in einer solchen Lösung, weil es dann zu keiner Kohlensäurebildung kommen kann. Auf den ersten Blick, sagt v. Fürth, steht dieses Verhalten mit der Kohlensäuretheorie im besten Einvernehmen, aber die Erregbarkeit dürfte nur auf Zusatz von Natriumbicarbonat wiederkehren, während tatsächlich Natriumsalze der allerverschiedensten Art eine derartige Wirkung auszuüben vermögen.

Dagegen ist einzuwenden, daß die Annahme des Vorhandenseins von Natriumbicarbonat in dem Kontraktionsschema eine rein willkürliche und aus dem Grunde vielleicht eine nicht ganz korrekte war, weil im Muskel die Kaliumsalze vorherrschen. Bei der Einwirkung von Kohlensäure auf Dikaliumphosphat entsteht bekanntlich Kaliumbicarbonat, gemäß der Gleichung:



Aus dieser Erkenntnis heraus wurde bereits in einer späteren Publikation über den chemischen Kreisprozeß im arbeitenden

<sup>1)</sup> Landois a. a. O.

Muskel und seine Beziehungen zur Gewebsatmung (a. a. O.) schon vor dem Erscheinen des v. Fürthschen Referates, nur mehr von der Anwesenheit von Kaliumbicarbonat gesprochen.

Es ist natürlich schwer, für das Verhalten des Muskels gegenüber Natriumsalzen, das vielleicht mit feinen chemischen Regulationsmechanismen in Zusammenhang steht, die richtige Erklärung zu finden. Man könnte beispielsweise an eine Regulation der Milchsäurebildung durch Aktivierung von Fermenten bei Gegenwart von Natriumionen denken. Als Beweis gegen die Haltbarkeit der Kohlensäuretheorie kann dieser Einwand aber nicht dienen.

### c) Verkürzung der Muskeln.

v. Fürth sagt: „Sie ist mit dem tatsächlich beobachteten Verkürzungsgrad des Muskels vereinbar. Es ist nach Schäfer (1910) weder praktisch, noch theoretisch möglich, ein Modell im Sinne Mc. Dougalls zu konstruieren, welches sich so stark kontrahiert, wie der lebende Muskel. Dieser kann sich auf weniger als  $\frac{1}{4}$  seiner ursprünglichen Länge (nach Engelmann sogar auf einen noch weit geringeren Bruchteil, vgl. v. Fürth a. a. O. S. 424) zusammenziehen, während das Mc. Dougallsche Modell (über das ich in der Literatur keine Angaben finden konnte — Wacker), höchstens eine Zusammenziehung auf  $\frac{2}{3}$  der ursprünglichen Länge gestatten würde.“

Dieser Einwand berücksichtigt nicht den von mir in Pflügers Archiv Bd. 169, S. 494 (1917) beschriebenen und durch Modelle illustrierten Verkürzungsmodus und ist aus dreierlei Gründen unberechtigt:

1. Die einzelnen Muskelemente können sich über die Kugelgestalt hinaus je nach den Druckverhältnissen beliebig weit zusammenziehen, wenn man sich in deren Mantelfläche, parallel zur Längsachse, Längslamellen eingeflochten denkt, die nicht dehnbar und mit den Zwischenscheiben fest verankert sind. Wenn bei der Drucksteigerung im Innern der Muskelemente sich die Mantelflächen vorwölben (Faßform), so werden die Längslamellen nach außen gedrückt und dadurch ein Zusammenrücken der Zwischenscheiben herbeigeführt (siehe dazu die Muskelmodelle a. a. O.).

Die histologischen Unterlagen hierzu befinden sich bei M. Heidenhain a. a. O. S. 619, 620 im Kapitel „Hypothetische Längsverbindung der Fibrillen“.

2. Bekanntlich besteht zwischen Bindegewebs- und Muskelfasern hinsichtlich der Bedingungen des Eintretens und Verlaufes

der Kontraktion weitgehende Analogie (Biedermann a. a. O. S. 172). Und in der Tat lassen sich an Zupfpräparaten der *Pia mater*<sup>1)</sup> bei der Einwirkung von verdünnten Säuren Kontraktionserscheinungen hervorrufen, die in jeder Hinsicht mit dem erwähnten Muskelmodell in Einklang stehen. An den nicht kontrahierten Fasern sind die Längslamellen deutlich wahrnehmbar, während nach der Kontraktion die Zwischenscheiben mit den Einschnürungen (Festons) in aller Schärfe sichtbar werden. Es kann demnach kein Zweifel bestehen, daß die Muskelmodelle Verhältnisse nachahmen, wie sie im Organismus existieren.

3. Wie in der zitierten Arbeit über die Modelle zur Demonstration der Muskelkontraktion nach der Drucktheorie bereits hervorgehoben wurde, kann man sich die Gesamtkontraktion des Muskels aus zwei Verkürzungsmomenten zusammengesetzt denken, die als Fibrillen- und Bündelverkürzung bezeichnet werden könnten.

Während die Fibrillenverkürzung an geeigneten Objekten unter dem Mikroskop verfolgt und gemessen werden kann, entzieht sich die Bündelverkürzung der Beobachtung. Den Vorgang bei der Bündelverkürzung kann man sich bei den am einfachsten gebauten Muskelformen in folgender Weise denken: Ein Muskel, bestehend aus dem Bauch und den beiden Sehnenenden, wird im Querschnitt durch den Bauch eine viel größere Anzahl von Fasern aufweisen, als an den Enden. Bei Zunahme der Dicke infolge der Kontraktion werden die an der Peripherie gelegenen Fasern nach auswärts gedrängt werden, wodurch natürlich die Enden zusammenschieben müssen. Prinzipiell unterscheidet sich demnach die Bündelverkürzung von der unter 1. und 2. besprochenen Fibrillenverkürzung nicht. Es handelt sich nur um eine makroskopische Wiederholung des mikroskopisch zu beobachtenden Vorganges. Wenn daher, gemäß dem von v. Fürth auf Seite 537 seines Referates angezogenen Beispiel B und B', Hürthle (a. a. O.) eine Fibrillenverkürzung von 5,3 auf 2  $\mu$ , d. h. von zirka 62% gemessen hat, so ist damit noch nicht die gesamte Verkürzung des Muskels gegeben, sondern diese wird erheblich größer sein. Zu den von v. Fürth unter Abbildung C dargestellten preßkuchen-

<sup>1)</sup> Vgl. Stöhr, Lehrbuch d. Histologie, 16. Aufl., S. 39. unter „umspinnende Fasern“.



artigen Gebilden wird es daher gar nicht kommen, weil das Maximum der Zusammenziehung einer viel geringeren Fibrillenverkürzung entspricht.

### III. Über das Vorkommen und die Bedeutung der Alkalialbuminate im Muskel.

Werden frische Muskeln eines entbluteten Tieres innerhalb weniger Minuten nach dem Tode des Tieres zerkleinert und durch Einwerfen in heißes Wasser ausgekocht, so läßt sich bei der Neutralisation des Filtrates ein flockiger Eiweißkörper ausfällen, der im Überschuß von Säure leicht löslich ist. Verwendet man jedoch einen Muskel, der bereits unter Säurebildung totenstarr geworden ist, so beobachtet man bei der Neutralisation des Kochextraktes diesen Eiweißniederschlag nicht mehr oder erst nach längerem Stehen, und dann nur in sehr geringen Mengen. Nach seinen Eigenschaften und in Analogie mit den im Blute, in der Milch und in den Getreidearten<sup>1)</sup> usw. vorkommenden Verbindungen ist diese extrahierbare Substanz als Kaliumalbuminat aufzufassen. Die Ursache, weshalb dieser Eiweißkörper nur aus den frischen und nicht aus den totenstarrten Muskeln in größeren Mengen extrahiert werden kann, ist in dessen Zersetzung innerhalb des Muskels durch die postmortal sich bildende Säure zu suchen. Die Eiweißkomponente dieser Albuminate wird dadurch innerhalb der Muskelfaser abgelagert und bildet eine der Erscheinungen in dem Komplex von Vorgängen, welche die Totenstarre<sup>2)</sup> verursachen. Setzt man dem totenstarrten, zerkleinerten Muskel vor der Extraktion mit heißem Wasser zirka 30 ccm  $\frac{n}{10}$ -Alkalibicarbonatlösung pro 100 g Muskel zu, so er scheint der Eiweißkörper wiederum im Extrakt. Dieses Verhalten, bei der Säurebildung abgeschieden zu werden, steht im Einklang mit der Anschauung W. Biedermanns a. a. O. S. 151, wonach der Vorgang der Muskelkontraktion unter Umständen von einer Ausfällung vorher gelöster Eiweißstoffe begleitet sein kann.

Das Vorkommen von Albuminaten im Muskel wurde bereits

<sup>1)</sup> Vgl. Abderhaldens Lehrbuch d. physiol. Chemie 3. Aufl. Bd. 1, S. 391.

<sup>2)</sup> Oppenheim und Wacker, Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 42, S. 990.

von Kühne<sup>1)</sup>, Haliburton<sup>2)</sup> und in anderer Weise auch von Röhmann<sup>3)</sup> beobachtet, später aber von Whitfield<sup>4)</sup> und von v. Fürth<sup>5)</sup> bestritten. Diese widersprechenden Angaben dürften in der Methode der Isolierung und der Schwierigkeit der Trennung einzelner Eiweißkörper aus vorhandenen Gemischen zu suchen sein. Die genannten Autoren stellten durch Auspressen der Muskeln ein Plasma her, das gemäß der angewandten Methode ein Gemisch der verschiedenartigsten Eiweißkörper darstellen muß. Bei dem Prozeß des Auspressens geben natürlich keine histologischen Einheiten, sondern alle in einem Muskel vereinigten Zellgebilde wie Bindegewebe, Blutgefäße usw. ihren Zellinhalt ab. Die Trennung von solchen Gemischen und die Isolierung von chemischen Individuen daraus ist sehr schwierig bzw. noch nicht erreicht worden. (Vgl. Abderhaldens Lehrb. d. physiol. Chemie, 3. Aufl. S. 385.) Geringe Unterschiede in der Arbeitsweise führen zu anderen Resultaten. Wenn also v. Fürth seine Muskeln ohne Kühlung ausgepreßt hat, während Kühne und Haliburton gefrorene Muskeln verwendeten, so kann der Unterschied in der Menge der postmortal gebildeten Säure die verschiedenen Resultate erklären. Bei der Arbeitsweise v. Fürths können die Albuminate durch die Säure zerlegt worden sein und sich dadurch der Beobachtung entzogen haben.

Die von mir eingeschlagene Methode der Isolierung der Albuminate durch Auskochen des frischen (alkalischen) Muskels entscheidet also die Frage zugunsten Kühnes und Haliburtons, Der Säugetiermuskel verhält sich demnach analog demjenigen der Fische und Frösche, die nach v. Fürth<sup>6)</sup> gleichfalls Albuminate enthalten.

Die Frage des Vorhandenseins von Kaliumalbuminaten im Muskel ist für die Erklärung mancher Vorgänge bei der Kontraktion und der Totenstarre von

<sup>1)</sup> Kühne, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1859. Myologische Untersuch. Leipzig 1860.

<sup>2)</sup> Haliburton, Journ. of Physiol. 8. 1887.

<sup>3)</sup> F. Röhmann, Arch. f. d. ges. Physiol. 50, 84. 1981. Vgl. Tigerstedt, Lehrbuch d. Physiologie 3. Aufl. Bd. II, S. 5. 1905.

<sup>4)</sup> Whitfield, Journ. of Physiol. 12. 1894.

<sup>5)</sup> v. Fürth, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol 36, 259. 1895.

<sup>6)</sup> v. Fürth, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 260—262. 1895.

prinzipieller Wichtigkeit, da das Kaliumalbuminat nach dem Eintritt des Todes infolge der Säurebildung zu einer Eiweißfällung im Muskel führt, die zu dessen Versteifung beiträgt, ja sogar während der Kontraktion kann es schon zu solchen Eiweißabscheidungen kommen. (Tonische Muskelkontraktion, W. Biedermann a. a. O. S. 151 und 152.) Die Gegenwart von Albuminaten verträgt sich daher nicht mit der Lehre von dem Zustandekommen der Totenstarre durch Eiweißquellung. Als Anhänger der letzteren Anschauung bezeichnet daher v. Fürth in seinem Referat a. a. O. S. 447 die von mir aus frischem Muskel isolierte Albuminateiweißkomponente als ein in der Hitze entstandenes Kunstprodukt. Dieser Auffassung muß ich entschieden entgegentreten, denn wenn es sich um ein solches handeln würde, so wäre nicht einzusehen, weshalb nicht auch der totenstarre Muskel beim Auskochen dasselbe Produkt liefert<sup>1)</sup>. Ferner werden genuine Eiweißkörper bekanntlich beim Kochen nicht in lösliche Spaltprodukte zerlegt, sondern sie koagulieren und denaturieren. Der schlagendste Beweis, daß Kaliumalbuminat vorhanden ist, liegt in der Abnahme der extrahierbaren Menge bei der Zunahme der Säure und umgekehrt. Die Vorgänge wurden beim Kaninchen und Hund eingehend studiert und die Resultate schematisch in Kurven dargestellt<sup>2)</sup>. Daraus geht unzweideutig hervor, daß die Alkaleszenzabnahmekurve analog der Kurve der extrahierten Eiweißkomponente verläuft. Auch nachstehende Tabelle zeigt die Abhängigkeit der Menge des extrahierbaren Kaliumalbuminates vom Stadium der postmortalen Säurebildung am Muskel verschiedener Kaninchen (siehe Biochem. Ztschr. 75, S. 120).

Wenn schon die angeführten Eigenschaften an dem Albuminatcharakter dieses Eiweißkörpers keinen Zweifel aufkommen lassen, so zeigt auch ein Vergleich mit den analogen Verbindungen aus Muskeln von Fischen und Fröschen die Richtigkeit des Gesagten. v. Fürth hat selbst einen als Myoproteid bezeichneten Eiweißkörper mit allen Eigenschaften der Albuminate aus Fischmuskeln hergestellt (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 260). Er hat dabei gekocht, ohne hinterher seine Produkte als durch

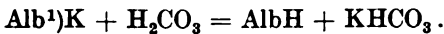
<sup>1)</sup> Vgl. dazu die übereinstimmende Beobachtung von Röhmann a. a. O. S. 94; ferner J. Mondschein, Diese Zeitschr. 42, 114. 1912.

<sup>2)</sup> L. Wacker, Diese Zeitschr. 75, 111, 112. 1916.

die Hitze entstandene Kunstprodukte zu bezeichnen, sondern deren Eiweißcharakter genau festgestellt. Der Erfolg beim Fischmuskel ist hauptsächlich auf dessen alkalische Reaktion, verursacht durch die Anwesenheit von Trimethylamin zurückzuführen, wodurch die Eiweißkomponente in Lösung gehalten wurde.

Alkalescenz pro 100 g Muskel ausgedrückt in $\frac{1}{100}$ -Säure	Albuminat-eiweiß in %	Mittel-zahlen	Acidität pro 100 g Muskel ausgedrückt in $\frac{1}{100}$ -Säure	Mittel-zahlen	Bemerkungen
52,0	0,98	0,98	38,7	38,7	Menge des bis zum Eintritt der Starre als Albuminat extrahierbaren Eiweißes 0,67%.
49,3	{0,88	0,84	{42,7	42,6	
45,3	{0,80		{42,6		
41,3	0,74	0,74	45,3	45,3	
38,7	0,42	0,42	50,7	50,7	
36,0	0,36	0,36	46,7	46,7	Menge des vom Eintritt der Starre bis zu deren Lösung als Albuminat extrahierbaren Eiweißes 0,12%.
30,7	{0,21	0,16	{60,0	60,9	
	{0,15		{60,0		
	{0,12		{62,7		
28,0	0,16	0,16	60,0	60,0	
25,3	0,05	0,05	61,3	61,3	
20,0	0,05	0,05	69,3	69,3	

Wie schon früher besprochen, tritt das Kaliumalbuminat im tierischen und pflanzlichen Organismus gleichzeitig mit Dikaliumphosphat und Kaliumbicarbonat auf und bildet einen Bestandteil der sog. „Puffersalze“, die gemäß Henderson (a. a. O. S. 316) die Neutralität der Gewebe aufrechterhalten. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß dem Kaliumalbuminat in Verbindung mit Dikaliumphosphat eine große Bedeutung beim reversiblen chemischen Regulationsmechanismus zur Abfuhr der Kohlensäure aus dem Muskel zukommt. Durch seine Eigenschaft, unter dem Einfluß der Kohlensäure in die Eiweißkomponente und Kaliumbicarbonat zu zerfallen, kann es als Sicherheitsventil gegen die Gefahr des Berstens der Zellen bei allzu hohem Kohlensäuredruck funktionieren, gemäß der Gleichung:



Es findet sich daher neben dem Kaliumphosphat im organischen Leben immer dort, wo Kohlensäure als Stoffwechselprodukt auftritt, z. B. im Blut, im Muskel und im keimenden Samen. (Siehe auch Abderhaldens Lehrb., 3. Aufl. S. 391 und 971.)

Erwähnt möge noch sein, daß die Asche des Kochextraktes des menschlichen Muskels 0,17% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> enthält. Diese Menge

<sup>1)</sup> Alb = Eiweißkomponente der Albuminate.

ist ziemlich konstant für die Asche des frischen, als auch des totenstarrten Muskels (Oppenheim und Wacker a. a. O.). Es ist denkbar, daß dieses Carbonat im frischen Muskel in Form von Kaliumalbuminat anwesend ist.

### Schlußbetrachtung.

Wie nachgewiesen wurde, zeigt die Lehre von der Muskelkontraktion durch Eiweißquellung in allen wichtigen Phasen schwerwiegende Mängel.

Die Quellung des Eiweißes soll durch freie Milchsäure erfolgen. Es läßt sich aber der zwingende Beweis erbringen, daß eine freie Säure im Muskel nicht existieren kann. Dies kann aus dem Verhalten des Kochextraktes sowohl, wie aus den Messungen der Wasserstoffionenkonzentration im Muskel geschlossen werden. Es führen also nach verschiedenen Methoden von verschiedenen Autoren gelieferte Beweise zu übereinstimmenden Resultaten. Die Gründe, die v. Fürth bestimmten, dennoch an eine Säurequellung zu glauben, lassen eine andere Deutung zu und führen teilweise zu Widersprüchen.

Ferner erklärt die Theorie den nächstwichtigen Vorgang der Erschlaffung ebensowenig wie denjenigen der Erholung und der anoxybiotischen Muskelarbeit.

Bei der Prüfung des Energiehaushaltes nach der Quellungstheorie ergab sich, daß der Muskel bezüglich des Kontraktionsvorganges eine chemodynamische, bezüglich der Erschlaffung eine thermodynamische Maschine sein würde. Die zur Erschlaffung notwendige Energie wäre annähernd gleich groß der Kontraktionsenergie. Der Muskel müßte demnach letzten Endes eine thermodynamische Maschine sein. Über die Bedenken, die gegen die Auffassung des Muskels als thermodynamische Maschine geltend gemacht worden sind, herrscht auch unter den Anhängern der Quellungstheorie nur eine Meinung.

Es ist nicht überraschend, daß eine Kontraktionstheorie, die den Abbau der Milchsäure bis zur Kohlensäure vernachlässigt, von vorneherein als aussichtslos erscheinen muß, denn die Milchsäure enthält noch 96% der zur Verfügung stehenden Energie. Die fortschreitende Erkenntnis deren chemischen Abbaues hat Tatsachen zutage gefördert, die uns der Wahrheit näher bringen werden.

# Über die Pepsinbestimmung in achylischen Probemahlzeiten mit besonderer Berücksichtigung der Adsorption von deren festen Teilen.

Von  
A. Norgaard.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Kopenhagen [Chef: Prof. Dr. Knud Faber].)

(Eingegangen am 14. April 1920.)

Bei den meisten quantitativen Pepsinbestimmungen im Mageninhalt muß man das Filtrat aus der Probemahlzeit zur Bestimmung benutzen, da die festen Teile der Probemahlzeit die Beobachtung von Farbentönen (z. B. Grützners Verfahren) oder Durchsichtigkeit (Gross', Liebmanns u. a. Verfahren) verhindern.

Da man a priori nicht wissen kann, wie das Pepsin sich zwischen Filtrat und disperser Phase verteilt, wird eine Untersuchung dieses Verteilungsverhältnisses vonnöten sein, wenn man von der Messung im Filtrate aus auf den Gesamtgehalt der Probemahlzeit an Pepsin schließen will.

Durch ein einziges Verfahren ist man imstande, die Pepsinmenge sowohl des filtrierten als des unfiltrierten Mageninhalts zu messen, und zwar durch Metts Verfahren. Bei diesem Verfahren mißt man, wie lang die Säule ist, die von einer in einem Hahrrohrchen koagulierten Eiweißlösung verdaut wird, nachdem man das Röhrchen 24 Stunden mit 1 Teil Probemahlzeit und 15 Teilen  $\frac{1}{33}$ -Salzsäure bei  $37^{\circ}$  hat stehen lassen.

Bei den Versuchen wurde stets die Ewaldsche Probemahlzeit benutzt; die Mettschen Röhrchen waren standardisiert [ad modum Johanne Christiansen]<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 46, 257. 1912.

Ein Vergleich des Befundes in den Filtraten mit den entsprechenden Befunden aus der unfiltrierten Probemahlzeit einer großen Reihe von Fällen ergab dieselben Werte in Probemahlzeit und Filtrat, falls die Probemahlzeit die normale Säurezahl aufwies oder Hyperacidität vorlag. Zum Beispiel:

Tabelle A.

Unfiltriert:	8,5	9,1	9,1	11,2	9,8	8,2	7,5	9,3	9,2	12,0
Filtriert:	8,3	11,5	9,2	10,9	9,7	9,5	8,6	10,4	9,1	11,5.

(Unfiltriert durchschnittlich 9,39. Filtriert durchschnittlich 9,87.)

Ganz anders verhält es sich, wenn die Probemahlzeit vor der Filtration achylisch war. Zum Beispiel:

Tabelle B.

Unfiltriert:	6,0	3,0	4,3	4,9	5,4	1,3	5,5	1,0	7,1	8,8
Filtriert:	0	0	0	0	0	0	0,2	0,2	0,5	2,5.

Das Filtrat wird bei den achylischen Probemahlzeiten nur einen Bruchteil der in der Probemahlzeit vorhandenen Pepsinmengen enthalten; oft ist das Filtrat apeptisch, obgleich die Probemahlzeit eine nicht geringe Menge Pepsin enthält<sup>1)</sup>.

Der Grund dazu ist in dem Umstand zu suchen, daß das Pepsin in der Probemahlzeit gleichmäßig verteilt ist, falls die Acidität eine gewisse Grenze übertrifft; sinkt die Acidität unter diese Grenze hinab, wird das Pepsin an die aufgeschlämmten Teile gebunden, und das Filtrat wird dann mehr oder minder pepsinfrei.

Daß dies richtig sein muß, läßt sich leicht durch Versuche dartun. Macht man die achylische Probemahlzeit sauer und läßt man darauf eine gewisse Zeit (etwa 1 Stunde) verstreichen, wird man bei der Filtration ein Filtrat erhalten, das dieselbe Menge Pepsin enthält wie die Probemahlzeit. Zum Beispiel:

<sup>1)</sup> So ergab eine Untersuchung von 55 achylischen Probemahlzeiten folgendes Resultat:

Werte nach Mett	0	0-1	1,1-2	2,1-3	3,1-4	4,1-5	5,1-10	> 10	Total
Filtrierte Probemahlz.	23	12	7	7	3	2	1	0	55
Unfiltrierte Probemahlz.	0	7	8	9	3	7	20	1	55

Tabelle C.

Unfiltriert :	6,6	7,1	8,8	6,0	7,0	6,1	4,9	3,0	3,1
Natives Filtrat:	0,4	0,5	2,5	0	2,5	0,8	0	0	0
Saures Filtrat:	6,7	6,8	9,8	5,5	7,5	4,5	4,8	2,6	2,3.

Daraus erhellt, daß die Salzsäure des Ventrikels nicht nur dadurch von Bedeutung ist, daß sie der Fermentwirkung ein passendes saures Milieu verschafft, sondern zugleich zur Befreiung des Pepsins von den aufgeschlammten Teilen beiträgt, die zwar Pepsin binden, aber zu ihrem Abbau kein Pepsin erfordern; dadurch wird der therapeutische Nutzen einer Dosierung von Salzsäure verständlich.

Sucht man Klarheit zu gewinnen über die Lage des Punktes, bei dem der Absorptionsumschlag stattfindet, so zeigt es sich bei Betrachtung der Säurezahlen der bezüglichen Probemahlzeiten, daß alles Pepsin freigemacht ist in den Fällen, wo Boas' (Günzburgs) Reaktion positiv ist, und in den meisten von den Fällen, wo das Kongopapier blaue Farbe annimmt. Was den Alizarinumschlag betrifft — Alizarin ergibt Farbumschlag beim Neutralpunkt — zeigt es sich, daß die Absorptionerscheinungen sich nur bei Alizarin zahlen unter 25 nachweisen lassen, — Titration in gewöhnlicher Weise mit  $\frac{1}{10}$ -NaOH. Die Grenzen sind jedoch nicht scharf. Der Grund dazu ist u. a. in dem Umstand zu suchen, daß eine gewisse Menge Pepsin in Lösung treten kann, wo die aufgeschlammten Teile mit Pepsin gesättigt sind, wie es der Fall sein wird, 1. wo die vorhandene Pepsinmenge eine sehr reichliche ist oder 2. die Menge der aufgeschlammten Teile eine sehr spärliche ist.

1. Wenn man zu Proben derselben achylischen Probemahlzeit zunehmende Mengen von Pepsin setzt und das Resultat untersucht, zeigt es sich, daß man kleine Mengen Pepsin zusetzen kann, ohne daß das Filtrat Pepsin enthalten wird; übertreffen aber die zugesetzten Pepsinmengen eine gewisse Grenze, steigert sich der Pepsingehalt sowohl der Probemahlzeit als des Filtrats. Zum Beispiel:

Tabelle D.

Unfiltriert:	1,6	1,9	2,7	3,7
Filtriert:	0	0	1,3	1,6.

Der Zusatz muß unter gewissen Kautelen stattfinden, da die verschiedenen Pepsinpräparate (Brückner, Langebeck, Ar-



mour) an und für sich so sauer sind, daß sie auf Kongopapier reagieren.

2. Die Zahlen der Tabelle B zeigen, daß sich im Filtrat bald wenig, bald kein Pepsin findet. Weder die absoluten Pepsinmengen (die Pepsinmenge der unfiltrierten Probemahlzeit) noch die Säurezahlen offenbaren, ob Pepsin in das Filtrat hinübergeht oder nicht. Vergleicht man aber die im Filtrate gefundenen Resultate mit einem Moment, „dem gesamten Bodensatz“, einem hier in der Klinik bestimmten Wert<sup>1)</sup>, so sieht man, daß die Pepsinzahl 0 vorliegt, wo „der gesamte Bodensatz“ groß ist, während ein wenig Pepsin in das Filtrat hinübergeht, wenn das genannte Moment klein ist. Es ist klar, daß die Möglichkeit einer Adsorption des gesamten Pepsins um so größer ist, je mehr aufgeschlämmte Teile (gesamte Bodensatz) in der Probemahlzeit vorhanden sind; je weniger aufgeschlämmte Teile sich darin finden, um so größer ist die Möglichkeit eines Verbleibens eines Teils des Pepsins in der Lösung.

Diese Untersuchungen ergeben, daß man bei den früher angestellten klinischen Untersuchungen über den Pepsingehalt von Probemahlzeiten, bei denen das Filtrat nicht von mindestens einer Stunde zuvor sauergemachter Probemahlzeit herrührt, nur bei denjenigen Probemahlzeiten richtige Werte erhalten hat, die eine normale oder eine vermehrte Säuremenge enthielten, während man bei achylischen Probemahlzeiten zu geringe Werte der Pepsinmenge erhalten hat.

So fand ich bei der Untersuchung von 70 achylischen Probemahlzeiten nie eine vollständige Apepsie, wenn die Pepsinmenge auch oft bedeutend herabgesetzt war.

Diese Untersuchungen eröffnen ferner die Möglichkeit, daß der unter dem Namen Pepsinogen oder Propepsin angenommene Stoff nichts anderes ist, als durch Adsorption an die Zellen der Schleimhaut gebundenes Pepsin — wenn sie dies auch nicht geradezu beweisen. Die Behandlung mit Salzsäure ist daher nicht eine Aktivierung im gewöhnlichen Sinne dieses Wortes, sondern

<sup>1)</sup> „Der gesamte Bodensatz“, normaliter etwa 40 ccm, bezeichnet die Anzahl Kubikzentimeter, die Bodensatz in einem Meßglas ausmacht, wenn die Probemahlzeit und das Spülwasser nebst Wasser bis zur Marke 500 darein getan sind. Das Ablesen findet nach 24 Stunden statt.

eine einfache Aufhebung einer Adsorption in einem alkalischen Medium.

#### Zusammenfassung.

1. In achylischen Probemahlzeiten geht das Filtrat pepsinfrei oder pepsinarm durch das Filter, weil das Pepsin an die festen Teile gebunden ist. Dies Binden findet nicht statt bei normalen oder gesteigerten Säurezahlen.

2. Die aufgeschlängten Teile können nur eine gewisse Menge Pepsin aufnehmen. Der Überschuß geht in das Filtrat über, was von Bedeutung ist, wenn bei achylischen Probemahlzeiten entweder viel Pepsin oder wenig aufgeschlängte Teile vorhanden sind.

3. Pepsinogen ist möglicherweise dasselbe wie adsorbiertes Pepsin.

4. Bei klinischen Pepsinbestimmungen ist Metts Verfahren zu benutzen und mit unfiltrierten Probemahlzeiten zu arbeiten.

# Über die Stabilität der $\alpha$ -Glucose.

Von

Hans v. Euler und Arvid Hedellus.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 16. April 1920.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die vorliegende Untersuchung ist, wie eine ähnliche von Euler und Laurin<sup>1)</sup>, durch neuere Ergebnisse veranlaßt, welche über den Temperaturkoeffizienten der Inaktivierung der Saccharase gewonnen worden sind.

Berechnet man den Temperatureinfluß auf die Inaktivierung der Saccharase nach der Arrheniusschen Formel

$$k_2 = k_1 e^{\frac{A(T_1 - T_2)}{2T_1 T_2}},$$

so findet man für die Konstante  $A$  den Wert 101 000. Temperaturkoeffizienten von dieser Größe sind bis jetzt bei chemischen Reaktionen — mit Ausnahme der Hitzeokoagulation der Proteine — nicht bekannt; die bis jetzt ermittelten  $A$ -Werte liegen im allgemeinen zwischen 10 000 und 30 000, diejenigen der enzymatischen Reaktionen noch niedriger (etwa 5000 bis 10 000).

Um eine Einsicht in den Chemismus der Enzyminaktivierung zu gewinnen, ist es wünschenswert zu erfahren, welche Reaktionen Temperaturkoeffizienten von der gleichen Größe wie die Enzyminaktivierungen besitzen<sup>2)</sup>.

Nun hatten Euler und Laurin<sup>3)</sup> beim Studium der Saccharaseinaktivierung gefunden, daß der Temperaturkoeffizient dieses Vorganges bei der Acidität von etwa  $0,00003 n \cdot H'$  oder  $p_H = 4,5$  ein ausgeprägtes Maximum der Stabilität aufweist, wie aus folgendem Auszug aus einer Tabelle der genannten Arbeit hervorgeht.

<sup>1)</sup> Euler und Laurin, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 7, Nr. 32. 1920.

<sup>2)</sup> Siehe hierzu auch Euler und af Ugglas, Zeitschr. f. physiol. Chemie 65, 124. 1910.

<sup>3)</sup> Euler und Laurin, Zeitschr. f. physiol. Chemie 108, 64. 1919.

Acidität $p_H$	$A$
3,0 . . . . .	75 000
4,5 . . . . .	101 000
5,2 . . . . .	87 000
5,7 . . . . .	53 000.

Dieses Maximum des Temperaturkoeffizienten fällt fast vollkommen mit dem Aciditätsmaximum der Stabilität der Saccharase und mit dem isoelektrischen Punkt dieses Enzyms zusammen.

Es war nun die Vermutung naheliegend, daß auch bei anderen und zwar chemisch bekannten Stoffen der Temperaturkoeffizient der Umwandlungs- bzw. Spaltungsgeschwindigkeit sich mit der Acidität ändern und bei der Acidität der größten Stabilität der Substanz ein Maximum erreichen würde.

Wir untersuchten deshalb, ob sich bei der Umlagerung der  $\alpha$ -Glucose in wässriger Lösung (Mutarotation) ein Maximum des Temperaturkoeffizienten beim Maximum der Stabilität zeigt.

Hierzu war es zunächst notwendig, das Aciditätsmaximum der Stabilität der gelösten  $\alpha$ -Glucose zu ermitteln, also festzustellen, in welcher Weise die Mutarotation der  $\alpha$ -Glucose von der Konzentration der  $H'$  bzw.  $HO'$ -Ionen abhängt.

### I. Frühere Arbeiten.

Außer den älteren Arbeiten von Urech<sup>1)</sup>, Levy<sup>2)</sup> und Trey<sup>3)</sup> sind hier besonders die Untersuchungen von Y. Osaka<sup>4)</sup> und von C. S. Hudson<sup>5)</sup> zu erwähnen.

Die beiden letztgenannten Autoren haben sich mit dem Einfluß der Acidität auf die Birotation der Glucose beschäftigt. Bekanntlich wird der Rückgang der Rotation der Glucose sowohl von Säuren als von Alkalien stark beschleunigt, und zwar durch letztere noch viel mehr als durch erstere.

C. S. Hudson hat seine und Osakas Ergebnisse in einer Formel zusammengefaßt, welche die Umwandlungsgeschwindigkeit der Glucose in ihrer Abhängigkeit von Wasserstoff- und Hydroxylionen darstellen soll. Die Formel gilt für 25° und lautet:

$$k = 0,0096 + 0,258 H' + 9750 HO'.$$

1) Urech, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **17**, 1547. 1884.

2) Levy, Zeitschr. f. physikal. Chemie **17**, 301. 1895.

3) Trey, Zeitschr. f. physikal. Chemie **22**, 424. 1897.

4) Osaka, Zeitschr. f. physikal. Chemie **35**, 661. 1900 und Mem. Coll. Science Kyoto Univ. **1**, 304. 1908.

5) Hudson, Journ. Amer. Chem. Soc. **29**, 1571. 1907.

Nehmen wir für diese Temperatur das Ionenprodukt des Wassers zu  $1,20 \cdot 10^{-14}$  an, so erhalten wir aus obiger Formel folgende Werte:

$p_H$	$k \cdot 10^{-5}$
2 . . . . .	1218
3 . . . . .	986
4 . . . . .	962,7
4,6 . . . . .	961 (Maximum d. Stabilität)
5 . . . . .	961,25
6 . . . . .	971,7
7 . . . . .	1077

Das Maximum der Stabilität bzw. das Minimum von  $k$  würde der Formel gemäß also bei  $p_H = 4,6$  oder bei  $H^+ = 2,5 \cdot 10^{-5}$  liegen.

Außerdem können noch folgende Daten in Betracht gezogen werden:

Nach Trey wird  $k$  durch 0,1 n-Essigsäure ( $p_H = 2,9$ ) verkleinert und nach Osaka tritt wenigstens in 0,03 n-Essigsäure ( $p_H = 3,17$ ) keine Beschleunigung ein, dagegen eine Verzögerung bei 0,0066 n-Essigsäure ( $p_H = 3,5$ ) und bei 0,0033 n-Bernsteinsäure ( $p_H = 3,3$ ). Diese letzteren Daten deuten schon darauf hin, daß die Acidität der maximalen Stabilität etwas größer ist, als sich aus der Hudsonschen Formel ergibt.

Weder Hudson noch Osaka hat die Acidität der Lösungen direkt gemessen, sondern sie haben nur den Titer der Natronlauge bzw. Salzsäure ermittelt und daraus die  $H^+$ -Konzentration abgeleitet. Auf diese Weise gelangt man bei Aciditäten, welche größer als 0,001 n-HCl, und bei Alkalinitäten, welche größer als 0,001 n-NaOH sind zwar zu angenähert richtigen Werten, aber gerade im interessantesten Gebiet, zwischen  $p_H = 3$  bis 8 wird die  $H^+$ -Bestimmung aus der Titrationsacidität viel zu ungenau.

Es waren daher in diesem Gebiet neue Messungen notwendig.

## II. Experimentelles.

Die meisten Versuche sind bei  $20^\circ$  ausgeführt; daher haben wir zu jedem Versuch 2 g reinste Glucose (Kahlbaum) genau abgewogen und in 20 ccm Wasser gelöst, welches auf genau  $20^\circ$  vorgewärmt worden war. Die Auflösung wurde möglichst beschleunigt und sobald dieselbe vollzogen war, wurde die Haupt-

menge der Lösung in ein 1 dm-Polarisationsrohr eingeführt, welches mit Wassermantel und oberer Öffnung zum Einführen des Thermometers versehen war. Während des ganzen Versuches wurde der Mantel von 20grädigem Wasser durchspült. Unmittelbar nach dem Einfüllen wurde die erste Ablesung der Drehung im Polarisationsapparat gemacht. Die durchspülte Röhre verblieb während der Dauer des Versuches auf dem Polarisationsapparat; in geeigneten Zeitabständen wurden die Drehungen abgelesen, welche dann nach der Formel für monomolekulare Reaktionen, deren Gültigkeit für die vorliegende Reaktion schon von Urech festgestellt worden war, berechnet wurden.

Da es galt, die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Acidität genau festzulegen, so wurde mit „Puffern“ gearbeitet, und die Glucose wurde also nicht in reinem Wasser sondern in den Pufferlösungen aufgelöst.

Diese Pufferlösung wurde hergestellt, indem 0,10 n-HCl und 0,10 n-Natriumcitratlösung in wechselnden Mengenverhältnissen gemischt wurden. Da die Glucose selbst eine schwache Säure ist, wurde die Acidität in den Pufferlösungen erst nach Zugabe der Glucose gemessen. Die Bestimmungen geschahen elektrometrisch nach Sørensen und Michaelis. Der  $p_H$ -Wert der 0,10 n-HCl

## Versuche.

## A. Die Reaktion bei 20°. Puffer 0,1-molar.

$p_H$	Min.	Drehung in Graden	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
4,88	0	9,23	—	130
	11	7,97	134	
	23	7,05	120	
	36	6,35	129	
	51	5,83	127	
	$\infty$	4,84	—	
4,28	1	9,02	—	90
	14	7,90	88	
	30	7,12	88	
	45	6,41	94	
	62	5,90	96	
	$\infty$	4,84	—	
4,08	0	9,28	—	87
	7	8,60	86	
	20	7,82	87	
	30	7,27	87	
	50	6,44	88	
	$\infty$	4,84	—	

$p_H$	Min.	Drehung in Graden	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
3,34	0	9,34	—	78
	13	8,40	78	
	25	7,73	77	
	40	7,05	77	
	63	6,26	80	
	$\infty$	4,84	—	
3,08	0	9,55	—	77
	10	8,76	80	
	26	7,82	76	
	47	6,87	78	
	75	6,04	79	
	100	5,60	74	
$\infty$	4,84	—		
2,66	0	9,56	—	81
	11	8,68	82	
	24	7,87	80	
	36	7,26	81	
	65	6,25	81	
	$\infty$	4,84	—	
2,04	0	9,05	—	95
	8	8,38	95	
	29	7,07	95	
	45	6,37	98	
	75	5,71	91	
	105	5,29	94	
$\infty$	4,84	—		
1,02	0	8,65	—	200
	12	6,63	—	
	25	5,81	230	
	$\infty$	4,84	190	

## B. Reaktion bei 20°. Puffer 0,01-molar.

4,96 (Sek. Citrat)	6	10,21	—	72,8
	25	8,45	73,5	
	29	8,25	72,8	
	35	7,97	72,0	
	45	7,51	72,9	
3,43 (HCl + sek. Citrat)	0	9,90	—	67,4
	10	9,22	67,0	
	20	8,65	65,8	
	30	8,10	68,4	
	40	7,67	68,4	
2,54 (HCl + sek. Citrat)	0	9,88	—	72,0
	25	8,28	71,0	
	30	8,00	72,8	
	35	7,78	72,4	
	40	7,58	71,8	
1,75 (HCl, etwa 0,01-n.)	0	9,90	—	87,2
	25	8,08	87,2	
	40	7,27	86,7	
	45	7,05	87,6	

## C. Reaktion bei 20°. Wechselnde Konz. des Puffers (sek. Citrat).

$p_H$	Min.	Drehung in Graden	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
4,87 Sek. Citrat 0,05-mol.	0	8,94	—	} 107
	10	8,11	107	
	20	7,45	107	
	25	7,21	105	
	30	7,00	103	
4,80 Sek. Citrat 0,02-mol.	0	9,26	—	} 179
	10	7,89	175	
	15	7,31	185	
	20	6,80	184	
	25	6,59	180	

## D. Reaktion bei 20°. Glucoselösung in destill. Wasser.

4,93	0	9,48	—	} 72,2
	10	8,80	74,0	
	20	8,25	72,0	
	30	7,79	71,0	
	45	7,15	73,8	

## E. Reaktion bei 12°. Pufferlösung wie bei A.

3,34	0	9,40	—	} 31
	28	8,56	32	
	85	7,37	30	
	149	6,44	31	
	$\infty$	4,84	—	

## F. Reaktion bei 20°. 0,1-molar Alanin.

$p_H$	Drehung in Graden	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
0	4,60	—	} 75,5
35	2,50	74,5	
40	2,27	77	
45	2,13	74,5	
50	1,92	76	
55	1,77	75,5	
60	1,61	76	

betrug etwa 1, derjenige der 0,10 n-Natriumcitratlösung etwa 5, so daß durch die Mischung der beiden Lösungen der hier näher zu untersuchende Aciditätsbereich umfaßt wurde.

Die Anwendung von Puffern führte den Nachteil mit sich, daß die zu untersuchenden Lösungen Salze enthielten, welche die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflussen. Gerade bei der Umwandlung der Glucose ist die Wirkung geringer Salzkonzentrationen besonders stark. Wie schon Trey beobachtet hat, tritt hier durch geringe Konzentrationen von NaCl eine Beschleunigung



der Mutarotation ein, bei größeren Konzentrationen<sup>1)</sup> eine Verzögerung. In einer besonderen Versuchsreihe haben wir deshalb die Konzentrationsfunktion unseres Puffergemisches festgestellt und auf die Konzentration 0 zu extrapolieren versucht.

### Besprechung.

Wir stellen nun zunächst die bei 20° mit 0,100- und 0,010-molarer Pufferlösung erhaltenen Ergebnisse graphisch in der Abb. 1 zusammen.

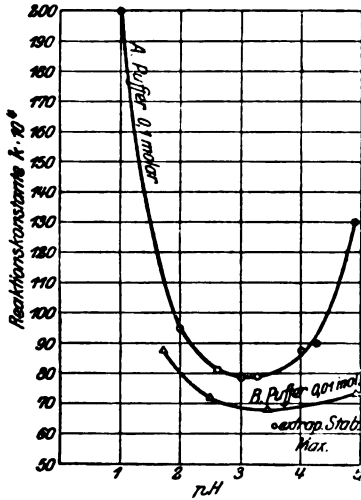


Abb. 1.

Abb. 1 zusammen.

Zunächst sehen wir unmittelbar, daß das Maximum der Stabilität bei größerer Acidität liegt, als nach den Versuchen und der Formel von Hudson und Osaka. In der 0,01-molaren Pufferlösung liegt das Maximum etwa bei  $p_H = 3,5$ ; eine Extrapolation auf die Pufferkonzentration 0 würde etwa den Wert  $p_H = 3,6$  ergeben. In der 0,10-molaren Pufferlösung ist das Maximum etwas gegen die saure Seite hin verschoben worden ( $p_H = 3$ ). Ferner ist das Maxi-

imum in der konzentrierteren Pufferlösung sehr viel ausgeprägter.

Extrapolieren wir auf die Pufferkonzentration 0, so ergibt sich als Acidität des Stabilitätsmaximums

$$p_H = 3,6 \pm 0,2.$$

Hiermit lassen sich die eingangs erwähnten Beobachtungen von Osaka über den Einfluß von 0,03 n-Essigsäure ( $p_H = 3,17$ ) gut vereinbaren.

Was dann die absoluten Werte unserer Konstanten und die Übereinstimmung mit früheren Versuchen betrifft, so ist zunächst zu bemerken, daß Osaka und Hudson für die reine Glucoselösung den Wert  $p_H = 7$ , mit anderen Worten vollkommene Neutralität, stillschweigend angenommen haben. Dies trifft nun

<sup>1)</sup> Die Angaben über die Grenzen dieser beiden entgegengesetzten Wirkungen sind unsicher; sie dürften bei etwa 0,2 n-NaCl liegen. Siehe hierzu auch Osaka, l. c. Zeitschr. f. physikal. Chemie, S. 705.

aber nicht zu, vielmehr zeigt eine Glucoselösung in destilliertem Wasser von gewöhnlicher Qualität (mit dem normalen Gehalt an  $\text{CO}_2$ ) recht konstant den Aciditätswert  $p_{\text{H}} = 4,8 - 5,0$ . Gehen wir davon aus, daß die in früheren Untersuchungen — auch denen von Euler und af Ugglas — mit destilliertem Wasser ausgeführten Versuche bei der mittleren Acidität  $p_{\text{H}} = 4,9$  bis  $5,0$  angestellt waren, so finden wir eine recht befriedigende Übereinstimmung mit den früheren Ergebnissen.

Vermittels der Zusammenstellung in der Abb. 2 können wir nämlich bei dieser Acidität auf die Pufferkonzentration 0 extrapolieren<sup>1)</sup>. Wir erhalten dann für die Temperatur  $20^\circ$

$$k \cdot 10^4 = 66.$$

Es ist dies genau der Wert, welchen Osaka für die wässrige Glucoselösung bei dieser Temperatur angibt (Mem. Coll. Science 1, S. 306). Reduzieren wir den von Hudson angenommenen Wert 106 von  $25^\circ$  auf  $20^\circ$  mit dem von Osaka und von Euler und af Ugglas festgestellten Temperaturkoeffizienten, so finden wir den Wert 65. Euler und af Ugglas geben den Wert 64 an.

Aus den in den Abb. 1 und 2 enthaltenen Zahlen können wir schließlich für das Maximum der Stabilität ( $p_{\text{H}} = 3,4 - 3,8$ ) und die Temperatur  $20^\circ$  die Konstante  $k \cdot 10^4 = 63$  extrapolieren.

Dies steht wiederum in recht guter Übereinstimmung mit der Zahl, welche man erhält, wenn man Hudsons Minimumwert 98 auf  $20^\circ$  reduziert.

Nimmt man, wie dies Euler und Laurin (l. c.) bei einer ähnlichen Untersuchung des Äthylacetats getan haben, an, daß das Stabilitätsmaximum des untersuchten Substrates dem iso-

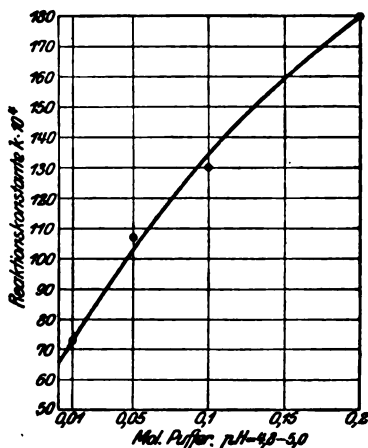


Abb. 2.

<sup>1)</sup> Aus der Abb. 2 geht hervor, daß sich im vorliegenden Fall die Neutralsalzwirkung innerhalb des untersuchten  $p_{\text{H}}$ -Gebietes recht erheblich ändert. Die Kurve bedarf indessen noch einer weiteren Bearbeitung.

elektrischen Punkt desselben entspricht,<sup>1)</sup> so erhält man, unter der Voraussetzung, daß die Acidität der Glucose sich bei der Mutarotation nur wenig ändert, und daß man also den für Glucose mehrfach, zuletzt von Michaelis<sup>2)</sup>, festgestellten Wert  $6,6 \cdot 10^{-18}$  ( $18^\circ$ ) hier anwenden kann, die Gleichung

$$[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_a}{K_b} K_w} = 2,2 \cdot 10^{-4} = \sqrt{\frac{6,6 \cdot 10^{-18}}{K_b} \cdot 0,73 \cdot 10^{-14}}$$

und somit  $K_b = 10^{-19}$ . Wie bei der Berechnung des entsprechenden Wertes für Äthylacetat kann es sich einstweilen nur um die Festlegung der Größenordnung ( $10^{-18}$  bis  $10^{-20}$ ) handeln.

Was schließlich den Temperaturkoeffizienten der Reaktion beim Stabilitätsoptimum betrifft, so ergibt eine Berechnung der Konstanten  $A$  der Arrheniusschen Temperaturformel den Wert

$$A = 19\,300,$$

also nur wenig höher, als für etwa  $p_{\text{H}} = 5$  gefunden wird.

Aus den Daten von Osaka berechnen wir nämlich  $A = 17500$ , während Euler und Ugglass aus ihren eigenen Messungen den Wert  $A = 17\,340$  fanden.

Es liegt also hier keine annähernd so starke Abhängigkeit der Konstanten  $A$  von der Acidität vor, wie bei der Saccharase. Bis jetzt zeigt also nur die Hitzekoagulation der Proteine<sup>3)</sup> einen Temperaturkoeffizienten von ähnlicher Größe wie die Temperaturinaktivierung der Enzyme.

Was hingegen die absolute Größe der Reaktionsgeschwindigkeit bei der Acidität der größten Beständigkeit angeht, so ist etwa bei  $40^\circ$  die  $\alpha$ -Glucose weit instabiler als die Saccharase, wie folgende abgerundete Konstanten zeigen:

$$\text{Saccharase } 40^\circ \quad k \cdot 10^4 = 0,004$$

$$\alpha\text{-Glucose } 40^\circ \quad k \cdot 10^4 = 500$$

Erst bei sehr hohen Temperaturen würde Saccharase schneller umgewandelt werden als  $\alpha$ -Glucose.

<sup>1)</sup> Der hier gefundene Einfluß der Neutralsalze auf das Stabilitätsmaximum gibt uns zu einer Untersuchung Veranlassung, ob nicht die „Neutralsalzwirkung“ bei Hydrolysen auf eine Beeinflussung des isoelektrischen Punktes zurückzuführen ist.

<sup>2)</sup> Michaelis, Diese Zeitschr. **65**, 360. 1914.

<sup>3)</sup> Chick u. Martin, Journ. of Physiol. **40**, 404. 1910.





# 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

unter Mitwirkung von

**M. Ascoli**-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-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. Landolf**-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. Melsenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Paull**-Wien, **R. Pfeffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **A. Scheunert**-Berlin, **N. Sieber**-St. Petersburg, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Liestal, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wlechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

**C. Neuberg**-Berlin

Hundertundsiebenter Band

Viertes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 2. August 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

MEDICAL CENT  
JAN 2 19  
San Francisco

# Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 40.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

*In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.*

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,  
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,  
zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.

## Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

107. Band.	Inhaltsverzeichnis.	4., 5. u. 6. Heft.
		Seite
<b>Weszecky, Oskar.</b>	Untersuchungen über die gruppenweise Hämagglutination beim Menschen . . . . .	156
<b>Windisch, Wilhelm, Wilhelm Henneberg und Walther Dietrich.</b>	Über die Einwirkung oberflächenaktiver Nonylsäure und einiger oberflächenaktiver höherer Homologe der Alkoholreihe (Amylalkohol und Oktylalkohol) auf die Hefezelle und die Gärung . . . . .	172
<b>Salkowski, E.</b>	Über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens . . . . .	191
<b>Hartwich, G.</b>	Eine neue Methode quantitativer Brom-Bestimmung . . . . .	202
<b>Doerr, R.</b>	Zur Oligodynamie des Silbers. (II. Mitteilung) . . . . .	207
<b>Walbum, L. E.</b>	Über die Wasserstoffionenkonzentration einiger Standardlösungen bei verschiedenen Temperaturen . . . . .	219
<b>Ege, Rich.</b>	Über die Restreduktion des Blutes. (Zur Physiologie des Blutzuckers. III) . . . . .	229
<b>Ege, Rich.</b>	Zur Frage der Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Glucose und Anelektrolyten . . . . .	246
<b>Hagedorn, H. C.</b>	Einige Bemerkungen über die Verteilung der Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma . . . . .	248
<b>Gad Andresen, K. L.</b>	Über die Verteilung der Reststickstoffkörper auf Plasma und Körperchen im strömenden Blute . . . . .	250
<b>Warburg, E. J.</b>	Einige Bemerkungen über die Verteilung von Anionen zwischen Blutkörpern und Plasma . . . . .	252
<b>Schweitzer.</b>	Haben Aminosäuren schlechthin Secretincharakter? . . . . .	256
<b>Herzfeld, E. und R. Klinger.</b>	Zur Chemie der Polysaccharide. Reindarstellung von Polysacchariden. — Die Jodreaktion. — Die Wirkungsweise der diastatischen Fermente und die Dextrinstufe der Polysaccharide . . . . .	268
<b>Traube, J.</b>	Über die Bedeutung der Magen-Salzsäure und Bemerkungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in den biologischen Wissenschaften . . . . .	295
<b>Joachimoglu, Georg.</b>	Zur Pharmakologie des Selens und Tellurs. I. Mitteilung. Die Wirkung ihrer Säuren auf Bakterien . . . . .	300
	Autorenverzeichnis: . . . . .	313

# Untersuchungen über die gruppenweise Hämagglutination beim Menschen.

Von  
Oskar Weszeczky.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität in Debreczen.)

(Eingegangen am 16. April 1920.)

Die Untersuchung der Isohämagglutinine des menschlichen Blutserums, das heißt seiner Fähigkeit die Blutkörperchen von anderen Menschen zu agglutinieren, hat neuerdings sehr an Bedeutung gewonnen.

Isoagglutinine wurden im menschlichen Blutserum zuerst von Landsteiner<sup>1)</sup> gefunden (1900). Bald überzeugte er sich, daß die Isohämagglutinine mit irgendwelchen Krankheiten nicht zusammenhängen. Landsteiner<sup>2)</sup> hat bereits ausdrücklich mittels der Isoagglutinine 4 Typen des Menschenblutes feststellen können (1901, 1905, 1909). Später haben dann v. Dungern und Hirschfeld<sup>3)</sup> die gruppenspezifischen Strukturen des Blutes studiert. v. Dungern bestätigte ebenfalls diese 4 Gruppen und bestimmte ihre Häufigkeit. Dabei gaben die Autoren an, mit anderen Methoden Anhaltspunkte für noch weitere Unterschiede bekommen zu haben. Kurz darauf fand Moss<sup>4)</sup> in Baltimore (USA) ganz ähnliche Zahlen.

Die einleitend erwähnte praktische Bedeutung haben die Untersuchungen auf Isohämagglutinine neuerdings besonders in Nordamerika gewonnen, wobei man von dem Satz ausging, daß, wenn im Blute keine Isohämagglutinine enthalten sind, dann auch keine Isohämolysine vorhanden sind (Moss). Deshalb darf

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. Bakt. 27, 361. Wiener. klin. Wochenschr. 1901; 46. Zentralbl. f. Bakt. 38, 548 (mit Leiner).

<sup>2)</sup> Oppenheimers Handb. 1909, II, 1, 407—414. S. dort auch die weitere Literatur.

<sup>3)</sup> Münch. med. Wochenschr. 1910; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4, 531. 1909; 6, 284. 1910; 8, 526. 1911.

<sup>4)</sup> Folia serologica 1910, 267, V. Moss zitiert auch Jansky, der ebenso gruppierte.



nur bei solchen Personen Transfusion vorgenommen werden, bei welchen konstatiert ist, daß sie gegenseitig keine Hämagglutinine enthalten. Nun ist zwar diese Regel nicht ganz einwandfrei; wir besitzen schon ältere Angaben, wonach der Gehalt an Hämolysin nicht immer parallel geht mit dem an Hämagglutinin; praktisch scheinen aber solche Ausnahmen nicht in Betracht zu kommen.

Man hatte früher oft schlechte Erfahrungen mit Bluttransfusionen von Mensch auf Mensch, jedenfalls deshalb weil es dabei zu Hämolyse kam, durch Isohämolysine des Empfängers oder Gebers. Läßt sich nun durch eine einfache rasche Methode im voraus bestimmen, ob diese Gefahr nicht besteht, so gewinnt dadurch die Indikation von Transfusionen sehr (Moss, Ottenberg u. a.). In der nordamerikanischen Armee ging man deshalb bereits so weit, daß man massenhaft die Zugehörigkeit zu einer Blutgruppe bestimmte, um bei schweren Verwundungen gleich solche Individuen zu kennen und in nächster Nähe zu haben, die als Geber gefahrlos verwendet werden können. Auch im Spitalbetrieb soll an manchen Orten dieses System ausgebildet worden sein<sup>1)</sup>.

Somit rückt die Bestimmung der Landsteinerschen Gruppen-Hämagglutinine in die Reihe unserer üblichen Laboratoriumsmethoden und es darf erwartet werden, daß mit ihrer Hilfe die fast verlassene Transfusion wieder zu Bedeutung gelangt.

Auf Veranlassung und Leitung von Herrn Prof. Verzár führte ich deshalb zahlreiche Untersuchungen zur Kontrolle der Methodik und der Angaben der Autoren aus.

Massenhafte Untersuchungen an vielen Tausenden von Individuen haben zu dem Resultat geführt, daß die Menschen bezüglich ihrer Isoagglutinine sich in vier verschiedene Gruppen teilen lassen. Nach den Angaben des Laboratory Methods of the USA. army New York 1919 sind die folgenden Gruppen zu unterscheiden:

Gruppe 1. (Zu dieser gehören 5% aller Menschen.)

Das Serum agglutiniert Zellen keiner anderen Gruppe. Die Zellen (rote Blutkörper.) werden agglutiniert vom Serum der 2., 3. und 4. Gruppe.

<sup>1)</sup> Wir verdanken diese Angaben dem Buche von Storm van Leeuwen (Indrukten van een studiereis naar America bei Wolters, Haag 1920).

- Gruppe 2. (40% aller Menschen.)  
 Das Serum agglutiniert Zellen der Gruppe 1 und 3.  
 Die Zellen werden agglutiniert durch Gruppe 3 und 4.
- Gruppe 3. (10% aller Menschen).  
 Das Serum agglutiniert Zellen der Gruppe 1 und 2.  
 Die Zellen werden agglutiniert durch Gruppe 2 und 4 (jedoch nicht immer).
- Gruppe 4. (45% aller Menschen).  
 Das Serum agglutiniert Zellen der Gruppe 1, 2 und 3.  
 Die Zellen werden durch keine Gruppe agglutiniert.
- Dieses Verhalten zeigt die folgende kleine Tabelle:

Serum der Gruppe		1	2	3	4
Zellen der Gruppe	1	—	+	+	+
	2	—	—	+	+
	3	—	+	—	+
	4	—	—	—	—

Es genügt also zur Bestimmung, zu welcher Gruppe irgend-ein Blut gehört, je ein Serum der 2. und 3. Gruppe. Mit einem Serum der 1. und 4. — wie das aus der Tabelle ohne weiteres klar ist — kann noch nicht bestimmt werden, zu welcher Gruppe jemand gehört.

Zur Gruppenbestimmung wird die makroskopische Agglutination auf dem Objektträger benutzt. Man gibt auf einen Objektträger je einen Tropfen eines Testserum 2 und 3; dann mischt man zu jedem etwa  $\frac{1}{3}$  Blut, welches man aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen der zu untersuchenden Person entnimmt. Nach gründlichem Durchmischen und Hin- und Herschwenken des Objektträgers, bemerkt man nach kaum einer Minute, ob Agglutination der roten Blutkörperchen eintritt. Wird das Blut durch Serum 2 und 3 agglutiniert, so gehören die Blutkörperchen zur Gruppe 1. Werden sie weder durch 2 noch durch 3 agglutiniert, so gehört das Blut zur Gruppe 4. Agglutiniert Serum 2 nicht, jedoch Serum 3, so gehört das Blut zur Gruppe 2 und im umgekehrten Falle zur Gruppe 3.

Anstatt flüssigen Testserums wird in Amerika auf Deckgläsern oder Objektträgern getrocknetes Testserum in Verkehr gebracht. Will man dieses

benutzen, so verfährt man auf folgende Weise: 1 bis 2 Tropfen werden in 1 ccm 1—2proz. Na. citr. Lösung aufgefangen. Davon gibt man je einen Tropfen auf das Deckglas mit Trockenserum 2 und 3 und beobachtet im hängenden Tropfen. Die Agglutination erfolgt auf diese Weise erst nach 10 Minuten. Diese Modifikation ist aber nur ein Notbehelf.

Im allgemeinen ist die Objektträgeragglutination, wenn sie überhaupt erfolgt, außerordentlich grob und deutlich. Es bilden sich fast momentan kleine Klümpchen, die von Sekunde zu Sekunde größer werden, bis die Zwischenflüssigkeit sich ganz klärt. Manchmal wird die Ablesung des Resultates etwas erschwert durch Geldrollenbildung, welche aber viel feinere Körnchen gibt, so daß sich der Geübte nicht täuschen wird. Selbstverständlich kann auch ohne Testsera bestimmt werden, ob zwei Individuen zur Transfusion geeignet sind. Man muß dann vier Reaktionen machen. Serum A mit Blut B und als Kontrolle auch mit Blutkörperchen A, ferner Serum B mit Blutkörperchen A und zur Kontrolle auch mit Blutkörperchen B. Nur wenn alle vier Proben negativ ausfallen, darf die Transfusion ausgeführt werden.

Wir haben diese Methode vielfach ausprobiert. Originaltestsera standen uns nicht zur Verfügung, sondern wir haben uns dieselben selbst hergestellt auf folgende Weise: Von etwa 15 bis 20 Individuen wurde 1—2 ccm Blut aus der Fingerbeere in kleine Reagensgläser entnommen, dann zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Als Blutkörperchen wurden von derselben Person ein Tropfen frisches Blut benutzt. Man kann aber auch so verfahren, daß man die mit etwas Serum aus dem Blutkuchen ausgepreßten Blutkörperchen benutzt. Man bringt dann sämtliche Sera mit Blutkörperchen eines jeden Individuums zusammen und notiert genau das Resultat. Dabei werden sich sehr bald solche Sera zeigen, welche alle roten Blutkörperchen außer ihren eigenen agglutinieren. Diese gehören zur Gruppe 4. Ferner wird man Sera finden, die überhaupt keine Blutkörperchen agglutinieren; diese gehören zur Gruppe 1. Die übrigen Sera gehören zur Gruppe 2 und 3, und nun ergibt es sich aus der Frequenz, welche Sera zu der Gruppe 2 und welche zu der Gruppe 3 gehören. Alle jene Sera, welche nicht zur Gruppe 1 und 4 gehören, teilen sich nämlich wieder in zwei Gruppen: Es gibt solche, die ihre Blutkörperchen gegenseitig agglutinieren oder das nicht tun, Man bezeichnet dann die häufigeren als Gruppe 2, die anderen als Gruppe 3.

Vom methodischen Gesichtspunkt mag noch erwähnt werden, daß wir uns wiederholt überzeugten, daß makroskopische Hämagglutination im Reagensrohr dieselben Resultate gibt, wie Agglutination auf dem Objektträger, und daß ferner die Sera in flüssigem Zustand, selbst wenn sie nicht steril aufbewahrt wurden, ihre spezifische Agglutinationsfähigkeit lange Zeit, mindestens vier Wochen lang und noch länger, behalten. Halbstündige Erwärmung auf 56° C zerstört die Isoagglutinine nicht (Moss). Dieses Resultat wurde in mehreren hundert Fällen gefunden.

Meine nächste Aufgabe war zu untersuchen, ob die anderenorts gefundenen Prozentzahlen für die verschiedenen Gruppen sich auch bei uns — also bei einer ganz anderen Bevölkerung — konstatieren lassen. Nach Angabe der Amerikaner, die sich auf eine sehr große Anzahl von Untersuchungen stützt, beträgt die erste Gruppe 5%, die zweite 40%, die dritte 10%, die vierte 45%. Nach v. Dungerns Angaben sind seine Gruppen 4,6% — 47,6% — 12,2% — und 35,3%. Auf Grund von 550 Untersuchungen fanden wir die folgenden Prozentzahlen:

1. Gruppe: 16,9%, 2. Gruppe: 37,3%, 3. Gruppe: 18,3%, 4. Gruppe 27,5%.

Es zeigen sich also Unterschiede gegenüber den früheren Angaben und deshalb muß einiges über unser Untersuchungsmaterial gesagt werden. Zur Untersuchung wurden verwandt: 1. Gesunde Menschen; 2. Kranke eines Militärsitals. Dieselben waren fast ausschließlich Gonorrhöiker und Luetiker, ferner leichte Interne, Kranke und Verwundete, 3. Zwecks Wassermann oder Widalreaktion eingesandte Blutproben. 4. Neugeborene und gesunde Erwachsene.

Tabelle I.

Gesunde . . . . .	122	Ohrenkranke . . . . .	1
Gonorrhöe . . . . .	11	Sepsis . . . . .	1
Ulcus molle . . . . .	12	Anaemia perniciosa . . . . .	1
„ durum . . . . .	9	Typhus abdominalis . . . . .	4
Verwundete . . . . .	20	Paratyphus B. . . . .	1
Scrophul. . . . .	2	Typhus exanthemicus . . . . .	2
Magenkranke . . . . .	8	Widal negativ . . . . .	6
Bronchitis . . . . .	7	Wassermann negativ . . . . .	295
Rheumatismus . . . . .	3	positiv . . . . .	41
Malaria . . . . .	2	Zusammen . . . . .	550
Augenranke . . . . .	2		

In Tabelle I ist die Anzahl der untersuchten Gruppen zahlenweise angegeben. Es sei von vorherein bemerkt, daß sich auch bei uns irgendwelcher Zusammenhang der Isoagglutinine mit irgendeiner Krankheit oder Zustand der untersuchten Person in Übereinstimmung mit allen neueren Untersuchern nicht finden läßt, so daß die aus dieser Statistik gewonnenen Mittelwerte als Normalwerte zu betrachten sind.

Der Unterschied zeigt sich hauptsächlich gegenüber der erwähnten Prozentzahl in der ersten und vierten Gruppe. Die Amerikaner fanden, daß zu der ersten Gruppe 5%, wir dagegen, daß 16,9% der Untersuchten gehören. Zu der vierten Gruppe gehören nach den Amerikanern 45%, bei uns 37,3%. In Übereinstimmung mit den früheren Autoren gehört die größte Zahl der Menschen, und zwar in Amerika 85%, bei uns 64,8% zu der zweiten und vierten Gruppe. Während der Unterschied zwischen der Prozentzahl der vierten Gruppe nicht gar zu groß ist, beträgt er bei der ersten Gruppe den dreifachen Wert der Amerikaner und v. Dungenrs (16,9% anstatt 5%). Die Statistik der Amerikaner stützt sich — wie wir wissen — auf viele Tausende von Untersuchungen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei einer Vermehrung der Fälle auch unsere Statistik sich ändern würde. Es ist jedoch nicht wahrscheinlich, daß speziell die Verhältniszahl der ersten Gruppe, eventuell auch der vierten sich wesentlich ändern würde. Es scheint dieses Resultat auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß vielleicht Rassenunterschiede an der Verteilung der Menschen innerhalb verschiedener Gruppen beteiligt sind. Unser Material bestand, von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet, aus Siebenbürger Deutschen (Sachsen), Rumänen und Ungarn. Irgendwelcher Zusammenhang mit der Nationalität läßt sich aber auch nicht nachweisen, wie das die folgende kleine Statistik (siehe Tabelle II, S. 156) zeigt.

Die drei hier in Betracht kommenden Nationen leben allerdings bereits seit Jahrhunderten in solcher Gemeinschaft zusammen, daß eine größere Vermischung allenfalls stattgefunden hat, so daß also von einem Vergleich gänzlich rein gebliebener Rassen nicht die Rede sein kann.

Bei der Untersuchung einer größeren Anzahl von Personen wurde eine Statistik über Körpergröße, Haut- und Haarfarbe, Gewicht und Krankheiten geführt. Keinerlei Zusammenhang

Tabelle II.

1	2	3	4
Ungarn: 457.			
77 = 16,8%	174 = 38,1%	86 = 18,8%	120 = 26,3%
Rumänen: 81.			
14 = 17,3%	28 = 34,5%	13 = 16,1%	26 = 32,1%
Deutsche: 12.			
2 = 16,6%	3 = 25%	1 = 8,3%	6 = 50%
Zusammen: 550.			
93 = 16,9%	206 = 37,3%	100 = 18,3%	152 = 27,5%

zwischen diesen und der Gruppe einer Person konnte gefunden werden.

Woher stammt diese merkwürdige Teilung der Menschen in vier Gruppen? Kein Anhaltspunkt bezüglich der Rasse, Habitus, Krankheit ist bisher gefunden. Ehe diese, nunmehr durch die praktische Verwendung dieser Methode nicht nur theoretisch interessante Frage beantwortet werden kann, mußte man sich darüber klar sein, wie diese Verhältnisse bei Tieren liegen, wo sie auch eventuell experimentell untersucht werden können. Es ist deshalb von Interesse zu untersuchen, ob sich bei Tieren auch derartige gruppenweise Isoagglutinine, wie bei Menschen nachweisen lassen. Bei Tieren liegen Untersuchungen von Dungern und Hirschfeld vor, die bei Hunden normal keine, sondern nur nach Injektion von Blut anderer Individuen Isoagglutinine auftreten sahen, wobei auch Gruppen zu beobachten waren, die aber von der Rasse ganz unabhängig waren. (Nachträglich sehen wir, daß auch Katzen gelegentlich positive Befunde hatten, doch ohne Gruppenbildung [Ottenberg und Thalhimer]<sup>1)</sup>, während bei Fröschen Morris Fischbein<sup>2)</sup> keine Isohämagglutinine gefunden haben, während Klein<sup>3)</sup> beim Pferd positive Befunde hatte<sup>4)</sup>.)

Unsere Untersuchungen wurden an Kaninchen, Meerschweinchen, Rindern, Pferden, Hühnern, Hunden und Schweinen ausgeführt.

<sup>1)</sup> R. Ottenberg and W. Thalhimer, Studies in experimental Transfusion, Journ. of med. research. **33**, 213. 1915.

<sup>2)</sup> Isoagglutination in man and lower Animals, J. Inf. Diseases **12**, H. 2. 1913.

<sup>3)</sup> Wien. klin. Wochenschr. 1902, S. 413.

<sup>4)</sup> Ferner sah Ottenberg und Friedmann (S. exp. med. **13**, 531) Isoagglutinine bei Ochsen und Kaninchen mit Gruppenbildung.

**Kaninchen.** Das Blut wurde aus dem Ohr entnommen. Untersucht wurden 22 Tiere. Mit dem Serum eines jeden Tieres wurden die roten Blutkörperchen eines jeden anderen Kaninchens zusammengebracht (462 Reaktionen). In keinem einzigen Fall hat das Serum eines Kaninchens die Blutkörperchen eines anderen agglutiniert. Allerdings ist zu bemerken, daß alle Tiere aus derselben Zucht des Institutes stammten. Diese Zucht war aber nicht älter wie 2—3 Jahre; immerhin scheint es uns von Wichtigkeit, zu bemerken, da es ja denkbar wäre, daß innerhalb ein und derselben Zucht (Familie) keine Isoagglutinine vorkommen. (S. dagegen Ottenberg u. Friedmann l. c.)

**Meerschweinchen.** Untersucht wurden 18 Tiere der Institutzucht. Die Zucht war im Laufe der letzten Jahre wiederholt aufgefrischt worden. Unter den Tieren befanden sich verschiedenartigste Individuen: Albinos, gekrüselte Tiere und verschiedenfarbige langhaarige. Auch hier wurde mit dem Serum eines jeden Tieres die Blutkörperchen eines jeden anderen zusammengebracht (306 Reaktionen). In keinem einzigen Fall wurde Agglutination der roten Blutkörperchen gefunden.

**Hühner und zwar 6 Hühner und 2 Hähne,** gewöhnliche Marktware, verschiedenartigster Färbung wurden ebenso untersucht (56 Reaktionen). Kein Serum agglutinierte die Blutkörperchen eines anderen Tieres. Das Blut wurde aus dem Kamme entnommen.

**Rinder.** 6 Ochs (30 Reaktionen) und zwar 3 ungarische, 1 Pinzgauer und 2 Mischrassiger. Blut aus der V. jugularis entnommen. Es fanden sich keine Isoagglutinine, obzwar zwischen diesen Tieren deutliche Rassenunterschiede sich befanden. (S. dagegen Ottenberg l. c.)

Dagegen agglutinierte das Serum von 5 Ochs die Blutkörperchen von 2 Büffeln und nicht von 1 Büffel, während das Büffelserum die roten Blutkörperchen der Ochs nicht agglutinierte. Büffelserum agglutinierte Büffel-Blutkörperchen nicht (1 Fall). Hierbei handelt es sich schon um Heteroagglutination, wobei es auffällt, daß die Heteroagglutination nicht gegenseitig ist.

**Pferde.** Es wurden 4 Tiere untersucht. Die Agglutination auf dem Objektträger war schwierig, weil die Geldrollenbildung hier sehr stark ist, so daß wir nur schwer beurteilen konnten, ob in einem gegebenen Falle es sich um Geldrollenbildung oder Hämagglutination handelt. Auch beim Zusammenbringen von Blut mit Serum desselben Tieres ist diese Erscheinung sehr stark, viel stärker als bei irgendeiner anderen von uns untersuchten Tierart. Trotzdem wurde in Übereinstimmung mit Klein (l. c.) häufige Isoagglutination beobachtet.

Blutkörperchen	Pferd	Serum			
		1	2	3	4
1	Männlich	—	+	+	+
2	Weiblich	—	—	+	+
3	Kastriert	—	—	—	+
4	Weiblich	—	—	+	—

Weitere Untersuchungen müßten zeigen, ob es sich hier um ähnliche Verhältnisse handelt, wie bei Menschen und außerdem müssen diese Versuche mit makroskopischer Agglutination ergänzt werden.

Schweine. Das Blut stammte aus dem Schlachthaus. Untersucht wurden 11 Tiere (110 Reaktionen). Folgende Tabelle zeigt das Resultat:

Blutkörperchen	Schweine	Serum										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Weiblich	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	„ trüchtig	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
3	„	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	„ Ferkel	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Kastriert	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	„	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-
7	Weiblich	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
8	Kastriert	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	„	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	„	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Ferkel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Wie man sieht, wurden die Blutkörperchen von verschiedenen Tieren durch andere agglutiniert.

Auffallend war besonders das Verhalten von Schwein Nr. 2, dessen Blut von 7 Sera agglutiniert wurde, dessen Serum selbst aber die Blutkörperchen von keinem anderen Tiere agglutinierte. Ebenso wurde Schwein 6 und 7 durch vier verschiedene andere Sera agglutiniert, während es selbst keine anderen Schweine-Blutkörperchen agglutinierte. Ebenso merkwürdig ist es, wenn man die Schweine von der Seite der Sera betrachtet, dann sieht man, daß mit einigen Ausnahmen alle Agglutinationen durch dieselben Sera zustande kamen, nämlich durch Serum 3 — 5 — 8 — 9 — 10 (Ausnahme ist Serum 1 und 4, welche die Blutkörperchen von nur einem Tier agglutinierten).

Die Zahl dieser Untersuchungen an Schweinen ist natürlich viel zu klein, als daß man daraus weitgehende Folgerungen ziehen könnte, immerhin zeigt diese kleine Versuchsreihe, daß bei Schweinen ähnliche Verhältnisse zu sein scheinen wie bei Menschen. Wir können keine Vermutung darüber aussprechen, welche Ursache sie haben kann. An Rassenunterschiede zu denken, fehlt hier jede sichere Basis. Die Tiere waren gewöhnliche Marktware.

Hunde. Man würde erwarten, daß gerade bei Hunden, bei welchen eine besonders starke Variabilität vorkommt, Isoagglutinine zwischen verschiedenen Individuen sich nachweisen werden lassen. Jedoch schon v. Dungern fand keine.

Wir haben 8 Hunde untersucht. Das Blut wurde in Morphin-Narkose aus der V. jugularis entnommen. Kein Serum agglutinierte die Blutkörperchen von einem anderen. Die Tiere waren durchgehend alle Bastarde von ganz verschiedenem Äußeren (Foxterrier, wolfshundähnlich, kleine und große Schäferhunde usw.). Nur in einem Fall wurde beobachtet, daß die



Blutkörperchen von einem Hund durch Sera von 2 anderen agglutiniert wurden, während das Serum selbst keine Blutkörperchen agglutinierte. Wir wollen aus diesem aber keine Folgerungen ziehen, weil das Blut von einem zu einem anderen Versuche stundenlang narkotisierten und mit intravenösen Injektionen von Blutegelextrakt behandelten Hund stammte.

Die bisherigen Untersuchungen haben keine Anhaltspunkte gegeben, wodurch es bedingt sein kann, daß beim Menschen diese merkwürdige Gruppierung in verschiedene Gruppen bezüglich der Isoagglutinine stattfindet. Aus einer Statistik waren keine irgendwelchen Anhaltspunkte zu gewinnen. Bei Tieren fanden wir (abgesehen vom Schwein) nichts Ähnliches. Deshalb versuchten wir darüber Aufklärung zu bekommen, ob sich die Zugehörigkeit zu irgendeiner Gruppe vererbt?

In ihren erwähnten Versuchen haben v. Dungern und Hirschfeld bereits den Versuch gemacht eine Erklärung über diese merkwürdigen Unterschiede im menschlichen Blut zu geben. Sie haben deshalb bereits bei 342 Personen von 71 Familien (also durchschnittlich 4,8 Personen in einer Familie) auf die Gruppen untersucht und kamen zu dem Resultat, daß diese Strukturen sich der Mendelschen Regel entsprechend vererben. Sie unterscheiden eine Eigenschaft A und nicht A, B und nicht B, wobei A und B dominant, nicht A und nicht B rezessiv sind. Als Vererbungsregel gilt nach v. Dungern, daß wenn beide Eltern den Bestandteil A oder B in den Blutkörperchen nicht enthalten, er niemals bei den Kindern auftritt und umgekehrt; wenn beide Eltern dieselbe Struktur besitzen und findet man sie auch bei sämtlichen Kindern, jedoch mit Ausnahmen. Nie aber kommt eine Gruppe vor bei den Kindern, die nicht bei den Eltern vertreten ist. So ließe sich gegebenenfalls auch der Vater eines Kindes erkennen. Auch ein Versuch an Hunden bestätigte das.

Es ist bekannt aus Halban's<sup>1)</sup> Untersuchungen, daß auch schon das Blut des Neugeborenen Hämagglutination mit dem der Mutter geben kann. Daraus ist vorerst nur soviel klar, daß Mutter und Kind nicht zur selben Gruppe gehören müssen. Es war von Interesse zu untersuchen, wie sich diese Verhältnisse bezüglich der verschiedenen Gruppen stellen. Untersucht wurden 19 Mütter und deren Säuglinge. In 10 Fällen von 19 gehörte das

<sup>1)</sup> Halban, J. Agglutinationsversuche mit mütterlichem und kindlichem Blute. Wien. klin. Wochenschr. 1900.

Blut des Säuglings in dieselbe Gruppe, wie das der Mutter. Die 9 anderen Fälle gruppieren sich folgenderweise:

4 mal gehörte die Mutter in die Gruppe 2, das Kind in Gruppe 4  
 3 " " " " " " " 1, " " " " 3  
 1 " " " " " " " 1, " " " " 3  
 1 " " " " " " " 1, " " " " 2  
 1 " " " " " " " 3, " " " " 4

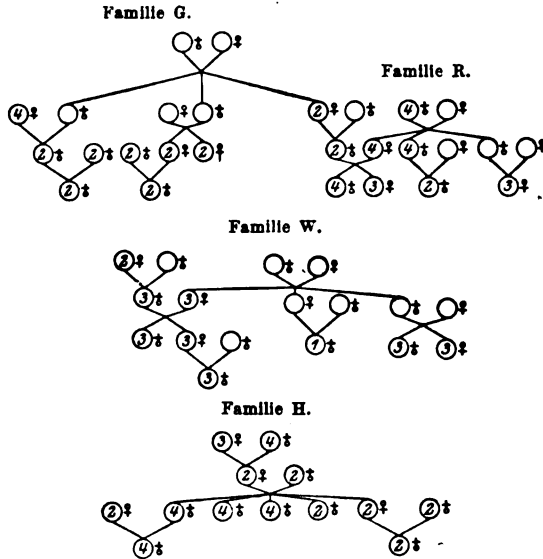
Keinerlei Gesetzmäßigkeit ist hier zu bemerken, jede Kombination kommt vor, allerdings scheint die Kombination mit 2 und 4 besonders häufig zu sein. In diesen Fällen war die Gruppe des Vaters unbekannt.

In der folgenden Tabelle sind nun verschiedene Fälle zusammengestellt, aus welchen bei Erwachsenen ersichtlich ist, wie sich die Gruppe vererbt. Die Zahlen bedeuten die Gruppe; V? und M? bedeutet, daß die Gruppe des Vaters bzw. der Mutter unbekannt blieb. In solchen Fällen ist eine eventuelle Gleichheit der Gruppen unbeweisend, weil eventuell auch die Eltern gleich waren.

Mutter	Tochter	Sohn	Vater	Tochter	Sohn	Beide Eltern gleich	Tochter	Sohn
3	2		4	2		2	2	
4	2 V?		2	3		3	3	
2	4		1		1	2		4
4	3		4		4	2		4
4	4 V?		3		3 M?	2		4
2		2	3		3 M?	2		2
4		4 V?	2		2 M?	2		2
2		3 V?	4		2 M?	2		2
3		3 V?	2		4	2		2
2		1				3		3
2		4						

Aus dieser Tabelle ist klar ersichtlich, daß die Gruppe sich von keinem der Eltern in gesetzmäßiger Weise auf eines oder beide Kinder vererbt. Dagegen geht daraus hervor, daß, wenn beide Eltern zur gleichen Gruppe gehören, auch die Kinder sehr häufig (unter 10 Fällen siebenmal) zur selben Gruppe gehören, während in den übrigen 3 Fällen die Eltern zur Gruppe 2, die Kinder zur Gruppe 4 gehörten, was jedenfalls auffallend ist. v. Dungern bemerkte in seiner erwähnten Arbeit, daß „die nachweisbaren Bestandteile der Blutkörperchen niemals rezessiv sind, und daher bei den Kindern nie erscheinen, wenn nicht eines der Eltern enthält“ (Münch. med. Wochenschr. 1910).

Endlich gelang es mir auch bei einigen Familien, Mitglieder von mehreren Generationen zu untersuchen. Es ist natürlich viel schwieriger, Stammbäume aus lebenden Individuen zusammenzustellen, als wenn man sich auf Überlieferungen stützen kann. Deshalb sind auch diese Stammbäume sehr lückenhaft. Die



leeren Kreise bedeuten, daß das entsprechende Individuum nicht untersucht werden konnte. Ich glaube, daß die Mitteilung dieser Stammbäume nicht wertlos ist, denn nur durch Sammeln von solchen wird man ein klares Bild über die Vererbungsregeln hier bekommen, und bisher sind Fälle von drei Generationen nur selten bekannt geworden. In Familie G. herrscht die Gruppe 2, in Familie R. die Gruppe 4, in Familie W. die Gruppe 3. Es scheint also eine Gruppe immer zu überwiegen. Gestört wird die Eindeutigkeit dieses Resultates dadurch, daß wiederholt die Ehegatten zur gleichen Gruppe gehörten.

Am interessantesten ist die Familie H., in welcher vier Generationen vollständig vertreten sind. Die Gruppe 4 des Urgroßvaters vererbt sich auf  $\frac{3}{5}$  der Enkel und den einen Urenkel. Aus der Ehe der Großeltern, welche zur selben Gruppe 2 gehören, entstanden zwei Kinder der Gruppe 2, und drei der Gruppe 4, also war in der zweiten Generation 2 dominant und 4 rezessiv, was sich in die Mendelsche Regel einreihen läßt.

Daß die Blutgruppe auch rezessiv sein kann, geht außer diesem Stammbaum auch mit Wahrscheinlichkeit aus einem weiteren Fall hervor, in welchem das Kind weder zur Gruppe des Vaters noch zu der der Mutter gehörte. In Familie R. gehören nämlich zwei Eltern in Gruppe 2 und 4 und ihre beiden Kinder zur Gruppe 4 und 3. Also muß die Gruppe 3 bei den Eltern rezessiv gewesen sein. Daß sich bei den Ahnen eine Gruppe 3 befunden haben muß, ist deshalb wahrscheinlich, weil auch noch ein anderes Enkelkind zur Gruppe 3 gehört.

Zusammenfassend kann also folgendes gesagt werden: Es lassen sich vier verschiedene Gruppen von Menschen unterscheiden, die bezüglich ihrer gegenseitigen Isoagglutinine differieren. Dieser Befund ist in Übereinstimmung mit den Angaben von Landsteiner, Dungern, v. Moss und anderen. Die Prozentzahlen entsprechen nicht ganz. In Amerika betragen sie für Gruppe 1: 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, bei uns 16,9<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; für Gruppe 2: 40<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, bei uns 37,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; für Gruppe 3: 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, bei uns 18,8<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; für Gruppe 4: 45<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, bei uns 27,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Keinerlei Zusammenhang mit Habitus, Krankheit oder Nationalität ließ sich finden.

Es wurde durch Untersuchungen von Familien konstatiert, daß eine direkte Vererbung oder eine gekreuzte, oder eine sprungweise nicht existiert, dagegen lassen sich in Bestätigung der Befunde von v. Dungern und Hirschfeld Anhaltspunkte dafür finden, daß hier eine Vererbungsregel, wohl der Mendelschen Regel entsprechend, herrscht.

Bei sieben verschiedenen Tierarten konnte solche gruppenweise Hämagglutination nicht konstatiert werden, nur beim Schwein fanden sich gelegentlich Isoagglutinine, die an Gruppen erinnern. Dieser Befund macht es noch merkwürdiger, daß beim Menschen solche Gruppen vorkommen.

Die Bestimmung der Landsteinerschen Blutgruppen in der von mir kontrollierten Form ist eine sehr geeignete Methode, um sich rasch über die Zugehörigkeit eines Individuums zu orientieren, was von klinischer Bedeutung sein kann, wenn es sich um die Anwendung einer Bluttransfusion handelt, denn nur solche Personen sollten zur Transfusion verwendet werden, deren Blut sich gegenseitig nicht agglutiniert.

---

# Über die Einwirkung oberflächenaktiver Nonylsäure und einiger oberflächenaktiver höherer Homologe der Alkoholreihe (Amylalkohol und Octylalkohol) auf die Hefezelle und die Gärung.

Von

Wilhelm Windisch, Wilhelm Henneberg und Walther Dietrich.

(Aus dem chemisch-technologischen Laboratorium der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin [Institut für Gärungsgewerbe].)

(Eingegangen am 18. April 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die sogenannten physiologischen Flüssigkeiten, z. B. Wasserauszüge aus tierischen und pflanzlichen Geweben, Blutserum, Bierwürzen usw. mehr oder weniger oberflächenaktiv sind. Die Oberflächenaktivität kann herrühren von kleinen Mengen verhältnismäßig stark capillaraktiver Substanzen oder größeren Mengen relativ inaktiverer. Im allgemeinen kann man annehmen, daß die Oberflächenaktivität physiologischer Flüssigkeiten in der Hauptsache auf die Anwesenheit von Stickstoffverbindungen zurückzuführen ist, die sich nach dem Grade ihrer Oberflächenaktivität bekanntlich in der fallenden Reihe Albumosen  $\rightarrow$  Peptone  $\rightarrow$  Aminosäuren anordnen.

In einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> konnten zwei von uns feststellen, daß aus einer Bierwürze und dem daraus hergestellten Bier sich die oberflächenaktiven Stoffe fraktioniert durch Ultrafiltration fast quantitativ entfernen ließen, was sich aus der Vergrößerung der Oberflächenspannung des Ultrafiltrats ergab, das sich sehr weitgehend dem Wasserwert näherte. Diese Tatsache wies darauf hin, daß die Oberflächenaktivität von Körpern kolloidaler Größenordnung herrühren mußte; allerdings ist dieser Schluß nicht ganz sicher, da ja auch stark oberflächenaktive molekulardisperse Stoffe nach dem Gibbsschen Theorem durch mechanische Adsorption am Ultrafilter zurückgehalten werden. Aus ergänzenden Ver-

<sup>1)</sup> W. Windisch und W. Dietrich, diese Zeitschr. **105**, 96. 1920.

suchen einer folgenden Arbeit<sup>1)</sup> ergab sich, daß für Bierwürze molekular-disperse oberflächenaktive Stoffe nicht oder nur in verschwindendem Maße in Betracht kommen. Es ergibt sich mit größter Wahrscheinlichkeit die Tatsache, daß die molekular-dispersen Eiweißabbauprodukte (Aminosäuren) praktisch oberflächeninaktiv sind, mit steigender Vergrößerung des Dispersitätsgrades in das Gebiet der kolloidalen Größenordnung hinein die Oberflächenaktivität bis zu einem Maximum zunimmt (Peptone → Albumosen) und dann bei weiterer Vergrößerung des Dispersitätsgrades (hochmolekulares genuines Eiweiß) wieder abnimmt bzw. vollständig erlischt.

Da die in der Bierwürze vorhandenen Kohlenhydrate (Maltose und Dextrine), die in bezug auf die Quantität die Stickstoffverbindungen weit übertreffen, capillaraktiv sind, so muß auch die ziemlich starke Oberflächenaktivität einer mittelkonzentrierten Würze auf die Eiweißabbauprodukte zurückzuführen sein, die sich daran je nach der vorhandenen Menge und nach der Eigen-capillaraktivität ihrer Moleküle beteiligen.

Bekanntlich ist die Bierwürze in der Praxis das Nährsubstrat, in dem sich die alkoholische Gärung abspielt. Die Gärung vollzieht sich also in einer Flüssigkeit, die capillaraktiv ist. Aus vielen von uns gemessenen Oberflächenspannungszahlen von Bierwürzen mittleren Extraktgehalts, gemessen mit einem Traubeschen Viscostagonometer mit dem Wasserwert 114,5, ergaben sich im Durchschnitt Werte von 70,0—75,0.

Angenommen, es werde in der Bierwürze zur Einleitung der Gärung Hefe ausgesät, so wird das ursprünglich homogene Würzesystem inhomogen und es lassen sich zwei Phasen unterscheiden, die einzelnen Hefezellen und die sie umgebende Nährlüssigkeit. Da man unter einer Oberfläche die Trennungsfäche zweier Phasen versteht, ist durch die Aussaat der Hefe in der Würze eine außerordentliche Vermehrung der Oberflächen eingetreten.

Nach dem Gibbsschen Theorem haben nun bekanntlich die oberflächenaktiven Stoffe die Eigenschaft, sich um so mehr an einer Oberfläche zu konzentrieren, je capillaraktiver sie sind — die Oberflächenaktivität eines Stoffes hängt sowohl von der Molekülart, als auch von der Art der Grenzfläche ab; sie ist anders für ein und denselben Stoff, z. B. an einer Grenzfläche: Flüssig-

<sup>1)</sup> W. Windisch und W. Dietrich, diese Zeitschr. 105, 92. 1920.

keit—Luft und einer Grenzfläche: Flüssigkeit—fester Körper usw. Die Konzentrierung eines oberflächenaktiven Stoffes an einer Grenzfläche findet so lange statt, bis der durch die Konzentrierung an der Oberfläche entstehende osmotische Druck — je weiter die Entfernung von der Grenzfläche nach dem Flüssigkeitsinnern ist, um so weniger Moleküle des oberflächenaktiven Stoffes sind im Flüssigkeitsvolumen vorhanden — gleich ist dem Zug der oberflächenaktiven Moleküle nach außen.

Während nach dem eben Gesagten die nichtoberflächenaktiven Stoffe der Würze, also die Kohlenhydrate nach Zugabe der Hefe gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt bleiben, werden sich die oberflächenaktiven Stoffe um die Hefezellen — an den Grenzflächen — konzentrieren. Es hätten also die capillaraktiven Substanzen eine größere Möglichkeit in eine Zelle einzudringen, als ihnen nach ihrer absoluten Menge in der Flüssigkeit eigentlich zukommen würde. In einer Bierwürze würde also den Albumosen, also gerade den relativ größten Molekülen, auch das größte Konzentrationsvermögen zukommen und dann weiter mit fallender Molekülgröße über die Peptone zu den Aminosäuren dasselbe abnehmen. Welche Folgerungen diese Tatsache für die Gärung und besonders Gärungshemmungen ergibt, soll, da das von dem eigentlichen in der Überschrift angegebenen Thema zu weit abführen würde, wo es sich um die Einwirkung außerordentlich stark capillaraktiver Substanzen, die die capillaraktiven natürlichen Stickstoffverbindungen der Würze an Aktivität um ein Vielfaches übertreffen handelt, in einer folgenden Arbeit ausgeführt werden.

Die einleitenden Betrachtungen sollten nur kurz dazu dienen, auf die Eigenschaften der capillaraktiven Substanzen in physiologischen Flüssigkeiten hinzuweisen und mit der Tatsache vertraut machen, daß in jeder natürlichen organischen Flüssigkeit oberflächenaktive Substanzen eine bedeutende Rolle spielen.

Bekanntlich steigt in der homologen Reihe der Fettsäuren und Alkohole die Oberflächenaktivität der einzelnen Glieder nach der Traubeschen Regel.

Wir haben nun zu Würzen sowohl höhere Fettsäuren als auch Alkohole in wechselnden Mengen zugegeben, um evtl. Gärungshemmungen bzw. Verzögerungen festzustellen. Es ist die Bildung dieser beiden Körpergruppen teilweise in Würzen bei der Gärung

bewiesen, teilweise theoretisch sehr wohl möglich. Die Fuselöle, also höherwertige Alkohole treten bei jeder Gärung auf, und es ist nach ihrer Entstehung aus den Aminosäuren möglich, daß außer den hauptsächlich entstehenden Amylalkoholen, die schon nach ihrer Stellung in der homologen Reihe ziemlich capillaraktiv sind, auch noch höhere Alkohole der Reihe in geringen Mengen entstehen. Auch die Bildung von Fettsäuren bei der Gärung ist sicher. Natürlich ist es ausgeschlossen, bei den Spuren der höheren Homologen, die auftreten können und die infolge ihrer starken Capillaraktivität auch in geringsten Mengen in der Flüssigkeit sich um die Hefezellen anreichern können, diese genau zu identifizieren.

Es wurden Versuche mit Nonylsäure, Octyl- und Amylalkoholzusatz zu Würze angestellt und die Gärfähigkeit der darin ausgesäten Hefe an der entwickelten Kohlensäuremenge festgestellt. Zu gleicher Zeit wurden von Henneberg die Hefen in weitgehender Weise mikroskopisch kontrolliert und gemessen.

Die Gärversuche wurden in folgender Weise in dem aus der Zeichnung (S. 176) ersichtlichen Apparat steril durchgeführt. Zu 50 ccm einer etwa 8 proz. Würze wurde der betreffende Zusatz des oberflächenaktiven Körpers gemacht, die Oberflächenspannung der Würze gemessen und dann die Würze an drei aufeinander folgenden Tagen in 100-ccm-Fläschchen sterilisiert. Dann wurde eine abgemessene Menge einer in voller Gärung befindlichen mit Reinzuchthefer (untergärige Bierhefe U<sub>1</sub>) 48 Stunden hergeführten, normalen Würze steril zugegeben und 10 ccm der Würze in den trocken sterilisierten Gärapparat gesaugt.

Die einzelnen Gärapparate hatten die aus der Abbildung ersichtliche Form des Ostwaldschen Pyknometers mit der eingezeichneten Form der Capillare. Das Einsaugen in den Apparat geschieht in der Weise, daß die bei *a* und *b* in den Capillaren während der trockenen Sterilisation befindlichen Watterverschlüsse herausgezogen werden, bei *b* ein mit Alkohol und Äther ausgespültes Capillarschlauchende angesetzt wird, das nach dem Flambieren in die einzusaugende sterile, mit Hefe versetzte Würze reicht und dann bei *a* das Gefäß *c* bis zur Marke vollgesaugt wird. Bei *b* wird dann mit Schlauch und Glasstöpsel verschlossen und der Apparat mit dem capillaren Ende *a* unter den mit Kohlensäure gesättigten Wasser gefüllten Meßzylinder *d* eingehängt, der in der mit Quecksilber gefüllten Wanne (Petrischale) auf-



gestellt ist, wie es die Abbildung zeigt. Die entwickelte Kohlen- säuremenge wurde ohne Temperatur- und Barometerkorrektion direkt an den Zylindern abgelesen. Korrekturen waren, da es sich nur um vergleichende Versuche handelte und eine zu große Genauigkeit nicht von Wert war, nicht nötig. Der ganze Apparat mit Stativ steht in einer Schale, um das über den Rand der Petri- schale ablaufende Wasser aufzufangen.

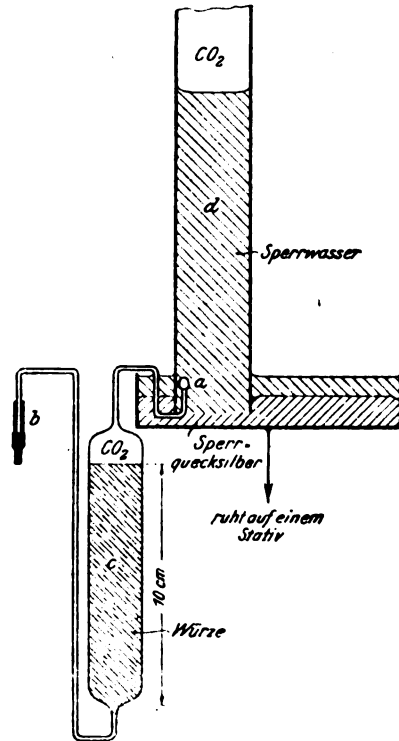


Abb. 1.

Die Gärung verlief bei Zimmertemperatur.

Die in den folgenden Tabellen angeführten Größenzahlen der Zellen sind Durchschnittszahlen von etwa 40 Messungen in 2000facher Vergrößerung. (Durch 2 geteilt, ergeben sich die Maße in Mikromillimeter.)

Das Verhältnis der Länge zur Breite (die Länge = 1 gesetzt) ist berechnet und als „V“ eingetragen, da aus dem Größerwerden der Zahl ein Rundlicherwerden der Zellen sofort sichtbar wird.

Die Zahlen der Hefenvermehrung sind ebenfalls Durchschnittszahlen, die von Henneberg gemeinsam mit Fräulein Böhmer, Fräulein Streiter und Fräulein Thurm festgestellt wurden.

**Versuche mit Nonylsäure.**

Zu den Versuchen mit Nonylsäure sei bemerkt, daß die im folgenden angegebenen Erscheinungen nicht allein auf den Säurecharakter der Fettsäure zurückzuführen sein können, da äquivalente Mengen der stark dissoziierten Salzsäure keinen Einfluß ausübten.

**I. Bierwürze mit verschiedenen Mengen Nonylsäure (Hefe U).**

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 7 Tagen.
1. Kontrolle ohne Nonylsäurezusatz (Oberflächenspannung 75,3).	Starke Gärung, sehr gute Vermehrung, sämtliche Zellen normal.	Durchschnittsgröße: 17,9:13,7 (V=0,76), keine Zelle ist rund, 65,7 % Einzelabmessungen, Glykogenzustand.	20% ziemlich viel Glykogen, wenig Fett, 2% tot.
2. 0,005 Vol.-% Nonylsäure (Oberflächenspannung 67,4).	Gärt, wenig Sprossung, 10% krank, 1% tot.	15,7 : 12,9 (V=0,82); 10,3 % runde Zellen, 61,5 % Einzelabmessungen, 20 % Fetthefe, 1% tot.	17,1 : 14,9 (V=0,87), Fetthefe, 10% tot.
3. 0,01 Vol.-% Nonylsäure (Oberflächenspannung 62,2).	Gärt erst nach 36 Stunden, keine Sprossung, 33% krank, 20% tot.	15,8 : 13,8 (V=0,87), 10,5 % runde Zellen, 58 % Einzelabmessungen. (6mal 15 : 13 = 7,5 : 6,5 $\mu$ ), 80% krank, 10% tot, zieml. dicke Wand.	17,1 : 14,5 (V=0,85), 33% tot, sonst normal, ziemlich viel Fett und Glykogen.
4. 0,02 Vol.-% Nonylsäure (Oberflächenspannung 56,2).	Gärt dauernd nicht, sämtliche Hefezellen sind abgestorben.		

**Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.**

	Tage							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. ccm CO <sub>2</sub>	35,0	72,0	86,0	—	—	—	—	—
2. ccm CO <sub>2</sub>	2,0	31,5	55,0	73,0	81,0	87,5	—	—
3. ccm CO <sub>2</sub>	0	2,0	10,0	23,0	31,0	38,0	44,0	—
4. ccm CO <sub>2</sub>	0	0	—	—	—	—	—	—

12\*

Der erste Eindruck der Tabellen ist der, daß die Nonylsäurezusätze eine außerordentlich starke physiologische Wirkung ausüben. Schon bei dem geringen Zusatz von 0,005% (es handelt sich bei sämtlichen Zusätzen um Volumprozent) zeigt sich an der Kohlensäureentwicklung gegenüber der Kontrolle eine ganz bedeutende Verzögerung. Es wird allerdings in der doppelten Zeit der Endzustand der Kohlensäureentwicklung wie bei 1. erreicht. Die gärungshemmenden Wirkungen der doppelten Menge, also von 0,01% Nonylsäure (Versuch 3) sind dann aber so stark, daß die Endvergärung auf der halben Kohlensäuremenge der Kontrolle stehenbleibt, und eine weitere Verdoppelung des Zusatzes verhindert dann überhaupt jede Gärung.

Zusammenfassend wird also die Gärung durch Nonylsäurezusätze in den angegebenen Mengen zunächst zeitlich, aber nicht in der Quantität der entwickelten Kohlensäure, gehemmt, dann zeitlich und quantitativ verringert und endlich vollständig zum Stillstand gebracht.

Wie reagieren nun die Hefezellen im mikroskopischen Bild auf die Nonylsäurezusätze? Es zeigt sich, daß mit steigendem Zusatz auch steigend die Krankheits- und Sterbeerscheinungen zunehmen; in Mengen von 0,02% ist die Nonylsäure innerhalb 24 Stunden auf sämtliche Zellen tödlich. Eine Menge von 0,01% läßt in 24 Stunden 20% Zellen absterben und 33% erkranken. Nach weiteren 24 Stunden sind 80% krank, doch erholen sich diese bis zum siebenten Tage wieder. Diese Befunde stimmen mit den Gärungserscheinungen überein.

Die Einwirkung der Nonylsäure macht sich weiter in dem Auftreten von rundlichen Zellformen bemerkbar. Während in der Kontrolle nach 2 Tagen keine runden Zellformen bemerkbar sind (soweit die etwa 40 gemessenen Zellen dies zeigten), sind schon bei 0,005% Säure 10% runde Zellen vorhanden. Die Abmessungen sind nach 2 Tagen kleiner als in dem Kontrollversuche. Erst bis zum siebenten Tage haben die Größenabmessungen bei 0,005% und 0,01% Zusatz die der Kontrolle fast erreicht. Die Breitenabmessungen sind größer.

Bemerkenswert ist auch, daß sich im Versuch mit 0,01% Nonylsäure am meisten Zellen mit gleichen Abmessungen (also am wenigsten nur einmal vorkommende Zellgrößen, d. h. „Einzelabmessungen“), finden, meist allerdings nur je 2mal. Auf-

fallend ist, daß die Zellgröße 15 : 13 (7,5 : 6,5  $\mu$ ) 6 mal unter 40 Zellen festgestellt werden konnte.

Sehr interessant ist die Fettbildung der Hefe, was wohl als Reaktion der Zellen auf den Nonylsäurezusatz (Versuch 2, 2. und 7. Tag, und Versuch 3, 7. Tag) aufzufassen ist.

Die sämtlichen Befunde zeigen, daß die oberflächenaktive Nonylsäure ein Gift für die Hefe ist; die Hefe wird also das Bestreben haben, sich gegen die Giftwirkung zu schützen. Nach den mikroskopischen Befunden tut sie dies durch Verkleinerung ihrer Oberfläche, indem die neu entstandenen Zellen Kugelgestalt annehmen und so die Möglichkeit des Eindringens des giftigen Stoffes verringert wird. Ob die Annahme der Kugelform eine Reaktion des lebenden Plasmas ist oder eine rein physikalische Erscheinung infolge der starken Veränderung der Oberflächenspannung des die Zelle umgebenden Nährmediums infolge Anhäufung capillaraktiver Substanzen nach dem Gibbsschen Theorem, bleibe dahingestellt. Das erstere ist wahrscheinlicher.

Auch die Fettbildung muß man wohl als Schutzmaßnahme ansehen. Die Fette sind sehr capillaraktive Körper, und wenn demnach im Innern der Zelle Fett gebildet wird, wird auch die Oberflächenspannung des Zellinnern verändert, und zwar erniedrigt. Diese Erniedrigung muß in dem Sinne wirken, daß, da die Oberflächenspannungsdifferenzen zwischen Zellinnern und Außenflüssigkeit dadurch mehr ausgeglichen werden, das Eindringen capillaraktiver Substanz auch vermindert wird.

Den besten Beweis, daß die ganzen Vergiftungserscheinungen Folgen der Oberflächenaktivität der zugesetzten Nonylsäure sind, liefert der folgende Versuch.

## II. Die Würze- und Nonylsäurezusätze waren wie im vorigen Versuch.

Nach Einsaat der Preßhefe Rasse M wurden Tröpfchenkulturen angestellt und diese bei 15° und bei 30° 24 Stunden aufbewahrt.

1. Kontrolle. Normale Vermehrung und normales Aussehen der Zellen bei 15 und 30°.

2. 0,005 Vol.-% Nonylsäure, ebenso.

3. 0,01 Vol.-% Nonylsäure, bei 15° 10% tot, sonst normales Wachstum, 30° ebenso, doch 3% Riesenzellen.

4. 0,02 Vol.-% Nonylsäure. 15° 90% tot, 10% krank, 30° sämtliche Zellen tot, nachdem sich das Fett zusammengeballt hatte = langsames Absterben.

5. 0,03% Nonylsäure (Oberflächenspannung 49,5). Sämtliche Zellen bei 15 und 30° sind abgestorben, ohne daß das Fett in den Zellen vorher zusammengeflossen war.

Die Versuche im hängenden Tropfen sind auf den ersten Blick analog den vorigen Versuchen der Flaschengärung. (Die Heferasse war allerdings hier eine andere.) Es zeigt sich aber doch ein Unterschied, und zwar darin, daß die Giftwirkung für denselben Nonylsäurezusatz im hängenden Tropfen zurückgedrängt worden ist. Während beim Flaschenversuch bei 0,005% Zusatz schon eine deutliche Wirkung unter dem Mikroskop sichtbar war, ist beim Tropfenversuch nichts zu konstatieren. Ebenfalls ist bei den Versuchen 3 die Schädigung beim Flaschenversuch größer als beim Hängenden-Tropfen-Versuch. In späteren Versuchsreihen (Octylalkohol) wiederholen sich dieselben Verhältnisse noch weit prägnanter. Die Erklärung für diese Erscheinung haben wir wahrscheinlich darin zu sehen, daß in der Tröpfchenkultur im Verhältnis zum Flüssigkeitsvolumen die Wandungs- und Flüssigkeitsoberflächen (Deckgläschen) größer sind als im Fläschchen (Flaschenwandungen), und sich so der oberflächenaktive Giftstoff im ersteren Falle über eine größere Oberfläche verbreitet als im zweiten Falle. Den Oberflächen der Hefezellen kommt also im ersteren Falle bei gleicher Aussaat weniger Nonylsäure zu, als im zweiten Fall, und die Schädigung muß demnach geringer sein. Wir kommen auf diese Verhältnisse an einer späteren Stelle bei der Aussaat verschiedener Hefenmengen bei gleichem Gehalt an oberflächenaktiven Stoffen zurück.

Eine ähnliche Versuchsreihe wie für Würze wurde auch für eine etwas abgeänderte künstliche Hayducksche Nährlösung (100 g Rohrzucker, 0,5 g primäres Kaliumphosphat, 0,2 g Asparagin, 0,2 g Wittes Pepton, 0,2 g Magnesiumsulfat und 0,5 g Calciumchlorid im Liter Flüssigkeit) durchgeführt. Die vorbereitenden Handlungen bei der Nährlösung waren dieselben wie bei der Würze.

Mikroskopischer Befund der in der Hayduckschen Nährlösung mit Nonylsäurezusatz gewachsenen Hefe ca. am 3. Tage.

(Hefe U)

1. Kontrolle (Oberflächenspannung 91,5). 33% Fetthefe, 10% abgestorben.
2. 0,005 % Nonylsäure (Oberflächenspannung 81,5). Sämtliche Zellen besitzen sehr viel Fett neben Glykogen. Mäßige Vermehrung.
3. 0,01 % Nonylsäure (Oberflächenspannung 71,0). Keine Gärung, sämtliche Zellen sind abgestorben.

Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.

	Tage								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. ccm CO <sub>2</sub>	2,0	3,5	7,0	14,0	27,0	63,0	73,0	83,0	102,0
2. ccm CO <sub>2</sub>	1,0	2,0	4,0	8,0	17,5	34,0	53,0	73,0	94,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	0	0	0	0	0	0,5	1,5	2,0	2,5
4. ccm CO <sub>2</sub> 0,02% Nonylsäure (Oberflächenspannung 69,8).	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Diese Versuchsreihe zeigt gegenüber der Würzeversuchsreihe kaum Neues, nur daß hier eine geringere Menge Nonylsäure, 0,01%, schon tödlich wirkt. Es liegt das daran, daß in einer künstlichen Nährlösung die Verhältnisse an und für sich schon ungünstiger liegen als in einer natürlichen Würze, was schon die spätere Angärung der Kontrolle zeigt, und so ist auch die Widerstandskraft der Hefe geringer.

Die folgenden Versuchsreihen wurden nicht mehr mit einer Säure angestellt, sondern mit Alkoholen der Reihe  $C_nH_{2n} + 2O$ , da bei ihnen die chemische Reaktionsfähigkeit der Säuren fortfällt, und man es mit chemisch viel indifferenten Körpern zu tun hat und man so mit größerer Sicherheit als bei den Säuren die von ihnen bei der Gärung ausgehenden Wirkungen auf die physikalische und nicht chemische Eigenschaft der Oberflächenaktivität zurückführen kann.

In der Hauptsache wurden Versuchsreihen mit Octylalkohol und vereinzelt mit Amylalkohol ausgeführt. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den Nonylsäureversuchen.

## Versuche mit Octylalkohol.

## I. Bierwürze mit verschiedenen Mengen Octylalkohol und annähernd gleichen Hefemengen (Bierhefe U).

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 4 Tagen.
1. Kontrolle (Oberflächen- spannung 74,0).	Normale Zellen.	1% tot, Glykogenhefen.	1% tot, 17,4:12,9 (V = 0,74) rund = 0.
2. 0,017% Octyl- alkohol (Ober- flächenspan- nung 68,5).	1% tot, klei- nere Zellen.	10% tot, rund- lichere Zellen.	20% tot, 17,7:16,7 (V = 0,94) rund = 36% Einzelab- messungen 44%, 52 % Zellen mit Länge 19 und 20, (= 9,5 bis 10 $\mu$ ).
3. 0,027% Octyl- alkohol (Ober- flächenspan- nung 64,0).	33% tot, 33% krank, dicke Zellwand.	20% tot.	33% tot, alle rund! Alle sehr viel Gly- kogen, dicke Wän- de!
4. 0,033% Octyl- alkohol (Ober- flächenspan- nung 60,3).	90% tot, 10% krank (Fett!).	50% tot, 40% krank, 10% normal bis auf das reichl. Fett.	20% tot, sonst krank (Fett!) Viel kleine, runde Zellen.
5. 0,04% Octyl- alkohol (Ober- flächenspan- nung 57,2).	95% tot, 5% krank.	99% tot.	Sämtlich tot.

(Die Versuche wurden nochmals mit gleichem Resultat wiederholt.)

## Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.

	Tage						
	1	2	3	4	5	6	7
1. ccm CO <sub>2</sub>	32,0	65,0	85,0	88,0	—	—	—
2. ccm CO <sub>2</sub>	15,0	46,5	60,0	73,0	82,0	88,0	94,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	3,0	5,0	5,0	5,0	5,5	—	7,5
4. ccm CO <sub>2</sub>	1,5	3,0	—	—	—	—	—
5. ccm CO <sub>2</sub>	0	0	0	—	—	—	—

Die Versuchsreihe zeigt, daß Octylalkohol in Würze in einer Menge von 0,04% in 24 Stunden auf fast sämtliche Zellen tödlich wirkt. Bei 0,033% ist die Wirkung ebenfalls noch eine sehr schädigende; nach 24 Stunden sind 90% tot. Bemerkenswert ist jedoch, daß sich bei dieser Menge die Hefe (d. h. ihre Nachkommenschaft) an das Gift gewöhnt bzw. daß das letztere allmählich unwirksam wird. Eine Menge von 0,027% tötet in 24 Stunden  $\frac{1}{3}$  der Zellen ab, ebensoviel sind am 4. Tage tot.

Auch bei 0,017% ist eine deutliche Schädigung zu bemerken, denn nach 4 Tagen sind 20% der Zellen abgestorben.

Das mikroskopische Bild wird bestätigt durch die Gärversuche. Von 0,033% an kommt es überhaupt nicht mehr zu einer merklichen Gärung.

Auf die Veränderungen der Zellform und -größe, die auch in obiger Tabelle berücksichtigt worden sind, wird erst im Zusammenhang mit den folgenden Versuchen eingegangen werden.

Auch beim Octylalkohol wurde wieder, analog wie bei der Nonylsäure, statt in der Flasche ein Versuch im hängenden Tropfen durchgeführt, und zwar der Versuch 5 obiger Reihe mit 0,04% Zusatz. Während in der Gärflasche diese Menge absolut tödlich wirkte, trat hier eine gute Vermehrung ein und die Zellen unterschieden sich von der Kontrolle nur durch etwas größeren Fettreichtum. Es zeigt dieser Versuch noch bedeutend besser als der entsprechende Nonylsäureversuch, daß die Giftwirkung eine Folge der Oberflächenaktivität ist.

In der folgenden Versuchsreihe sind wir nun mit der Zusatzmenge noch bedeutend unter den Mindestwert der Versuchsreihe I von 0,017% heruntergegangen, um einen Grenzwert der Giftwirkung bzw. eine fördernde Wirkung festzustellen, wie man es oft bei sehr kleinen Mengen physiologisch wirksamer Stoffe beobachten kann.

## II. Würze mit verschiedenen Mengen Octylalkohol.

	Nach 1 Tage.	Nach 3 Tagen.
1. Kontrolle (Oberflächenspannung 74,7).	Sämtliche Zellen in lebendem Zustand.	16,2 : 12,2 (V = 0,78) rund 3,3%, 10% glykogenhaltige Zellen.
2. 0,002% Octylalkohol (Oberflächenspannung 74,8).	desgl.	Normale Zellen.
3. 0,004% Octylalkohol (Oberflächenspannung 74,0).	desgl.	Ebenso, etwas jüngere Zellen.
4. 0,008% Octylalkohol (Oberflächenspannung 73,3).	desgl.	17,6 : 13,6 (V = 0,77) rund 10,7%, 1% tot, 33% glykogenhaltige Zellen.
5. 0,017% Octylalkohol (Oberflächenspannung 70,0).	Zellen etwas rundlicher.	17,3 : 14,8 (V = 0,83) viel gleichmäßiger als bei 1—4, rund = 4,3%, 7% tot, sehr viel glykogenhaltige Zellen.



## Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.

	Tage				
	1	2	3	4	5
1. ccm CO <sub>2</sub>	24,5	67,5	72,0	—	72,0
2. ccm CO <sub>2</sub>	25,0	60,0	66,0	—	66,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	18,0	55,0	65,0	—	67,0
4. ccm CO <sub>2</sub>	11,0	49,5	62,5	—	69,0
5. ccm CO <sub>2</sub>	5,5	25,5	43,0	—	65,0

Nach den mikroskopischen Befunden ist bei diesen Zusatzmengen eine deutlich schädigende Wirkung (Erkrankung, Abtötung) auf den Zellorganismus nicht mehr zu erkennen, nur die Gärversuche zeigen auch bei diesen geringsten Mengen eine deutliche Verzögerung der Angärung. Zum Schluß allerdings gleichen sich alle Unterschiede wieder aus. Eine Reizwirkung ist bemerkenswerterweise nirgends zu beobachten.

Es ist besonders zu beachten, durch welche kleinen Mengen derartiger oberflächenaktiver Stoffe die Angärung in der Praxis der Gärungsgewerbe verzögert werden könnte. Die große Hefeausaat in der Praxis dürfte allerdings diese Einwirkung meist verhindern (s. u.).

In den vier folgenden Versuchsreihen wurde die Einsaatmenge der Hefe und die Vermehrung der Zellen genau festgestellt. Die Octylalkoholzusätze entsprechen den beiden obigen Versuchsreihen.

III. Die Einsaat war verhältnismäßig groß, so daß in der Volumeneinheit  $\frac{5}{10000}$  cbmm 1,3—1,45 Zellen waren.

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 3 Tagen.
1. Kontrolle 1,45 Zellen.	18,4 : 11,6 (V = 0,63), Vermehrung 8,08 mal.	19,4 : 12,9 (V = 0,66), Vermehrung 16,85 mal.	19,2 : 12,5 (V = 0,65), Vermehrung 16,74 mal.
2. 0,004% Octylalkohol 1,38 Zellen.	Vermehrung 8,86 mal.	Vermehrung 16,95 mal.	Vermehrung 16,02 mal.
3. 0,017% Octylalkohol 1,3 Zellen.	Vermehrung 8,55 mal.	19,2 : 12,9 (V = 0,67), Vermehrung 19,26 mal.	19,3 : 12,9 (V = 0,67), Vermehrung 17,1 mal.

IV. Einsaatmenge in der Volumeneinheit 0,74—0,87 Zellen.

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 3 Tagen.
1. Kontrolle Einsaat 0,74.	Vermehrung 17,06 mal.	16,5 : 12,1 (V = 0,73).	19,5 : 12,1 (V = 0,62), Vermehrung 46,19 mal, 1% tot.

IV. (Fortsetzung.)

2. 0,004% Octyl- alkohol, Einsaat 0,87.	Vermehrung 11,7 mal.	16,8 : 12,4 (V = 0,74).	19,5 : 13,1 (V = 0,67), Vermehr. 26,7 mal, dicke Zellwände, 1% tot.
3. 0,017% Octyl- alkohol, Einsaat 0,77.	Vermehrung 5,01 mal. 20% tot.	18,3 : 14,1 (V = 0,77).	18,6 : 15,8 (V = 0,85), Vermehr. 10,29 mal, dicke Zellwände, 31% tot, 16% krank.

Nach 5 Tagen.

Nach 12 Tagen.

1. Kontrolle Einsaat 0,74.	19,2 : 13 (V = 0,63), keine Zelle rund, 20% Gly- kogenhefezellen. Ver- mehrung 49,69 mal.	19,2 : 12 (V = 0,62), 79,5% Einzelabmes- sungen.
2. 0,004% Octyl- alkohol, Einsaat 0,87.	18,5 : 13,6 (V = 0,73), keine Zelle rund, alle ziemlich viel Glykogen, 1% tot. Vermehrung 30,3 mal.	17,8 : 12,8 (V = 0,72), 69% Einzelabmessun- gen.
3. 0,017% Octyl- alkohol, Einsaat 0,77.	17,1 : 15,6 (V = 0,91), 30% r. Zell. (4·17:17), 50% Einzelabmessun- gen, 27,5% tot, Ver- mehrung 15 mal.	17,8 : 16,3 (V = 0,92), 50% Einzelabmessun- gen, 12,5% runde Zel- len. 40% tot. Sehr dicke Wand. 33% viel Glykogen.

V. Einsaatmenge in der Volumeneinheit 0,69—0,83  
Zellen.

	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen
1. Kontrolle Einsaat 0,69.	20 : 12,9 (V = 0,64), Vermehrung 19,1 mal.	18,9 : 13,1 (V = 0,69), Vermeh- rung 34,5 mal.	18,6 : 12,4 (V = 0,67), Vermeh- rung 42,9 mal.
2. 0,001% Octylalko- hol, 0,78 Einsaat.	20,4 : 13,1 (V = 0,64). Vermeh- rung 16,2 mal.	20,4 : 13,3 (V = 0,65). Vermeh- rung 27,4 mal.	19,3 : 12,9 (V = 0,67), Vermeh- rung 33,6 mal.
3. 0,002% Octylalko- hol, 0,83 Einsaat.	19,3 : 13,4 (V = 0,69). 3% runde Zellen, Vermeh- rung 12,5 mal.	19,7 : 14,5 (V = 0,74). keine run- den Zellen, Ver- mehrung 22,7 mal.	19,6 : 14 (V = 0,71), keine runden Zel- len, Vermehrung 27,2 mal.

Von dem letzten Versuch (V) wurde auch eine Kohlensäure-  
entwicklungsbestimmung durchgeführt.

## Kohlensäureentwicklungsbestimmung zu Versuch V.

	Tage			
	1	2	3	4
1. ccm CO <sub>2</sub>	8,0	57,0	65,0	69,0
2. ccm CO <sub>2</sub>	10,0	52,0	61,0	70,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	10,0	50,0	60,0	69,0

Bei sämtlichen bisher durchgeführten Versuchen schwankt die Einsaatmenge nur innerhalb der einzelnen Versuchareihen in den Grenzen, die sich beim Herauspipettieren der Hefeaufschlemmung zu der Würze nicht umgehen lassen.

Es sollen diese Versuche im Zusammenhang besprochen werden.

Eine Menge von 0,004% Octylalkohol verhält sich wie eine solche von 0,002%. Eine Schädigung, die sich durch Absterben der Zellen bemerkbar macht, ist hier nicht mehr vorhanden, nur bei der Gärung scheint immer noch eine geringe Hemmung, wie die Gärungstabelle V zeigt, aufzutreten. Betrachtet man die Versuche IV, 2 und V, 3, die wegen der fast gleichen Einsaat vergleichbar sind, so ist zwischen beiden genannten Octylalkoholmengen kein Unterschied im Einfluß auf die Vermehrungsstärke der Hefe aufzufinden (1. Tag 11,7 und 12,5 mal, 3. Tag 26,7 und 27,2 mal).

Da die Vermehrungsstärke außerordentlich von der Einsaatmenge beeinflusst wird, so läßt sich nach den oben mitgeteilten Versuchen nicht ganz sicher sagen, ob 0,002% Alkoholzusatz die Vermehrung schädlich beeinflusst.

Die Menge 0,001% ist sicher ohne Einfluß.

Beachtenswert ist, daß bisher nirgends eine Anregung der Vermehrung und der Gärkraft wahrzunehmen war, was sonst bei kleinsten Giftmengen einzutreten pflegt. Ferner ist von großem Interesse, daß im Versuch III bei etwas größerer Einsaat der Octylalkohol in einer Menge von 0,017% gar keine Wirkung zeigt. Die giftige Einwirkung geht demnach durch Gegenwart von mehr Hefezellen verloren, was in Hinsicht auf das Gärungsgewerbe sehr wichtig ist.

Die Größenabmessungen in der Länge werden in der Regel nur wenig beeinflusst:

Bei 0,017% Zusatz (Versuch IV, 3) sind nach 2 Tagen die Zellen deutlich größer geworden als in der zugehörigen Kontrolle.

Es ist dies auf gehemmte Vermehrung zurückzuführen. Nach 3 Tagen ist das Umgekehrte der Fall.

Bei 0,033% waren die Zellen am vierten Tage auffallend klein.

Sehr auffallend sind die Einwirkungen auf die Breitenabmessungen, so daß die Zellen rundlicher bzw. rund werden.

Bei 0,027% (Versuch I, 3) sind am vierten Tage sämtliche Zellen rund, bei 0,017%, am gleichen Tage 36% bzw. 30% (Versuch IV, 3). Dies gibt sich auch deutlich in dem Verhältnis der Länge zur Breite (= V) zu erkennen:  $17,7 : 16,7 = \text{Verhältnis } 1 : 0,94$  (Versuch I) und  $17,1 : 15,6 \text{ V} = 0,91$ . Oft werden die Zellen durch die Octylalkoholeinwirkung nicht rund, sondern nur rundlicher, wie überall aus der Verhältniszahl leicht zu ersehen ist. Eine Menge von 0,004% Octylalkohol bewirkt schon deutlich eine mehr rundlichere Gestalt. Es zeigt sich dies besonders in Versuch II, 5 bei einem Gehalt von 0,017% Octylalkohol deutlich. Selbst 0,002% (Versuch V) hat noch eine geringe, aber deutliche Einwirkung in dieser Hinsicht. 0,001% ist endlich ohne Einfluß.

Das Rund- bzw. Rundlichwerden der Hefezellen ist der augenfälligste Einfluß der kleineren Octylalkoholmengen.

Erwähnt muß auch werden, daß 0,017% Octylalkohol (Versuch I und IV) eine verhältnismäßig große Zahl gleichgroßer Zellen entstehen läßt, was auf Wachstumshemmung zurückzuführen ist. So fanden sich hier nur 44 bzw. 50% Zellen, deren Größenabmessungen nur einmal vorhanden waren („Einzelabmessungen“). 52% Zellen im Versuch I hatten eine Länge von 19–20 (= 9,5–10  $\mu$ ).

Die Zellwände werden durch 0,027% (Versuch I) auffallend dicker, ähnlich durch 0,017% (Versuch IV), etwas weniger durch 0,004%, dagegen nicht mehr durch 0,002%.

Eine nicht zu übersehende Einwirkung ist schließlich die Fettansammlung im Zellinnern unter bestimmten Bedingungen. Bei 0,033% (Versuch I) sind hier wohl die bemerkenswertesten Erscheinungen zu finden gewesen. Das Fett bildete in den sonst anscheinend normalen Zellen entweder eine riesige Fettkugel oder sehr viel kleine. Langsam abgestorbene Zellen sind an den noch während des Lebens stattgefundenen Fettansammlungen zu erkennen.

Der Glykogengehalt wird natürlich ebenfalls von den Octylalkoholzusätzen beeinflusst, denn er hängt ja bekanntlich mit dem Vergärungsgrad in der Würze, mit dem Vermehrungsgrad und dem Alter der Zellen zusammen. Je mehr die Vergärung gehemmt ist, desto länger ist der Zucker in der Würze vorhanden, desto länger haben auch nach früheren Untersuchungen von Henneberg die Zellen viel Glykogen. Je älter unter gewöhnlichen Verhältnissen die Hefezellen sind, desto glykogenärmer sind sie. Bedingt also der Octylalkoholzusatz eine sehr langsame Vermehrung und Gärung, so werden sich hier noch lange Glykogenhefzellen vorfinden (z. B. Versuch I bei 0,027% Alkoholzusatz am vierten Tage; Versuch II, 5).

Als Schluß der Octylalkoholreihe ist nun noch ein Versuch anzuführen, bei dem nicht die Alkoholmenge variiert wurde, sondern die Einsaatmenge.

#### VI. Einsaatmenge 0,44—0,94 (in der Volumeneinheit).

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 3 Tagen.
1. Kontrolle Einsaat 0,44.	18,5 : 11,8 (V = 0,64), Vermehrung 25,36 mal.	19,3 : 12,4 (V = 0,62), Vermehrung 60,44 mal.	18,1 : 11,7 (V = 0,65), Vermehrung 63,15 mal.
2. Kontrolle Einsaat 0,67.	Vermehrung 21,29 mal.	Vermehrung 36,47 mal.	Vermehrung 42,5 mal.
3. 0,002% Octylalkohol, Einsaat 0,59.	Vermehrung 18,78 mal.	Vermehrung 40,67 mal.	
4. 0,002% Octylalkohol, Einsaat 0,94.	19,2 : 12,3 (V = 0,64), Vermehrung 12,14 mal.	19,6 : 13 (V = 0,66), Vermehrung 25,72 mal, keine runden Zellen.	18,2 : 12,9 (V = 0,71), Vermehrung 26,2 mal, keine runden Zellen.

#### Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.

	Tage		
	1	2	3
1. ccm CO <sub>2</sub>	7,0	72,0	81,0
2. ccm CO <sub>2</sub>	19,0	72,0	77,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	7,5	61,0	75,0
4. ccm CO <sub>2</sub>	11,5	68,0	76,0

Der Versuch läßt keine weiteren neuen Schlüsse zu, da die Menge des zugesetzten Octylalkohols 0,002% zu gering gewählt worden ist und als solche selbst bei einer kleinen Einsaatmenge

kaum eine Giftwirkung ausübt. Immerhin ist die Tabelle angeführt worden, da genaue Hefenvermehrungszahlen selten ermittelt werden und in diesem Sinne die Einfügung dieser Tabelle in die Arbeit rechtfertigen. Die Hefe in Versuch VI, 3 hat sich trotz kleinerer Einsaat in den ersten 24 Stunden weniger vermehrt als im Kontrollversuch VI, 2. In weiteren 24 Stunden ist dies nicht mehr der Fall. Hier ist also jedenfalls eine geringe Vermehrungshemmung zuerst eingetreten. Auch ein geringes Rundlichwerden zeigt wieder der Versuch VI am zweiten und dritten Tag bei 0,002% Zusatz.

Sind Nonylsäure und Octylalkohol Stoffe gewesen, deren Auftreten bei der Gärung wir zwar wahrscheinlich machen, aber deren Entstehung nicht mit Sicherheit nachgewiesen ist, so soll als letzter Versuch eine Gärung mit Isoamylalkohol, dem Hauptbestandteil des Fuselöls, durchgeführt werden, der zwar nach Traubes Regel 27 mal weniger oberflächenaktiv ist als Octylalkohol, dafür aber in verhältnismäßig großen Mengen in der Würze bei der Gärung auftreten kann.

### Versuch mit Amylalkohol in Würze.

	Nach 1 Tage.	Nach 2 Tagen.	Nach 5 Tagen.
1. Kontrolle, Oberflächenspannung 77,0.			1% tot.
2. 0,13% Amylalkohol, Oberflächenspann. 74,0.			3% tot.
3. 0,27% Amylalkohol, Oberflächenspann. 64,0.	3% tot	3% tot.	4% tot, viel Fettbildung.
4. 0,54% Amylalkohol, Oberflächenspann. 66,0.	3% tot.	8% tot.	10% tot, ziemlich viel krank.
5. 0,8% Amylalkohol, Oberflächenspann. 66,0.	8% tot, viele krank.	Wenig Vermehrung, 50% tot.	60% tot, sonst krank.

### Kohlensäureentwicklung derselben Versuchsreihe.

	Tage						
	1	2	3	4	5	6	7
1. ccm CO <sub>2</sub>	11,5	55,0	59,0	64,0	68,0	—	70,0
2. ccm CO <sub>2</sub>	17,0	55,0	58,0	64,0	68,0	—	70,0
3. ccm CO <sub>2</sub>	10,0	33,0	40,0	48,0	54,5	—	57,0
4. ccm CO <sub>2</sub>	8,0	24,5	43,0	58,0	64,0	—	69,0
5. ccm CO <sub>2</sub>	2,5	16,0	36,0	54,0	58,0	—	67,0

Betreffs des Amylalkohols läßt sich aus dem einen Versuch nur folgern, daß erst eine Menge von 0,54% schädlich und von 0,8% sehr schädlich wirkt.

In bezug auf die Vergärungszahlen ist zu sehen, daß die Angärung mit steigenden Mengen des Alkohols verzögert wird, daß aber der Endvergärungsgrad nicht in Mitleidenschaft gezogen wird.

#### Zusammenfassung.

1. Nonylsäure wirkt in ihrer Eigenschaft als oberflächenaktive Substanz mit steigenden Mengen von 0,005—0,02% zunächst gärungsverzögernd und dann hemmend. Die Einwirkung auf die Hefezelle macht sich mit zunehmender Menge in Erkrankungs- und Absterbeerscheinungen bemerkbar. Zu gleicher Zeit tritt als Folge der Einwirkung häufig Formveränderung (Rund- und Rundlichwerden) und Fettbildung auf.

2. Octylalkohol in Mengen von 0,017—0,04% zeigt analoge Erscheinungen wie Nonylsäure. Kleinere Mengen als 0,017% machen sich besonders an den Formveränderungen, wie unter 1. angegeben, bemerkbar.

3. Verschiedene Versuche wiesen darauf hin, daß die Oberflächenaktivität dieser Stoffe und nicht eine chemische Eigenschaft der Grund obiger Erscheinungen ist.

4. Da diese oder ähnliche oberflächenaktive Stoffe sowohl bei der Gärung nachgewiesen sind, als auch nach theoretischen Überlegungen entstehen können, könnten diese Stoffe unter bestimmten Verhältnissen (kleine Hefeneinsaat) in der Praxis Gärverzögerungen bedingen.

# Über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens.

Von  
E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 18. April 1920.)

Vor langen Jahren habe ich<sup>1)</sup> auf die antiseptische Wirkung des Chloroforms aufmerksam gemacht und auf seine Anwendbarkeit zum Nachweis von Fermenten, sowie als Antisepticum bei physiologisch-chemischen Arbeiten hingewiesen. Die Anwendung desselben ist seitdem neben dem von Emil Fischer eingeführten Toluol Allgemeingut geworden. Auf die Frage, welche Substanz<sup>2)</sup> den Vorzug verdient, will ich nicht näher eingehen, nach meinen Erfahrungen scheint es mir, daß das Toluol „schonender“ ist, d. h. nicht so leicht Fermente schädigt, wenn sie nur in kleinen Mengen vorhanden sind, ein Vorwurf, von welchem das Chloroform nicht ganz freizusprechen ist, daß aber andererseits das Chloroform dem Toluol hinsichtlich seiner bactericiden und Protoplasma tötenden Eigenschaft überlegen und darum in manchen Fällen vorzuziehen ist. Daß auch andere nahestehende Chlorderivate antiseptische Eigenschaften haben, habe ich l. c. am Schlusse meiner damaligen Mitteilung kurz erwähnt, andere

<sup>1)</sup> Dtsch. med. Wochenschr. 1888, Nr. 16.

<sup>2)</sup> Vielfach ist es in den Kliniken üblich, zur Harnkonservierung beide Substanzen Chloroform und Toluol zugleich anzuwenden. Das ist mindestens überflüssig, kann aber auch Nachteile haben. Beim Eindampfen von toluolhaltigem Harn kann es leicht zu unangenehmen Bränden kommen, um so mehr, als meistens viel zu viel Toluol angewendet wird. Ganz verkehrt ist es natürlich, beide Substanzen anzuwenden und dann zu schütteln, da durch das Toluol das Chloroform ausgeschüttelt wird. Bei schwer zu sterilisierenden oder schon infizierten Flüssigkeiten kann es sich ereignen, daß sie trotz des Zusatzes beider Antiseptica verderben bzw. nicht sterilisiert werden. (Vgl. Kikkoji, Zeitschr. f. physiol. Chemie 63, 112. 1909.)



Arbeiten haben mich aber verhindert, diesen Gegenstand weiter zu verfolgen. Was mich jetzt dazu bestimmt, die Frage wieder aufzunehmen, ist der Umstand, daß das Chloroform neben seinen guten Eigenschaften auch eine unerwünschte hat, nämlich die, daß sich bei seiner Anwendung in eiweißreichen Flüssigkeiten stets Ausscheidungen von geronnenem Eiweiß bilden, wenn auch nur am Boden der Flasche, defibriertes Blut aber mit Chloroform geschüttelt, schon nach einigen Tagen zu einer festen Masse gerät, wie ich auch schon damals angegeben habe, so daß Chloroform bei Blut nicht anwendbar ist. Es war denkbar, daß andere Chlorderivate diese Eigenschaft nicht haben. Es war noch ein zweiter Grund, der mich zur Wiederaufnahme dieses Gegenstandes bewogen hat. Seit der Einführung von Verfahren, durch welche Blut in ein staubfeines wasserlösliches Pulver verwandelt werden kann<sup>1)</sup>, machte sich das Bedürfnis geltend, Blut, das an kleineren Orten beim Schlachten entfällt, in flüssigem Zustand und mindestens einige Tage frei von Fäulnis zu halten, da naturgemäß die maschinellen Einrichtungen, die dazu dienen, Blut in Pulver zu verwandeln, nur an einzelnen Zentralstellen bestehen können.

Um diesem Bedürfnis zu genügen, habe ich mich bemüht, andere Antiseptica zu finden, die von dem Fehler des Chloroforms frei sind. Naturgemäß faßte ich zunächst andere Chlorderivate des Methans und Aethans bzw. Aethylens ins Auge. Dieselben durften das Blut natürlich nicht verändern und mußten bei dem Verfahren der Verwandlung des Blutes in Pulver so vollständig entweichen, daß sich das Produkt in nichts von dem ohne Anwendung eines Konservierungsmittels erhaltenen unterscheidet. Die Beschäftigung mit den Chlorderivaten führte dann auch zu einigen Versuchen über ihre Anwendbarkeit bei Milch und Fleisch von einem anderen Gesichtspunkte aus. Soviel ich weiß, wird das Auftreten der sogenannten Barlowschen Krankheit bei Säuglingen vielfach auf die zu einseitige Ernährung mit gekochter Milch, noch mehr auf durch Erhitzen über 100° sterilisierte

<sup>1)</sup> Soviel ich weiß, gibt es zwei derartige durch Patente geschützte Verfahren. Das Verfahren von G. A. Krause in München, bei dem das Blut im Vakuum verstäubt wird und während des Verstäubens zu einem feinen Pulver eintrocknet, und ein zweites von Sgalitzer in Wien, bei welchem das Blut durch Gefrierenlassen und Wiederauftauen lackfarben gemacht und dann auf heißen Walzen im Vakuum getrocknet wird.

Milch, wie die seinerzeit sehr beliebte Scherffsche Milch<sup>1)</sup> zurückgeführt, die für die Ernährung, namentlich bei vorübergehendem Wechsel des Aufenthaltes z. B. in Sommerfrischen zweifellos große Vorteile bietet. Ich dachte mir nun, daß es nützlich sein würde, ein Verfahren zu besitzen, das die Milch sicher sterilisiert, dabei aber die Eigenschaften der frischen Milch nicht verändert. Vielfach wurde oder wird — ich bin darüber natürlich nicht genau unterrichtet — die schädliche Wirkung des Kochens und mehr noch des Überhitzens auf die Zerstörung von Fermenten in der Milch zurückgeführt; ich muß gestehen, daß ich dieser Ansicht recht skeptisch gegenüberstehe. Möglicherweise aber enthält die Milch sehr labile Vitamine — wir kennen diese ja noch lange nicht vollständig —, die durch Kochen angegriffen werden. Selbstverständlich mußte das Konservierungsmittel ohne Kochen entfernbar sein.

Was das Fleisch betrifft, so knüpften meine Versuche an eine ältere Arbeit von mir über Atmidalbumose an. Diese selbst ging von dem Gedanken aus, den Fleischreichtum Südamerikas der europäischen Bevölkerung in besserer Weise nutzbar zu machen, als es in dem Liebig'schen Fleischextrakt geschieht. Ich hatte gedacht, dieses Ziel durch Überführung des Fleisches in Atmidalbumose zu erreichen, die natürlich sämtliche Bestandteile des Fleisches enthalten mußte. Da diese Versuche an dem schlechten Geschmack und der nicht ganz befriedigenden Resorbierbarkeit des Produktes gescheitert waren, drängte sich mir der Gedanke auf, ob das Ziel nicht vielleicht durch Einlegen des zerkleinerten Fleisches in Lösungen von Chlorderivaten zu erreichen sein möchte, von denen ich annahm, daß sie sich bei der Zubereitung des Fleisches ganz verflüchtigen würden. Eine Konservierung des Fleisches durch das Pökelfverfahren ist zwar seit undenklichen Zeiten bekannt, aber das Fleisch verliert dabei ja den Charakter von frischem Fleisch und unterliegt auch im gewissem Grade der Autolyse. Diese Versuche liegen zum größten Teil sehr weit zurück. Sie fallen in die Zeit vor Einführung des Gefrierfleisches und vor Auffindung der Autodigestion oder

---

<sup>1)</sup> Von dieser habe ich in den achtziger Jahren des vorigen Jahrhunderts in meiner Familie umfangreich Anwendung machen lassen, glücklicherweise ohne mit der Barlowschen Krankheit Bekanntschaft zu machen oder irgendwelche Ernährungsstörungen zu bemerken.

Autolyse, die sich in äußerst unerwünschter Weise bemerkbar machte, ohne daß ich damals eine Einsicht in das Wesen des Vorganges hatte. Ausgeschlossen ist übrigens die Autolyse auch beim Einsalzen des Fleisches nicht, wie namentlich Schmidt-Nielsen<sup>1)</sup> an Heringen nachgewiesen hat. Die einzige Substanz, welche die Autolyse ausschließt und dabei das Produkt keineswegs zum Genuß unbrauchbar macht, ist, wie meine Versuche<sup>2)</sup> mit auskoagulierte[m] Blute beweisen, das Formalin in  $\frac{1}{2}$ —1 proz. Lösung.

Ich gehe nun zur Mitteilung der Versuchsergebnisse über, möchte dabei vorher nur noch die Bemerkung machen, daß eine lückenlose Durchführung der Versuche durch die Verhältnisse im Kriege und nach demselben unmöglich gemacht wurde. Zur Orientierung des Lesers werde ich kurze Angaben über die Eigenschaften der benutzten Substanzen machen.

1. Methylchlorid = Monochlormethan  $\text{CH}_3\text{Cl}$ . Gas, das verflüssigt, bei  $-23,7^\circ$  siedet. Ich stellte es durch Erhitzen von Methylalkohol, Chlornatrium und Schwefelsäure dar. Das Gas passierte eine Kalilauge enthaltende Waschflasche und wurde unter Anwendung von  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Liter Milch jedesmal etwa eine Stunde lang oder auch länger eingeleitet<sup>3)</sup>. Die Milch hielt sich, in einer Flasche mit Korkstöpsel aufbewahrt, solange die Beobachtung reichte — etwa acht Tage lang — unverändert, Säuerung trat nicht ein. Der Geschmack war merklich verändert, namentlich schmeckte sie süßer. Es fragte sich nun, wie man das Methylchlorid wieder aus der Milch entfernen sollte. Bei der Flüchtigkeit desselben hätte man erwarten sollen, daß hierzu ein Luftstrom genügen müsse. Diese Annahme erwies sich beim Versuch als nicht zutreffend. Anscheinend vollständig — soweit man es nach dem Geschmack beurteilen konnte — gelang die Austreibung durch einen Luft- oder Sauerstoffstrom nur bei gleichzeitiger Erwärmung der Milch auf etwa  $40^\circ$ ; dieses Verhalten, das zweifellos auf der Absorption von Methylchlorid durch das Milchfett beruht, hebt natürlich jeden Gedanken an praktische Anwendbarkeit auf, so daß ich alle weiteren Versuche aufgab.

Über die Sterilisierung finde ich in den alten Aufzeichnungen nichts angegeben. Gern hätte ich die Versuche nach dieser Richtung vervollständigt.

<sup>1)</sup> Beiträge zur chem. Phys. u. Pathol. 3, 266. 1903.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 71, 383. 1915.

<sup>3)</sup> Diese Versuche habe ich bereits in einer Fußnote in der Berl. klin. Wochenschr. 1915, Nr. 23 erwähnt.

dig, wenn sie durch den Bezug von verdichtetem Methylchlorid in Stahlflaschen erleichtert worden wären, solche waren aber zu der Zeit, als ich die Versuche machen wollte, nicht zu haben. Versuche mit Blut konnte ich wegen Mangel an diesem nicht anstellen.

2. Chloroform = Trichlormethan  $\text{CHCl}_3$ . Siedepunkt  $61^\circ$ . Löslichkeit in Wasser: 7,5 g oder ungefähr 5 ccm in einem Liter.

Das Verhalten von Milch zu Chloroform ist bereits in der Dtsch. med. Wochenschr. 1888, Nr. 16 angegeben. Der Vollständigkeit wegen sei die betreffende Stelle hier mitgeteilt:

„Milch bewahrt, in einer verkorkten Flasche mit etwas Chloroform durchgeschüttelt, ihre ursprüngliche neutrale resp. schwach alkalische Reaktion dauernd. Nach einigen Monaten — ziemlich regelmäßig 3 Monate — geseht sie zu einer zitternden Gallerte, welche sich durch starkes Schütteln zerstören läßt: sie trennt sich dann in einen weißen Bodensatz von Casein und Fett und eine gelbliche, klare, darüberstehende Flüssigkeit, welche sich albuminhaltig erweist. Dieselben Erscheinungen hat auch Meissner bei steril aufbewahrter Milch beobachtet.“ Ebenso wenig wie Methylchlorid läßt sich Chloroform durch einen Luftstrom ohne Erwärmen austreiben.

Das Festwerden von mit Chloroform versetztem Blut läßt sich verhindern oder mindestens stark verzögern durch kleine Mengen von Natriumcarbonat. 200 ccm Blut wurden am 28. IV. mit Chloroform durchgeschüttelt, dann mit 1 ccm einer 10proz. Lösung von Natriumcarbonat (wasserfrei) versetzt. Das Blut wurde allmählich lackfarben, zeigte aber sonst keine Veränderung abgesehen von einem geringen rötlich-weißen Niederschlag, der allmählich an Menge zunahm, am 18. V. etwa einen Zentimeter hoch war. Das Festwerden des Blutes scheint danach von in einigen Tagen aus dem Chloroform gebildeter Salzsäure abzuhängen.

Die Versuche mit Fleisch liegen sehr weit zurück, sie stammen aus einer Zeit, als über Autolyse noch nichts bekannt war. Feingehacktes Fleisch hielt sich mit Chloroformwasser unter Zugabe von etwas Chloroform anscheinend unbegrenzt. Die Abkochung schmeckte bitter, augenscheinlich wegen Peptongehalt, das Fleisch süß von in ihm verbliebenem Chloroform. Selbst durch Braten ist das Chloroform merkwürdigerweise nicht ganz auszutreiben, so daß an eine praktische Verwertung nicht zu denken ist.

3. Methylchlorid.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ist eine leicht bewegliche, bei  $41,6^\circ$  siedende, in Wasser nur wenig lösliche Flüssigkeit. Es wurde versucht, die Löslichkeit durch Tastversuche annähernd zu ermitteln. Zu 200 ccm Wasser, die sich in einer 300 ccm fassenden

Glasstöpselflasche befanden, wurde allmählich aus einer Pipette eine abgemessene Menge Methylenchlorid hinzugesetzt und nach jedesmaligem Zusatz kräftig geschüttelt, so lange bis die Lösung nicht mehr ganz klar erschien. War diese Grenze erreicht, so wurde 1 Liter Wasser mit der so festgestellten Quantität Methylenchlorid auf der Schüttelmaschine anhaltend geschüttelt. 1 Liter Wasser löst danach 9 ccm = 12,24 g Methylenchlorid. Die Löslichkeit ist also erheblich größer als die des Chloroforms.

Das Methylenchlorid hat ausgezeichnete konservierende Eigenschaften, wie folgende beispielsweise angeführte Versuche zeigen:

1. 100 g feinghacktes Fleisch wurden am 27. XI. mit 250 ccm Wasser und einer die Löslichkeit übersteigenden Quantität Methylenchlorid stark geschüttelt. Am 16. XII. noch kein fauliger Geruch bemerkbar. Die Mischung wurde aufgeköcht — auch dabei kein unangenehmer Geruch bemerkbar — koliert, abgepreßt, das Fleisch war gut genießbar.

2. 100 ccm Blut wurden am 9. III. mit 1 ccm Methylenchlorid geschüttelt. Am 19. III. war das Blut lackfarben, im übrigen unverändert. Beim Überimpfen auf Nährgelatine zeigte sich bis zum 30. III. keine Entwicklung, dann traten spärliche Kolonien auf, die sich langsam vermehrten. Hinsichtlich der antiseptischen Wirkung steht das Methylenchlorid also doch dem Chloroform nach, sein Vorzug ist, daß es nicht wie das Chloroform ein Festwerden des Blutes bewirkt. Dabei möchte ich eine sehr auffällige Beobachtung nicht unerwähnt lassen. Als Blut, das seit dem 28. II. durch Borsäure konserviert war (12 g Borsäure auf 300 ccm Blut), am 6. VII. mit Methylenchlorid versetzt und geschüttelt wurde, bildete es schon nach halbstündigem Stehen eine feste Masse. Dasselbe geschah — und zwar sofort, — als mit Traubenzucker gesättigtes konserviertes Blut mit Methylenchlorid versetzt wurde. Eine Erklärung dieser seltsamen Erscheinung vermag ich nicht zu geben.

Es handelte sich nun um die Frage, ob sich aus dem mit Methylenchlorid konservierten Blut ein in Wasser lösliches Trockenpräparat herstellen ließe. Eine der Krauseschen ähnliche Apparatur zur Verstäubung stand mir nicht zur Verfügung. Statt dessen diente hierzu ein Apparat, der in der Festschrift zur Einweihung des neuen Pathologischen Instituts<sup>1)</sup> schon kurz erwähnt ist<sup>2)</sup>. Er besteht aus einem horizontal liegenden, luft-

<sup>1)</sup> Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin. Berlin 1906, Verlag von Hirschwald, S. 96.

<sup>2)</sup> Einen Faustschen Apparat zum Eintrocknen durch einen Luftstrom, der noch geeigneter gewesen wäre, besitzt das Institut leider nicht. Auch im Vakuum-Abdampfapparat hätte sich das Eintrocknen so geringer Blutmengen wahrscheinlich leicht bewirken lassen. Dieser ist zwar vorhanden, aber bei dem geringen Wasserdruck — der Auslaß liegt etwa 14 m über dem Straßenniveau — nur selten brauchbar; der niedrige Wasserdruck behindert natürlich den Labcratoriumsbetrieb überhaupt erheblich.

dicht verschließbaren und durch einen untergesetzten Brenner heizbaren Kupferzylinder von ca. 40 cm Länge und 17 cm Durchmesser, der in seinen Dimensionen entsprechendes halbrinnenförmiges Bleigeäß enthält, das zu Versuchszwecken mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt wird. Es ist mit einer durchlochtem Metallplatte bedeckt. Auf diese kommen die Gefäße zu stehen, welche die zu trocknende Substanz enthält, im vorliegenden Falle ein Blechkästchen mit niedrigen Wänden von 34,5 cm Länge und 10 $\frac{1}{2}$  cm Breite. Der Zylinder wird durch eine mit einem Elektromotor betriebene Luftpumpe während des Versuches dauernd ausgepumpt<sup>1)</sup>. Die Verschlussplatte bestand anfangs aus einer Spiegelglasplatte mit Gummidichtung. Da dieselbe aber beim Gebrauch wiederholt sprang — sie mußte natürlich fest angeschraubt werden —, so erwies es sich als notwendig, sie durch eine Messingplatte zu ersetzen. Das Blechkästchen wurde minimal eingefettet, damit sich das eingetrocknete Blut leichter ablösen ließ. Zu dem Zweck wurde es mit etwa 15 ccm 1—2 Tropfen Paraffin enthaltenden Äther schnell ausgespült. Die Eintrocknung nahm bei einer Temperatur von ca. 40° mehrere Stunden in Anspruch, wenn 30—35 ccm Blut angewendet waren.

Am 19. III., also 10 Tage nach dem Zusatz des Methylenchlorids wurde das Blut in den Apparat gebracht und getrocknet. Das getrocknete Blut löste sich leicht in Schollen ab und stellte nach dem Verreiben<sup>2)</sup> ein bräunlich-rotes Pulver dar, das sich ebenso wie das zum Vergleich herangezogene Krausesche Blutpulver in etwa 10 Teilen Wasser etwas träge aber vollständig löste. Die filtrierte Lösung zeigte Oxyhämoglobinstreifen, daneben aber stets auch den Hämatinstreifen im Rot. Sie war ganz geschmackfrei, bzw. sie zeigte den faden Geschmack von verdünntem Blut. Die Untersuchung auf etwaige Reste von Methylenchlorid wurde mit Rücksicht darauf, daß sie sehr umständlich gewesen wäre und Methylenchlorid sich doch durch Geruch und Geschmack verraten hätte, unterlassen.

Die konservierende Eigenschaft des Methylenchlorids versagte aber merkwürdigerweise bei der Milch. Nach einigen Tagen war die damit versetzte Milch zwar nicht geronnen, wie die Kontrollmilch, hatte aber doch schon saure Reaktion angenommen. Ob diese von abgespaltener Salzsäure herrührte, was unwahrscheinlich ist, da sich solche auch beim Blut hätte bemerkbar machen müssen, oder von Milchsäurebildung, muß dahingestellt

<sup>1)</sup> Einen ähnlichen Apparat, jedoch in größerem Maßstabe ausgeführt, hat Siegmund Fränkel angegeben. Diese Zeitschr. 74, 117, 1916.

<sup>2)</sup> Die Beobachtung von Herzfeld und Klinger, Diese Zeitschr. 78, 349, 1917, daß das Verreiben von trockenem Serumalbumin zu Pulver seine Löslichkeit beeinträchtigt, war damals noch nicht bekannt.

bleiben. In letzterem Falle müßte man annehmen, daß die Milch überhaupt ein milchsäurebildendes lösliches Ferment enthält, dessen Existenz an sich nach verschiedenen Autolyseversuchen mit Leber und Fleisch nicht bezweifelt werden kann.

4. Acetylendichlorid = Dichloräthylén<sup>1)</sup>. Das symmetrische Acetylendichlorid  $\text{CH}_2\text{Cl}$  vom Siedepunkt  $55^\circ$ , ist gleichfalls



eine leicht bewegliche Flüssigkeit von chloroformartigem Geruch und geringer Löslichkeit in Wasser. Sie ergab sich zu 4 ccm in  $\frac{1}{2}$  Liter Wasser, also auch nicht unbeträchtlich größer als die des Chloroforms. Es stand in zwei Formen zur Verfügung als reines und als technisches, in der Löslichkeit zeigte sich kein Unterschied.

Je 200 ccm Blut wurden am 27. IV. in einer Glasstöpsel- flasche mit 1 ccm Acetylendichlorid versetzt und mit der Hand kräftig geschüttelt. Am 3. V., also nach 6 Tagen waren beide Proben lackfarben, sonst unverändert, abgesehen von einer geringen rötlich-weißen Abscheidung am Boden der Flasche, die beim Stehenlassen allmählich an Menge zunahm, immer aber unerheblich blieb. Die Kontrollprobe war schon am 29. trotz Aufbewahrung im Eisschrank stark faulig.

a) Von dem mit reinem Acetylendichlorid versetzten Blut wurde am 6. V. also nach 9 Tagen abgeimpft: bis zum 9. V. war keine Entwicklung zu bemerken, am 11. V. spärliche Entwicklung, am 16. V. beginnende Verflüssigung. Völlige Sterilisierung ist also auch durch das Acetylendichlorid im Gegensatz zum Chloroform nicht erreicht. Am 7. V., also 10 Tage nach dem Ansetzen der Mischung wurde das Blut mit Wasser verdünnt, unter Zusatz einer Spur Essigsäure auskoaguliert, unter wallendem Sieden ausgekocht. Trotzdem hatte das klare Filtrat noch einen süßlichen Geschmack. Das abfiltrierte, ausgewaschene und abgepreßte Koagulum erwies sich gänzlich geschmackfrei und wurde nach dem Erkalten vollständig auf Brot verzehrt. Irgendwelche Abweichung vom normalen Befinden wurde nicht beobachtet.

b) Von der Probe mit technischem Acetylendichlorid wurde gleichfalls am 6. V. auf Nährgelatine abgeimpft, auch hier war

<sup>1)</sup> Von Schuchardt in Görlitz bezogen, alle anderen Präparate von Kahlbaum.

eine Entwicklung bis zum 9. V. nicht zu bemerken, an den folgenden Tagen trat sie ein, und zwar etwas stärker als bei Mischung a). Am 8. V., also nach 11 Tagen, wurde der oben angegebene Kochversuch angestellt: das Resultat war dasselbe, das ganze Koagulum wurde verzehrt.

Von den beiden Blutproben wurde am 3. V. bzw. 4. V. ein Trockenpräparat hergestellt, das allen Anforderungen entsprach.

5. Trichloräthylen  $\text{CHCl}_3$  ist gleichfalls eine leicht bewegliche  
 $\text{CCl}_3$

Flüssigkeit von chloroformartigem Geruch. Der Siedepunkt liegt erheblich höher als der anderen geprüften Chlorderivate, nämlich bei  $88^\circ$ . Es erscheint daher a priori weniger geeignet, wurde aber in Betracht gezogen wegen seines weit niedrigeren Preises, wenigstens des technischen Präparates. Es ist äußerst schwer löslich — auch das sprach zu seinen Gunsten, falls es sich als brauchbar erwies.  $\frac{1}{2}$  Liter Wasser löste 0,8 ccm vollständig, 1 ccm unvollständig, die Löslichkeit ist also auf etwa 1,8 ccm im Liter zu schätzen. Am 27. IV. wurden 200 ccm Blut mit 1 ccm Trichloräthylen versetzt und kräftig geschüttelt, die äußeren Erscheinungen waren ganz dieselben wie beim Acetylendichlorid. Fäulniserscheinungen wurden nicht beobachtet. Man könnte vielleicht annehmen, daß der Fäulnisgeruch durch den Geruch des Trichloräthylens verdeckt sei. Dagegen spricht aber das Verhalten bei starker Verdünnung. Eine nach einem Monat entnommene Probe zeigte bei einer Verdünnung mit Wasser etwa auf das Zwanzigfache keinen Fäulnisgeruch. Nach einigen Tagen aber stellte sich Fäulnis ein, und das offene Glasgefäß bildete den Anziehungspunkt zahlreicher großer Fliegen.

Am 6. V., also nach 10 Tagen, wurde auf Nährgelatine übergeimpft, Entwicklung konnte bis zum 1. VI. nicht beobachtet werden, anders aber verhielt sich eine Überimpfung am 1. VI., also nach 34 Tagen; nach 4 Tagen wurde eine Spur von Kolonien beobachtet, die in den folgenden Tagen bis zum 20. VI. nicht merklich zunahm. Verflüssigung trat bei einer durchschnittlichen Außentemperatur von  $20^\circ\text{C}$  nicht ein. Am 10. V., also 13 Tage nach dem Ansatz wurde das Blut bzw. der größte Teil auskoaguliert. Das Filtrat war ungenießbar, das abfiltrierte, gewaschene und abgepreßte Koagulum dagegen ganz geschmack-



frei. Es wurde wiederum verzehrt, ohne daß sich irgendwelche Gesundheitsstörungen bemerkbar gemacht hätten.

Das am 6. V., also 9 Tage nach dem Ansatz hergestellte Trockenpräparat ließ nichts zu wünschen übrig.

Danach wäre Trichloräthylen wegen seiner Billigkeit und der geringen erforderlichen Quantität als das zu Unterrichtszwecken und auch für die praktische Anwendung geeignetste Präparat anzusehen, vorausgesetzt, daß es sich auch bei dem Verfahren im großen als vollständig flüchtig erweist. Die Notwendigkeit der Anwendung von Schüttelmaschinen würde unter Umständen im Großbetrieb — ich denke dabei an überseeische Länder — kein Hindernis sein.

Der Umstand, daß alle untersuchten Chlorderivate nicht so vollständig sterilisieren, wie es früher für das Chloroform gefunden ist, läßt Zweifel darüber aufkommen, ob die Beobachtungen über das Chloroform ganz richtig sind. Man könnte zunächst meinen, daß die Zeit zwischen Ansatz und Überimpfung zu kurz gewesen. Dieser Einwand läßt sich durch eine ältere Beobachtung widerlegen. Bei dieser wurde feingehacktes Fleisch mit Chloroformwasser unter Hinzufügung von Chloroform am 3. IX. angesetzt, am 20. VII. des folgenden Jahres übergeimpft, die Röhren bis zum 20. IX. beobachtet: keine Entwicklung von Kolonien.

6. Äthylchlorid  $C_2H_5Cl$ . Siedepunkt  $12^\circ$ . Löslichkeitsbestimmungen habe ich aus naheliegenden Gründen nicht machen können. Die Notizen über dasselbe sind abhanden gekommen, aus der Erinnerung kann ich nur sagen, daß es Blut nicht über 6 Tage hinaus konserviert; das wäre an sich ja wohl genügend, eine praktische Anwendung wäre aber durch seine Leichtflüchtigkeit ausgeschlossen, ich erwähne es nur deshalb, weil die Lösung des unter Anwendung desselben hergestellten Trockenpräparates, abweichend von allen anderen, keinen Absorptionstreifen im Rot zeigte, sondern nur die Oxyhämoglobinstreifen.

Es sind noch Versuche mit einigen anderen Chlorderivaten angestellt, aber nicht bis zur Herstellung eines Trockenpräparates durchgeführt, sie können daher übergangen werden, dagegen sei es mir gestattet, noch eine Mitteilung anzuknüpfen, die einer gewissen Kuriosität nicht entbehrt.

Man schrieb früher, etwa um das Jahr 1870 herum, dem Äthyläther eine konservierende, also entwicklungshemmende Wirkung zu, die sich unter günstigen Umständen bemerkbar machen sollte. In neuerer Zeit ist davon nicht mehr die Rede gewesen und doch war diese Annahme nicht unbe-

gründet, wie folgende Beobachtung zeigt. Übrigens hat Stadler<sup>1)</sup> gefunden, daß Äthyläther die Entwicklung von *Bact. coli* in Nährlösungen erst bei einem Gehalt von 2–3% verhindert.

Als ich im Oktober 1872 das Laboratorium übernahm, fand ich unter den Materialien eine größere Flasche mit der Aufschrift in Kühne's mir wohlbekannter Handschrift<sup>2)</sup>: „50 Eidotter in Äther Juli 1868“. Die Flasche war nicht besonders gut verkorkt, von Äther nichts mehr zu sehen, wohl aber zu der Zeit, als ich die im nachfolgenden beschriebenen Versuche machte, deutlich zu riechen. Es interessierte mich zu sehen, ob der Inhalt noch genießbar sei. Ich entnahm daher eine etwa walnußgroße Probe, übergieß sie mit ziemlich viel Wasser, erhitzte zuerst auf dem Wasserbad, dann gründlich auf freiem Feuer unter Umrühren, kolierte, preßte ab: sie erwies sich als ganz geschmackfrei. Da mit dem Inhalt der Flasche doch nicht viel anzufangen war, glaubte ich keinen Raub an Staatseigentum zu begehen — es ist ja außerdem bei den damaligen knappen Mitteln des Laboratoriums sehr wohl möglich, daß Kühne die Eier selbst bezahlt hatte — wenn ich die Eidotter verzehrte. Der Versuch war ja auch an sich von Interesse. Ich habe also im Winter 1917/18 die Eidottermasse portionsweise in Anteilen von ungefähr Walnußgröße bis doppelt so groß etwa im Laufe eines Monats verzehrt. Die erforderliche Quantität wurde mit einem eisernen Haken aus der Flasche gezogen, dann so behandelt wie die erste Versuchsprobe. Die Flasche wurde jedesmal mit demselben alten Kork wieder zugestöpselt, kein Äther nachgefüllt. Irgendwelche Gesundheitsstörungen traten nicht ein. Wenn man in Betracht zieht, daß die Eidottermasse fast 50 Jahre — es fehlen nur einige Monate daran — alt war, wird man nicht umhin können, dem Äther doch eine gewisse konservierende Wirkung zuzuschreiben. Übrigens handelte es sich augenscheinlich um die Reste von der Extraktion mit Äther, offenbar war die ätherische Lösung wiederholt abgegossen, denn von Fett war beim Kochen kaum etwas zu sehen. Bemerken möchte ich noch, daß ich die Flasche genau kannte und seit Oktober 1872 dauernd gewissermaßen unter meiner Aufsicht hatte.

<sup>1)</sup> Stadler, Arch. f. Hyg. 73, 203. 1912.

<sup>2)</sup> Ich bin bei W. Kühne in Heidelberg Assistent gewesen und habe später mehrfach mit ihm in brieflichem Verkehr gestanden. Kühne leitete das chemische Laboratorium des Pathologischen Instituts vor Liebreich, dessen Nachfolger ich wurde.

## Eine neue Methode quantitativer Brom-Bestimmung.

Von

G. Hartwich.

(Aus der I. Inneren Abt. des Städt. Krankenhauses Moabit, Berlin.)

(Eingegangen am 23. April 1920.)

Anlässlich klinischer Untersuchungen über die Bromausscheidung durch die Nieren wurde eine Anzahl der bisher beschriebenen Brombestimmungsmethoden versucht, aber wegen Umständlichkeit und Ungenauigkeit wieder fallen gelassen. Statt dessen wurde eine neue Methode ausgearbeitet und an vielen Serienversuchen (Strauss-Volhard'scher Wassertag) sowie an Kontrollen erprobt. Serienversuche konnten mit den anderen Methoden wegen des damit verbundenen Zeitaufwandes überhaupt nicht gemacht werden.

Prinzip der Methode: Mit Soda veraschter bromhaltiger Urin wird mit Schwefelsäure unter Kohlensäureentwicklung angesäuert. Dabei wird das Soda in  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und in etwas  $\text{NaHSO}_4$  übergeführt. Bei Zusatz von freiem Chlor wird dieses zuerst vom  $\text{NaHSO}_4$  verbraucht. Weiteres freies Chlor macht das Brom aus seinen Salzen frei. Das Brom wird mit Chloroform ausgeschüttelt. Sobald alles Brom entfernt ist, bleibt bei weiterem Chlorzusatz Chlor in Lösung. Aus der Menge Chlor, die nötig war, um alles Brom freizumachen, ergibt sich die vorhandene Brommenge durch Rechnung.

Durch etappenweise fortschreitende Chlortitrierung unter jedesmaliger Entfernung des freigewordenen Broms läßt sich diese Bestimmung ausführen.

Zur Erkennung, ob in dem Chloroform nach der Ausschüttelung Brom oder Chlor enthalten ist, bedarf es eines Indicators. Dieser findet sich in einer schwachen schwefelsauren Fuchsinlösung, die mit Brom einen violetten Farbstoff, mit Chlor einen gelben Farbstoff bildet (Wünsche, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 84, 1919, H. 6 und Guaresci, Zeitschr. f. analyt. Chemie 52, 528. 1913).

**Apparatur:** Zwei dünne 50 ccm-Büretten mit Ständer, ein 50 ccm-Schütteltrichter, Reagensgläser, Nickeltiegel, graduierte Pipette (5 ccm) usw.

**Reagenzien:** 1. Chloroform, verdünnte Schwefelsäure (10 %), 2. Chlorwasser (salzsäurefrei, selbst herzustellen), 3. Indicatorlösung in Tropfflasche (selbst herzustellen), 4.  $\frac{n}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung; Jodkali puriss. usw.

**Chlorwasserherstellung:** 3 große Bechergläser müssen so ineinanderpassen, daß das kleinste aufrecht im größeren steht und das mittlere umgekehrt im größten über das kleinste gestülpt werden kann. Das größte wird zur Hälfte mit frisch aufgekochtem, wieder abgekühlten destilliertem Wasser gefüllt. Das kleinste wird mit einigen Löffeln Chlorkalk und genügend Salzsäure beschickt, ins größte gestellt, wo es auf dem Wasser schwimmt, und mit dem mittleren überstülpt wird. Das sich bildende Chlor kann so nur in ganz geringen Mengen entweichen; man erhält sehr rasch Chlorwasser mit viel Chlorgehalt.

**Indicatorlösung:** Von einer 2 proz. alkoholischen Fuchsinlösung werden 10 ccm mit 10,0  $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure und Aqu. dest. auf 100,0 aufgefüllt und eine Weile stehengelassen.

#### Gang der Brombestimmung:

100,0 Urin werden mit etwas Soda im Nickeltiegel verascht, die Asche mit heißem Aqu. dest. ausgelaugt, filtriert und ausgewaschen. Das Filtrat soll etwa 50,0 ccm betragen. Menge des Filtrates wird notiert, dann mit der graduierten Pipette davon 5 ccm in den Schütteltrichter gefüllt. Ferner wird so viel verdünnte Schwefelsäure im Überschuß zugesetzt, bis keine Kohlensäure mehr frei wird (gelegentlich auftretende Gelbfärbung rührt von Urinfarbstoffen her und hat nichts zu sagen!), und dann in folgender Weise mit Chlorwasser titriert.

Chlorwasser wird in eine dunkle Bürette bis oben gefüllt; davon werden 20 ccm (genau!) in ein Kölbchen mit etwas Jodkalilösung gelassen (gleich schließen und schütteln, damit kein Chlor verlorengeht!) und die Bürette wird wieder aufgefüllt. — Nun werden 2 ccm Chlorwasser zu der im Schütteltrichter befindlichen Lösung aus der Bürette zugefügt. Sofort schließen und schütteln.

Sodann wird mit einigen Kubikzentimetern Chloroform ver-

setzt, ausgeschüttelt und das Chloroform in ein Reagensglas abgelassen. Ist bereits freies Brom im Chloroform enthalten, hat letzteres Gelbfärbung angenommen und färbt sich auf Zusatz von 3—5 Tropfen Indicatorlösung nach Umschütteln violett. Ist kein Brom enthalten, färbt es sich nicht und bleibt nach Indicatorzusatz unverändert.

Sodann werden weitere 2 ccm Chlorwasser zugesetzt, geschüttelt, Chloroformzusatz ausgeschüttelt und in ein zweites Reagensglas abgelassen. Wieder wird Indicatorlösung zugesetzt. — Zum dritten Male 2 ccm Chlorwasser zugesetzt und die ganze Prozedur wiederholt usw. — Gewöhnlich tritt schon im zweiten Reagensglase Violettfärbung auf.

Erst wenn alles Brom aus dem Schütteltrichter verschwunden ist, wird ein erneuter Zusatz von 2 ccm Chlorwasser das Chlor unverändert im Chloroform erscheinen lassen. Zusatz von Indicatorlösung macht nunmehr keine violette, sondern gelbe Färbung. Der Umschlag ist prompt!

Die Anzahl der violetten Gläser ergibt, wie oft 2 ccm Chlorwasser gebraucht wurden, um alles Brom freizumachen. — Der Rest des Chlorwassers in der Bürette kann zur Kontrolle ebenfalls in Jodkalilösung aufgefangen werden, doch erwies sich dies als überflüssig, da der Chlorgehalt des Chlorwassers stets derselbe blieb. — Das erste Kölbchen mit der braunen Jodkalilösung wird nun mit  $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung titriert. Damit erhält man den Titer des Chlorwassers und kann die Brommenge errechnen.

Zur Berechnung benutze man der Einfachheit halber folgende Formel:

$$\text{Brommenge (im Gesamturin)} = \frac{U_r \cdot cl \cdot T \cdot F}{\bar{u}r \cdot 12,5}$$

Dabei ist  $U_r$  = Gesamturinmenge, der die 100 ccm entnommen wurden,

$\bar{u}r$  = Menge des veraschten Urins (gewöhnlich = 100 ccm),

$T$  = Menge  $\frac{1}{10}$ -Fixiersalzlösung, die nötig war, um in 20 ccm Chlorwasser den Chlorgehalt zu bestimmen,

$F$  = Menge des Filtrates, dem die 5 ccm zum Schütteltrichter entnommen wurden,

$cl$  = zweimal die Anzahl der Reagensgläser, die Brom enthalten, d. h. Menge des dem Brom entsprechenden Chlorwassers in Kubikzentimetern.

12,5 = errechneter Faktor, der nur stimmt, wenn 5 ccm Filtrat und je 2 ccm Chlorwasser genommen wurden.

Die Formel erleichtert das ziemlich komplizierte Umrechnen, bei dem selbst dem Geübten leicht Ansatzfehler passieren.

Nach Veraschung dauert jede einzelne Bestimmung etwa 10–20 Minuten, wenn viel Brom vorhanden ist. Sonst geht es noch rascher. Die Arbeitsfehlerquellen sind sehr gering. Die Genauigkeit ist eine außerordentliche, wie die beiden folgenden Kontrollen beweisen:

Kontrollversuche (Zwischenrechnungen aus Raummangel fortgelassen):

1. 97 mg trockenes NaBr mit  $H_2O$  auf 25 ccm aufgefüllt. 5 ccm Lösung in den Scheidetrichter. Bestimmung ausgeführt.

Reagensgläser Nr. 1–9 violett, Nr. 10 gelb, d. h. es wurden 18 ccm Chlorwasser verbraucht.

Anfangstiter des Chlorwassers: 20 ccm = 2,1 Na-Thiosulfatlösung.

Schlußtiter des Chlorwassers: 20 ccm = 2,1 Na-Thiosulfatlösung.

18 ccm Chlorwasser entsprechen 15,1 mg Brom (35 Chlor entsprechen 80 Brom).

In 25 ccm Stammlösung sind dann 75,5 mg Brom, was der vorgelegten Brommenge entspricht, denn 97 mg NaBr = 75,3 mg Brom.

Kontrolle: Weitere 5 ccm untersucht. Im Scheidetrichter verdünnte Schwefelsäure zugesetzt. Bestimmung ausgeführt.

Ebenfalls Reagensgläser Nr. 1–9 violett, Nr. 10 gelb, Anfangs- und Schlußtiter des Chlorwassers: 20 ccm = 2,1 Na-Thiosulfatlösung.

Also gefundener Bromwert ebenfalls 75,5 mg.

Trotz des Multiplikators  $\times 5$  stimmen die gefundenen Werte also bis auf 2 Zehntelmilligramm mit der vorgelegten NaBr-Menge überein.

2. 100 ccm bromfreier Urin. 347 mg trockenes NaBr und etwas Soda zugesetzt. Eingedampft, verascht, gelöst, filtriert, nachgewaschen, eingedampft auf 131 ccm.

Davon 5 ccm. — 16 ccm Chlorwasser bis Farbumschlag verbraucht. Anfangs- und Schlußtiter des Chlorwassers = 1,6 Na-Thiosulfatlösung auf 20.

16 ccm Chlorwasser entsprechen 10,24 mg Brom.

In 131 ccm Stammlösung sind also 268,288 mg Brom = 345,4 mg NaBr.

Weitere 5 ccm Stammlösung zur Kontrolle bestimmt.

Resultat ebenfalls 16 ccm Chlorwasser bei Titer 1,6, also 345,4 mg NaBr.

Trotz des großen Multiplikators ( $1\frac{2}{3}$ ) also eine Genauigkeit bis auf 1,6 mg, wobei die Atomgewichte nicht mit Stellen hinterm Komma zur Rechnung benutzt wurden und die Kontrolle innerhalb des Versuches, die den in der vorliegenden Arbeit behandelten neuen Teil der Analyse ausmacht, völlige Übereinstimmung aufweist.

Wohl ließe sich die Methode durch Verwendung kleinerer Mengen Chlorwassers (jedesmal 1 ccm) oder größerer Mengen vom Filtrat noch verfeinern, doch wird auf der einen Seite der Chloroformverbrauch zu groß sowie die Zeit um das Doppelte verlängert, auf der anderen Seite sind die Schlußfehler beim Arbeiten mit größeren Flüssigkeitsmengen, Veraschen, Filtrieren usw. so groß, daß ein Schwanken um 1–2 mg niemals mit Sicherheit vermeidbar ist.

Selbstverständlich läßt sich mit geringen Abänderungen auch Brom in Organen usw. bestimmen, und zwar selbst Bruchteile eines Milligramms bei Benutzung von Mikrobüretten. — Bei der geschilderten groben Methode sind Anfang und Schluß der bromenthaltenden Reagensgläserreihe zwar um kleinste Mengen ungenau, doch läßt sich erstens durch die Intensität der Färbung schon nach geringer Übung der minimale Fehler abschätzen und verkleinern, zweitens macht er am Schluß niemals mehr wie 1–2 mg aus. — Hinzuweisen ist noch darauf, daß das Ausschütteln mit Chloroform sorgfältig zu geschehen hat und unter Umständen zu wiederholen ist. Die zweite Chloroformportion gehört natürlich nicht in ein gesondertes Reagensglas, weil sonst die Anzahl der Reagensgläser nicht mit der Anzahl der verbrauchten 2 ccm-Chlorwassermengen übereinstimmen würde.

Auch muß die Reihenfolge — erst Chlorwasser wirken lassen, dann mit Chloroform ausschütteln — streng innegehalten werden, weil sonst ein Teil des Chlors unbenutzt ins Chloroform übergeht. Die Bestimmung würde dann falsch.

Die Methode hat uns bei zahlreichen Serienbestimmungen von manchmal bis zu 20 Urinportionen am Tage gute Dienste geleistet.

# Zur Oligodynamie des Silbers.

## II. Mitteilung.

Von

**B. Doerr.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Basel [Vorsteher: Prof. Dr. Doerr].)

(Eingegangen am 23. April 1920.)

In einer früherén Mitteilung (s. diese Zeitschrift) wurde die Fortsetzung der dort begonnenen Untersuchungen über die Oligodynamie des Silbers in Aussicht gestellt, um über die chemische Natur des Trägers dieser Wirkung präzise Aufschlüsse zu erlangen. Die hier wiedergegebenen Versuche bewegten sich allerdings nicht in der projektierten Richtung, sind aber geeignet, als weiteres Beweismaterial für die Auffassung zu dienen, daß der bactericide Effekt von metallischem Silber auf Silbersalzen resp. Silberverbindungen beruht, welche der Oberfläche der Metallstücke auflagern und bei Berührung mit Wasser in Lösung gehen.

### I. Erschöpfung der bactericiden Wirkung metallischer Silberstücke.

Schon Miller konnte beobachten, daß Goldblättchen ihre keimtötende Wirkung verloren, wenn sie vorher erhitzt wurden. Miller nahm an, daß das Metall vor dem Glühen O an seiner Oberfläche kondensiert hatte, welcher durch die hohe Temperatur gleichzeitig mit der desinfektorischen Kraft verloren ging.

Das Tatsächliche dieser Angabe läßt sich für Silber leicht bestätigen. Ich schnitt aus einem Silberblech, wie dasselbe von der amtlichen Bezugsquelle geliefert wurde, einen 1 cm breiten, 10 cm langen Streifen aus, teilte denselben in zwei annähernd gleiche Hälften und glühte die eine in der Flamme des Bunsenbrenners aus, bis die Ränder zu schmelzen begannen. Nun wurden beide Stücke in Petrischalen mit Agar übergossen, der mit Typhusbacillen beimpft war, und 5 Stunden bei Zimmertemperatur und



darauf 16 Stunden bei  $37^{\circ}\text{C}$  gehalten. Um das nicht geglühte Stück Silberblech hatte sich eine keimfreie Zone von 4 mm Breite entwickelt, an welche sich nach außen ein schmaler Wall verdichteten Wachstums anschloß; an letzteren grenzte dann die normale (durch das Ag unbeeinflusste) Durchwucherung der Agarschicht mit winzigen Typhuskolonien. Das geglühte Stück zeigte keine Andeutung der bakterienfreien Zone; im Gegenteil, der Agar war auf eine Distanz von etwa 1,5 mm um die Konturen des Ag-Streifens stärker getrübt, so daß man den Eindruck erhielt, als ob der nach dem Glühen verbliebene Rest von Desinfektionswirkung eben nur ausgereicht hatte, um den gegenteiligen um das ungeglühte Stück als Wall zum Ausdruck kommenden Effekt hervorzurufen<sup>1)</sup>.

Es ist aber nicht notwendig, die Silberstreifen zu glühen, sondern man kann das nämliche Resultat erreichen, wenn man dieselben in mehrmals gewechseltem destilliertem Wasser auskocht. Wählt man die Menge Wasser im Verhältnis zur Silberoberfläche nicht zu groß (50 ccm auf 100 qcm Ag), so läßt sich zeigen, daß das zuerst aufgegossene Wasser vor dem Kochen keine besonders stark abtötende Wirkung auf Typhusbacillen ausübt, daß dagegen nach dem Kochen die desinfektorische Kraft so intensiv geworden ist, daß 5 ccm einer Verdünnung von 1 : 2 bis 1 : 4 eine reichliche Einsaat von Typhusbacillen zu vernichten vermögen und daß der desinfektorische Titer der weiteren Kochwässer sukzessive abnimmt.

Die Höhe der Temperatur scheint dabei nur insofern eine Rolle zu spielen, als die an der Oberfläche des Silbers lagernden Silberverbindungen durch das heiße Wasser rascher in Lösung gebracht werden. Das läßt sich in folgender Art demonstrieren:

**Versuch:** Ein Stück Silberblech wird in einer Petrischale mit typhusbacillenbeimpftem Agar übergossen und 5 Std. bei Zimmertemperatur, 16 Std. bei  $37^{\circ}\text{C}$  gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit zeigte sich ein wachstumsfreier Hof von 5 mm Breite.

Nun wurde das Ag-Stück herausgenommen und in derselben Weise ein zweites Mal behandelt. Die keimfreie Zone war nunmehr auf 2 mm reduziert.

Bei der dritten Wiederholung war überhaupt keine Andeutung von keimfreiem Hof zu sehen.

<sup>1)</sup>  $\text{Ag}_2\text{O}$  wird durch Glühen ebenso wie  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  in metallisches, nicht bactericid wirkendes Silber übergeführt, was mit den in der früheren Mitteilung geäußerten Ansichten gut übereinstimmt.

Diese Versuchsanordnung läßt sich ohne Änderung des Ergebnisses auch so variieren, daß man das Übergießen des Ag-Stückes nicht mit infiziertem, sondern mit sterilem Agar vornimmt, woraus hervorgeht, daß das Bakterienwachstum für die Erschöpfung der Bakterizidie irrelevant ist. Auch kann man so vorgehen, daß man statt der Wiederholung des Übergießens die Zeit des Kontaktes zwischen Ag und Agar verlängert, indem man das in die Gallerte eingebettete Silberstück 2—4 Tage stehen läßt. Prüft man dann durch Einbetten des derart vorbehandelten Metallstückes in infiziertem Agar seine keimtötende Wirkung, so bleibt die Entstehung der keimfreien Zone aus.

## II. Regeneration der bactericiden Wirkung.

Es war a priori wahrscheinlich, daß die in Verlust geratene desinfektorische Kraft metallischen Silbers auf dem Wege zu erneuern sein mußte, auf dem sie auch ursprünglich entstanden war. Schließlich passiert ja alles Ag, mit welchem oligodynamische Experimente gemacht werden, vorher einen Schmelzofen, war also von Haus aus unwirksam und kann erst während seiner Existenz als gewalztes oder geprägtes Silber bactericid geworden sein.

Daher wurde zunächst versucht, geglühte metallische Silberstreifen, welche nachweislich nicht mehr imstande waren, im typisch oligodynamischen Versuch Typhusbacillen abzutöten, an der Luft frei stehen zu lassen. Innerhalb von 10 Tagen, eines relativ allerdings sehr kurzen Zeitraumes, war die bactericide Wirkung nicht wiedergekehrt; diese Versuche sind jedoch noch nicht abgeschlossen und werden mit Anlegung von Kontrollen (geglühtes Silber unter Paraffinabschluß) fortgesetzt.

Wohl aber gelang die Regeneration augenblicklich durch kurzen Kontakt mit stark dissoziierten Säuren, z. B. Salzsäure, auch wenn dieselben hochgradig mit Wasser verdünnt waren. Es wirkten auch schwächer dissoziierte Säuren, z. B. 1 proz. Essigsäure, aber nicht in gleichem Maße. Die Kontrollen sind aus nachstehendem Protokoll zu entnehmen.

Versuch: Von 3 frisch ausgeglühten Silberstreifen (aus demselben Silberblech geschnitten) wurde der eine für 25 Min. in 0,3% HCl, der zweite in 1% NaOH für die gleiche Zeit eingelegt, der dritte blieb unbehandelt. Die zwei Streifen, welche in Säure resp. Lauge lagen, wurden 1 Std. in fließendem und dann in destilliertem Wasser gewaschen; gleichzeitig wurden Streifen aus Platinblech in derselben Art mit Säure und Lauge präpariert.

Alle Metallstücke kamen, nachdem sie abgetrocknet waren, in Petrischalen und wurden dort mit infiziertem Agar übergossen (Typhusbacillen). 5 Std. Zimmertemperatur, 16 Std. 37° C.

Um die beiden Pt-Bleche, ferner um das frisch geglühte und um das geglühte und mit Lauge behandelte Ag-Stück waren keine keimfreien Höfe zu sehen; um den mit Säure in Kontakt gewesenen Ag-Streifen entwickelte sich eine 4 mm breite wachstumsfreie Zone.

Wiederholungen dieses Experimentes fielen stets gleichsinnig aus, auch dann, wenn zu denselben nicht geglühtes, sondern durch langen (2—3 tägigen) Kontakt mit Agar oder durch Auskochen mit destilliertem Wasser unwirksam gewordenen Silber verwendet wurde.

Es scheint also, daß das metallische Silber seinen Überzug mit bactericiden, in Wasser schwerlöslichen Ag-Verbindungen durch die Berührung mit Luftsauerstoff, aber auch durch H-Ionen gewinnt, eine Ansicht, die ja schon mehrfach vertreten wurde.

Daß selbst sehr schwache Säuren die wirksamen Silberverbindungen bilden, welche dann in Lösung gehen, zeigt nachfolgender Versuch, in welchem ausgekochtes, destilliertes Wasser, Wasser, über welchem CO<sub>2</sub> stand, und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, welches Spuren H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthielt, mit gleichen Ag-Mengen zusammengebracht wurden.

Versuch: In drei sterile Glaskolben kamen Ag-Streifen mit je 140 qcm Oberfläche. Kolben I wurde mit 100 ccm frisch ausgekochten, destillierten Wassers gefüllt; in Kolben II kam die gleiche Flüssigkeit, sodann wurde CO<sub>2</sub> eingeleitet und der Kolben gasdicht verschlossen; in Kolben III wurden 100 ccm des Wassers und 5 ccm 30proz. Perhydrol Merk eingefüllt. Nach 7 Tagen wurden Proben entnommen und teils konzentriert, teils in steigenden Verdünnungen in sterile Eprouvetten eingefüllt, so daß jede Eprouvette 5 ccm enthielt. Sodann wurden zu jeder Verdünnung 0,05 ccm einer Emulsion von Typhusbacillen in 0,85proz. NaCl-Lösung zugesetzt und nach 7 stündiger Einwirkungsdauer eine Öse aus jedem Röhrchen auf Schrägagar übertragen.

	Kolben I	Kolben II	Kolben III
Konz. . . . .	θ	θ	θ
1 : 2 . . . . .	v.	θ	θ
1 : 4 . . . . .	v.	v.	θ
1 : 8 . . . . .	v.	θ	θ
1 : 16 . . . . .	s. r.	s. r.	θ
1 : 32 . . . . .	s. r.	s. r.	θ
1 : 64 . . . . .	—	—	θ
1 : 128 . . . . .	—	—	θ

θ = kein Wachstum, v. = vereinzelt Kolonien, s. r. = zusammenhängender Rasen.

In dem mit  $\text{CO}_2$  gefüllten Kolben war die Bactericidie des Wassers durch den Ag-Kontakt stärker geworden als in dem Kolben, in welchem die Silberfläche nur von ausgekochtem, ursprünglich also luftfreiem Wasser umspült wurde. Außerordentlich kräftig wirkte die mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  gewonnene Lösung, obwohl das  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Kochen und bei einer zweiten Probe durch Zusatz eines Tropfens Blut entfernt worden war (Kontrollen); es ist nur unentschieden, ob das  $\text{H}_2\text{O}_2$  selbst oder die verunreinigende  $\text{H}_2\text{SO}_4$  die Entstehung der bactericiden Silberverbindungen so intensiv gefördert hatte.

Es ist selbstverständlich, daß die Erschöpfung der bactericiden Wirkung nur bei metallischem Silber zu beobachten ist, nicht aber bei den schwerlöslichen Silberverbindungen selbst. Wenn man z. B. feinst gepulvertes, durch mehrfaches Auskochen in destilliertem Wasser gereinigtes  $\text{Ag}_2\text{O}$  auf Filtrierpapier in dünner Schichte aufstreicht und die  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Partikelchen dadurch am Papier fixiert, daß man die beschickten Papierstücke mit Celloidin einhüllt und dieses dann trocknen läßt (das Aufrollen läßt sich durch Pressen verhindern), so wirken solche  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Scheiben ganz wie entsprechend geformte Stücke metallischen Silbers. Es ist das eine Variante der von Bechhold benutzten Versuchsanordnung. Eine Differenz gegenüber dem Silber besteht nur darin, daß die Höfe um die  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Papiere etwas breiter sind und daß es hier häufiger zur Ausbildung einer doppelten wallartigen Verdichtungszone um den keimfreien Hof kommt; weiters kann man, wie bereits angedeutet, solche Scheiben wiederholt benützen, ohne daß ihre Bactericidie abnimmt, weil eben immer neues  $\text{Ag}_2\text{O}$  gelöst wird.

Alle diese Tatsachen, welche die Erschöpfung und die Wiederherstellung der bactericiden Effekte blanken Silbers betreffen, sprechen gegen die von Saxl vertretene Auffassung, daß es sich hier um eine dem Silber als solchem zukommende Fernwirkung handle; sie lassen sich aber auch nicht mit der Annahme vereinigen, daß das Silber selbst durch die Berührung mit Wasser in kolloide Lösung übergeführt wird. Wäre eine der beiden Theorien richtig, so könnte geglühtes, gekochtes oder mit Agar in Kontakt gestandenes Silber nicht völlig unwirksam sein. Weniger eindeutig sind die Erfahrungen, welche bei Dialyseversuchen gemacht werden konnten.

### III. Dialysierbarkeit der oligodynamischen Substanz.

Daß die an blanken Ag-Flächen entstehenden Silberverbindungen, welche nach den vorstehenden Ausführungen als Ursache der Bactericidie anzusehen sind, gut diffundieren, zeigt ja schon die Beschaffenheit und Breite der keimfreien Zonen, welche in typhusbacillen-infiziertem Nähragar auftreten. Diese Zonen, in welchen das Wachstum von Kolonien unterbleibt, werden bei manchen Silberstücken 4, ja 5 oder gar 6 mm breit und können dann die Breite der keimfreien Höfe erreichen, welche sich um  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Scheiben (in der beschriebenen Art hergestellt) bilden. Tränkt man andererseits gleichartig konturierte Filterpapierstücke mit  $\text{AgNO}_3$ -Lösungen, so fallen die steril bleibenden Zonen durchaus nicht breiter aus als bei Verwendung der  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Scheiben, obwohl letztere Verbindung so außerordentlich schwer löslich ist. In einem Versuche wurden unter gleichartigen Bedingungen vier gleich große sternartig zugeschnittene Stücke verglichen, von denen eines aus Silberblech, eines aus Filterpapier, bestrichen mit  $\text{Ag}_2\text{O}$  und überzogen mit Celloidin, eines aus Filterpapier getränkt mit  $\text{AgNO}_3$  (1 : 100) und eines aus Filterpapier getränkt mit  $\text{AgNO}_3$  (1 : 10 000) bestand. Die keimfreien Zonen, welche um diese Gebilde nach der Einbettung in typhusinfizierten Agar auftraten, waren am stärksten ausgeprägt bei  $\text{Ag}_2\text{O}$ , bei den  $\text{AgNO}_3$  Scheiben hingegen nicht breiter als beim metallischen Silber.

Dementsprechend dialysieren sowohl  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Lösungen als auch Wasserproben, welche ihr bactericides Vermögen durch Kontakt mit Silber erworben haben, leicht durch tierische Membranen (Fischblasen).

**Versuch:** In 4 Fischblasen (I, II, III und IV) wurden eingefüllt:

- I. 25 ccm destilliertes Wasser,
- II. 25 ccm einer konz. Lösung von  $\text{Ag}_2\text{O}$ ,
- III. 25 ccm einer 1 proz. Lösung von  $\text{H}_2\text{O}_2$ , welche 25 Tage mit 140 qcm Ag in Kontakt gewesen war, und
- IV. 25 ccm eines Wassers (gekocht, destilliert), welches 25 Tage eine Fläche von 140 qcm Silber bespült hatte.

Jede Fischblase wurde in 50 ccm destilliertes Wasser eingehängt und die Dialyse durch 24 Std. durchgeführt. Nach 24 Std. wurden von der Innen- und Außenflüssigkeit, bei IV auch von der nicht dialysierten Originalflüssigkeit Proben entnommen, fortschreitend mit Aq. dest. verdünnt und je 5 ccm der Verdünnungen in sterilen Eprouvetten mit 0,05 ccm einer

dichten Typhusbacillenemulsion versetzt. Nach 6stündiger Einwirkung Abimpfung je einer Öse auf Schrägagar.

	I.		II.	
	Innen	Außen	Innen	Außen
Konz. . . . .	v.	m. r.	θ	θ
1 : 2 . . . . .	s. r.	m. r.	θ	θ
1 : 4 . . . . .	s. r.	s. r.	θ	θ
1 : 8 . . . . .	—	—	θ	θ
1 : 16 . . . . .	s. r.	s. r.	θ	θ
1 : 32 . . . . .	s. r.	s. r.	θ	θ
1 : 64 . . . . .	—	—	v.	m. r.
1 : 128 . . . . .	s. r.	s. r.	θ	θ

	III.		IV.		
	Innen	Außen	Innen	Außen	Original
Konz. . . . .	θ	θ	θ	θ	θ
1 : 2 . . . . .	θ	θ	θ	θ	θ
1 : 4 . . . . .	θ	θ	θ	θ	θ
1 : 8 . . . . .	θ	θ	θ	θ	θ
1 : 16 . . . . .	θ	θ	m. r.	m. r.	v.
1 : 32 . . . . .	θ	θ	s. r.	s. r.	v.
1 : 64 . . . . .	θ	θ	—	—	m. r.
1 : 128 . . . . .	θ	θ	—	—	s. r.

θ = steril, v. = vereinzelt, m. r. = mäßig reichlich Kolonien, s. r. = zusammenhängender Rasen.

Wie I lehrt, konnte also die beobachtete Bactericidie nicht von Stoffen herrühren, welche die Fischblase an das Wasser abgegeben hatte. Die Lösung IV, welche durch langen Kontakt von gekochtem, destilliertem Wasser mit Ag gewonnen war, also nach dem Typus oligodynamischer Versuche, verhielt sich wie die Lösung eines dialysablen Silbersalzes (z. B. II); die bactericiden Werte für die Innen- und Außenflüssigkeit entsprachen der rechnungsgemäß zu erwartenden Verdünnung der Originallösung auf das Dreifache (25 ccm Innenflüssigkeit gegen 50 ccm Außenflüssigkeit).

In einem anderen Versuch war die Anordnung derart, daß Ag-Stücke in das im Inneren der Fischblasen befindliche Wasser gelegt wurden und daß sich die Typhusbacillen nur in der Außenflüssigkeit befanden. Das Silber oder die von demselben in Lösung tretenden Verbindungen vermochten somit nur nach vorheriger Dialyse bactericid zu wirken.

Versuch: 4 Fischblasen wurden innen mit 20 ccm dest. Wassers gefüllt und in 40 ccm Aq. dest. sterilis. eingehängt; 3 Fischblasen enthielten

außerdem Silberblech, und zwar Nr. 1 und 3 größere Flächen als Nr. 2. Nach 6stündigem Stehen wurden die Außenflüssigkeiten mit 0,25 ccm Typhusbacillenemulsion (in 0,85proz. NaCl) beimpft und nach weiteren 10 Stunden mit je 0,1 und 0,5 ccm jeder Außenflüssigkeit Gelatinezahlplatten gegossen:

I.	0,1 ccm . . . . .	blieb steril
	0,5 ccm . . . . .	blieb steril
II.	0,1 ccm . . . . .	960 Kolonien
	0,5 ccm . . . . .	1400 Kolonien
III.	0,1 ccm . . . . .	2 Kolonien
	0,5 ccm . . . . .	60 Kolonien
IV.	0,1 ccm . . . . .	2400 Kolonien
	0,5 ccm . . . . .	12000 Kolonien

Nach weiteren 10 Std. erwiesen sich allerdings sämtliche Außenflüssigkeiten (einschließlich der Kontrolle Nr. IV) frei von Typhusbacillen, vielleicht weil die vorher nicht gewaschenen Fischblasen nicht ganz frei von bactericiden Substanzen waren. Die starke und der wirksamen Silberoberfläche entsprechende Beschleunigung der Abtötung in den Außenflüssigkeiten Nr. I—III mußte aber wohl auf Silbersalze bezogen werden, die sich gelöst und die Membran durchwandert hatten.

In einer Beziehung ergab sich jedoch eine Unstimmigkeit, deren Aufklärung bisher zweifelhaft blieb.

Bringt man eine Fischblase in eine Petrischale, so daß der geschlossene Teil derselben in die Mitte der Schale zu liegen kommt, während das geöffnete Ende zwischen Untersatz und Deckel der Schale nach außen geleitet wird, und übergießt man den Schalenboden mit Nähragar, welcher mit Typhusbacillen beimpft ist, so wird die Kuppe der Fischblase in den Agar eingebettet, in welchem sich bei 37° C in Folge des Auswachsens der Keime eine dichte, an den Kontur der Fischblasenkuppe eng anschließende Trübung entwickelt. Füllt man vorher in die Fischblase 3 ccm destillierten Wassers, so ändert sich im Aussehen der Platten nichts. Befindet sich aber im Innern der Fischblase eine gleiche Menge konzentrierter, wässriger Lösung von  $Ag_2O$ , so dialysiert das letztere natürlich durch die Membran und nach der Bebrütung erscheint der Rand der Fischblase allseits von einer 2 mm breiten, keimfreien Zone umgeben, wie das ja von vorn herein erwartet werden muß. Die allseitige Umrandung des Fischblasenkonturs von einer wachstumsfreien Agarzone beobachtet man weiter auch dann, wenn man in die Kuppe der Fischblase vor der Einbettung in Agar 3 ccm destillierten Wassers und ein beliebig geformtes Filterpapier, auf dessen Oberfläche pulverisiertes  $Ag_2O$

mit Celloidin fixiert ist, bringt. Auch in diesem Falle umrahmt die keimfreie Zone in gleichbleibender Breite den Rand des Dialysiersackes und folgt nicht den Umrissen des  $\text{Ag}_2\text{O}$ -Papieres. Es löst sich also offenbar zuerst  $\text{Ag}_2\text{O}$  in der Innenflüssigkeit, dialysiert dann durch die Wand des Fischblasenschlauches und diffundiert nun gleichmäßig nach allen Seiten in die infizierte Agarschicht, wo die Keime abgetötet oder in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Ganz anders präsentiert sich aber das Bild, wenn man in den Dialysiersack Figuren aus Silberblech mit etwas Aq. dest. einlegt. Jetzt erscheint die Agarschicht überall von Kolonien dicht durchwachsen, auch in den an die Fischblase unmittelbar angrenzenden Partien; nur dort, wo sich das Silberblech dem Kontur des Fischblasensackes nähert, bleibt der Agar an der Außenseite des letzteren steril. Die wachstumsfreie Zone folgt also den Umrissen des Silberblechs und nicht den Konturen der Dialysiermembran, ein Ergebnis, welches bei dreimaliger Wiederholung des Versuches stets gleich blieb. Wie sich diese Erscheinung, welche eher für die Theorie S a x l s verwertbar zu sein scheint, deuten läßt, soll vorläufig nicht erörtert werden.

Dagegen möchte ich noch auf zwei Eigenschaften der Oligodynamie des Silbers eingehen, nämlich auf die Bildung der verdichteten Wachstumszone und auf die Silberhämolyse.

#### IV. Wachstumsbeförderung durch metallisches Silber und Silbersalze.

Bekanntlich grenzt an die keimfreien Höfe, welche die in beimpfte Agarplatten eingebetteten Ag-Stücke umgeben, eine schmale Zone verdichteten Wachstums, ein Wall, in welchem sich die Bakterienaussaat stärker entwickelt hat. Man hat dieses Phänomen vielfach mit den Liesegang'schen Ringen verglichen. In der Tat findet man, speziell bei sehr breiten keimfreien Höfen, nicht nur einen, sondern zwei konzentrische derartige Wälle stärkerer Bakterienvegetation, welche einen Abstand von etwa 1 mm voneinander besitzen. Es läßt sich bei schwacher Vergrößerung feststellen, daß die Bildung solcher Schichtlinien gesteigerter Wachstumsintensität und dichter Trübung des Agars nicht so sehr auf Zunahme der Zahl der Kolonien, als auf einer Vergrößerung der Kolonien, und zwar sowohl der oberflächlichen als auch der tiefen beruht. Dieses Auftreten von „Riesenkolonien“



überwiegt speziell dann, wenn man den zum Gießen der Platten und zur Einbettung der Ag-Stücke benützten Agar nicht zu stark beimpft, so daß die Kolonien Gelegenheit zu freierer Entfaltung bekommen; man sieht dann um das Ag-Stück den klar gebliebenen Agar, dann die Zone der relativ vergrößerten Kolonien und nach außen die für die gegebenen Verhältnisse normalen Kolonien dimensionen, wie sie ohne Ag-Wirkung zustande kommen.

Wie schon angedeutet, sind die beschriebenen Ringe nicht nur bei metallischem Silber, sondern oft noch viel deutlicher beim Einbetten von  $Ag_2O$ -Scheiben oder von mit  $AgNO_3$  getränkten Scheiben zu sehen. Statt kreisförmiger Scheiben sind Streifen oder Sterne mit Vorteil zu verwenden.

Man hat sich die Entstehung der Zonen gesteigerten Wachstums so erklärt, daß die Silbersalze in gewissen Konzentrationen entwicklungshemmend, in schwächeren aber als Stimulantien für den Bakterienstoffwechsel fungieren, und kann diese Auffassung durch folgendes Experiment stützen.

Es werden fortschreitende Verdünnungen irgendeines Silberpräparates z. B. von  $Ag_2O$  angefertigt und mit Typhusbacillen besät. Nach mehreren Stunden impft man von jeder Verdünnung auf Schrägagar ab und erhält nun zuweilen, wenn man die Konzentrationen richtig gewählt hat, keine regelmäßige abfallende Reihe der abtötenden Wirkung, sondern eine in graphischer Darstellung gesattelte Kurve. Es wäre das eine Zerlegung des auf der Platte stetig verlaufenden Phänomens in mehrere treppenartige Absätze.

Versuch:  $Ag_2O$ -Lösung wird fortschreitend mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt, jede Verdünnung (5 ccm) in steriler Epruvette mit einer gleichen Menge Typhusbacillen beimpft und nach 5 Std. von jeder Verdünnung eine Öse auf ein Schrägagarröhrchen übertragen.

Konzentration:						Keimgehalt:		
2,5	100fach	verd.	konz.	Lösung +	2,5	Aq. dest.	. .	0
2,0	"	"	"	"	+ 3,0	" "	. .	0
1,8	"	"	"	"	+ 3,2	" "	. .	0
1,6	"	"	"	"	+ 3,4	" "	. .	0
1,4	"	"	"	"	+ 3,6	" "	. .	v.
1,2	"	"	"	"	+ 3,8	" "	. .	m. r.
1,0	"	"	"	"	+ 4,0	" "	. .	s. r.
0,8	"	"	"	"	+ 4,2	" "	. .	v.
0,6	"	"	"	"	+ 4,4	" "	. .	4 Kolonien
0,4	"	"	"	"	+ 4,6	" "	. .	0

(Fortsetzung)	Konzentration:					Keimgehalt:
0,2	100fach	verd.	konz.	Lösung + 4,8	Aq. dest.	. . m. r.
0,1	"	"	"	+ 4,9	" "	. . r.
0,09	"	"	"	+ 4,91	" "	. . r.
0,08	"	"	"	+ 4,92	" "	. . r.

Solche Reihen wurden bei verschiedenen Gelegenheiten erhalten, allerdings meist mit schwächer ausgeprägtem zweitem bactericidem Intervall. Nachprüfungen mit genauen Keimzählungen wurden bisher noch nicht angestellt. Jedenfalls beweist aber der Umstand, daß die Wälle auch mit schwer- oder leichtlöslichen Silbersalzen zu erzielen sind, daß hier keine Sondereigenschaft vorliegt, welche für blanke Metalle als solche charakteristisch wäre.

### V. Hämolyse.

Legt man Silberblechstreifen in Petrischalen und übergießt dieselben mit sterilen Gemengen von auf 50° C abgekühltem Nähragar mit defibriniertem Hammel- oder Menschenblut, so bildet sich um das Ag bei Einstellung in einen Thermostaten von 37° C ein heller, hämolytischer Hof, welcher sich allmählich vergrößert. Die Schnelligkeit, mit welcher diese Zone erscheint, und die Breite, bis zu welcher sie anwächst, waren bei verschiedenen Versuchen verschieden; doch war zuweilen schon in 24 Stunden ein Hof von 6—7 mm Breite lackfarbig. Glühen vernichtet die hämolytische Wirkung, Kochen reduziert sie erheblich; die Metallstücke, welche in diesen Versuchen hämolytisch hatten, vermochten nachher in typhusbeimpftem Agar das Kolonienwachstum in ihrer unmittelbaren Umgebung nicht zu unterdrücken. Über die genaueren Bedingungen der Erscheinung wird demnächst berichtet werden.

### Zusammenfassung.

1. Die bactericide Wirkung metallischen Silbers wird durch Glühen, mehrmaliges Kochen in destilliertem Wasser oder durch mehrtägiges Einbetten des Silbers in Agargallerte gänzlich aufgehoben.

2. Das unwirksam gewordene Silber wird wieder wirksam, wenn es mit hochgradig verdünnten Säuren, speziell stark dissoziierten Säuren in Kontakt kommt. Anhaftende Säurespuren können hierbei keine Rolle spielen.

3. Der chemische Träger der oligodynamischen Ag-Wirkung ist dialysabel. Bei bestimmten Versuchsanordnungen treten aber Verschiedenheiten im Passieren der Silbersalze ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) und der oligodynamischen Stoffe durch Dialysiermembranen zutage, die sich vorderhand nicht befriedigend aufklären ließen.

4. In der Diffusibilität von  $\text{Ag}_2\text{O}$ ,  $\text{AgNO}_3$  und oligodynamischen Stoffen in feuchter Agargallerte bestehen keine erheblichen Differenzen; der Löslichkeitsunterschied zwischen  $\text{Ag}_2\text{O}$  und  $\text{AgNO}_3$  kommt nicht zum Ausdruck.

5. Die Zone gesteigerten Wachstums, welche den keimfreien Hof umgibt, besteht oft aus zwei konzentrischen Ringen und tritt ebenso bei metallischem Ag wie bei  $\text{Ag}_2\text{O}$  und  $\text{AgNO}_3$  auf. Die Erhöhung der Wachstumsintensität kommt oft mehr in einer Vergrößerung der Kolonien als in einer Vermehrung ihrer Zahl zum Ausdruck.

6. Um Silberstücke bilden sich in Blutagarplatten hämolytische Zonen. Auch diese Wirkung wird ebenso wie die bactericide durch Glühen und Kochen vernichtet.

7. Mit diesen Versuchsergebnissen ist sowohl die Annahme einer Fernwirkung wie jene einer kolloiden Lösung des Silbers selbst nicht vereinbar. Vielmehr spricht alles dafür, daß an der Oberfläche der Metallstücke durch den Luftsauerstoff oder durch H-Ionen Verbindungen entstehen, deren Wasserlöslichkeit ihre zytotoxischen Effekte bedingt. Glühen verwandelt diese Verbindungen in metallisches, daher unwirksames Silber, was für  $\text{Ag}_2\text{O}$  leicht gezeigt werden kann, Kochen oder Kontakt mit Wasser löst sie rasch oder langsam, wodurch die Ag-Stücke gleichfalls ihre „Oligodynamie“ einbüßen.

---

# Über die Wasserstoffionenkonzentration einiger Standardlösungen bei verschiedenen Temperaturen.

Von

L. E. Walbum

Abteilungsvorsteher am Institut.

(Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen. Direktor Dr. Th. Madsen.)

(Eingegangen am 27. April 1920.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

In einer Untersuchungsreihe über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Bildung verschiedener bakterieller Gifte (Toxine) war es unmöglich, die in den Kulturen und Kulturfiltraten vorhandene Wasserstoffionenkonzentration elektrometrisch zu messen (und zwar besonders in Lösungen, deren  $p_H$  höher als etwa 6,0 war); dies rührt wahrscheinlich in erster Linie daher, daß diese Flüssigkeiten nicht unbedeutliche Mengen freies Ammoniak enthalten. Deshalb mußte ich mich bei der weit überwiegenden Mehrzahl dieser Versuche mit der kolorimetrischen Methode begnügen. Die Kulturversuche wurden indessen bei verschiedenen Temperaturen (von etwa 20° bis etwa 50°) ausgeführt, im Hinblick darauf, die Bedeutung dieses Faktors für die Bildung der betreffenden Gifte auch zu untersuchen, und es war deshalb notwendig, die Wasserstoffionenkonzentrationen bei den Versuchstemperaturen zu kennen. Es stellte sich aber hier die Schwierigkeit meinen Versuchen entgegen, daß die Wasserstoffionenkonzentration der verwendeten Standardlösungen [S. P. L. Sørensen<sup>1)</sup>] nur bei 18° festgestellt worden war und sich somit nur für vergleichende Messungen bei dieser Temperatur verwenden ließ.

In vielen Arbeiten, wo die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für den Verlauf verschiedener biologischer Prozesse untersucht worden ist, hat man dieses Verhältnis übersehen, indem die Wasserstoffionenkonzentration z. B. bei 18° kolorimetrisch gemessen worden ist, während der eigentliche

Versuch bei einer anderen, höheren oder niedrigeren, Temperatur ausgeführt wurde. Solange man von der Größe der Wasserstoffionenkonzentration der Standardlösungen bei verschiedener Temperatur gar nichts weiß, ist es selbstverständlich, daß man bei dem angeführten Verfahren mit keiner Sicherheit wissen kann, ob die erhaltenen Resultate, rücksichtlich der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für den Verlauf der betreffenden Prozesse, zuverlässige sind.

Da es ohne experimentelle Untersuchungen kaum möglich sein wird, Aufschlüsse über die von der Temperatur hervorgerufenen Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösungen zu erhalten, und da ich ohne Kenntnisse dieser Verhältnisse in meiner obenerwähnten Arbeit nicht weiterkommen würde, war ich gezwungen diese Frage einer experimentellen Bearbeitung zu unterziehen.

Die Versuche wurden mit den von S. P. L. Sørensen angegebenen Standardlösungen (Phosphat-, Borat-, Citrat- und Glycinmischungen) und bei Temperaturen von 10–70° ausgeführt. Sowohl das Elektrodengefäß mit der betreffenden Lösung, die Kalomelektrode (0,1 n-KCl), als die Verbindungsflüssigkeit (3,5 n oder 1,75 n-KCl) war in einem großen Luftthermostat mit Wassermantel und einem Quecksilberregulator, der eine genaue Einstellung der Temperatur erlaubte, untergebracht. Im Thermostaten war auch eine kleine Waschflasche mit Wasser vorhanden, durch welche der Wasserstoffstrom geleitet wurde, um bei der Versuchstemperatur mit Wasserdampf gesättigt zu werden. Als Elektrodengefäß wurde ein gewöhnlicher Hasselbalchapparat verwendet, weil dieser die Anwendung einer verhältnismäßig geringen Menge Lösung erlaubt, und der Wasserstoffstrom wurde während des Versuches kontinuierlich durch den Apparat geleitet. Damit die Flüssigkeit im Elektrodengefäß die Temperatur des Thermostates schnellstens annehmen konnte, wurden die Lösungen in einem Wasserbade bei derselben Temperatur vorgewärmt. Da die Ausgleichung kleinerer Temperaturunterschiede in einem Luftbad erfahrungsgemäß ziemlich lange Zeit beansprucht, ließ ich immer das Elektrodengefäß mit der Lösung etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde im Thermostat vor dem Anfang der Wasserstoffdurchleitung stehen; es wurde durch Kontrollversuche konstatiert, daß eine halbe Stunde immer durchaus

Wasserstoffionenkonzentr. einiger Standardlösungen bei versch. Temp. 221

genügt, um ein vollständiges Ausgleichen der Temperaturunterschiede zu bewerkstelligen; daß dieses Verhältnis bei derartigen Versuchen besonders in Betracht gezogen werden muß, ist einleuchtend.

Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration ( $p_{\text{H}}$ ) wurde nach der untenstehenden Gleichung<sup>2)</sup> vorgenommen.

$$p_{\text{H}} = \frac{\pi \div \pi_0}{0,0577 + 0,0002(t \div 18)},$$

wo  $t$  die Versuchstemperatur bezeichnet,  $\pi$  die gemessene Spannung und  $\pi_0$  die Spannung bei derselben Temperatur von einer Lösung, die in 1 Liter  $10^\circ = 1 \text{ g}$  Äquivalent Wasserstoff als Ionen enthält.

Der Wert von  $\pi_0$  bei verschiedenen Temperaturen ist mit großer Genauigkeit von R. Koefoed<sup>3)</sup> im Carlsberg-Laboratorium bestimmt worden. Die Messungen wurden bei den untenstehenden Temperaturen ausgeführt:

$18^\circ - 20^\circ - 30^\circ - 40^\circ - 50^\circ - 60^\circ$ .

Da ich beabsichtigte, meine Messungen bei Temperaturen von  $10$  bis  $70^\circ$  auszuführen, habe ich unter Verwendung von R. Koefoeds Zahlen und durch Inter- und Extrapolation folgende Werte für  $\pi_0$  gefunden, welche ich bei der Berechnung benutzt habe.

$t$	$\pi_0$	$t$	$\pi_0$	$t$	$\pi_0$
0	0,3388	32	0,3361	52	0,3320
5	0,3387	34	0,3358	54	0,3314
10	0,3384	36	0,3356	56	0,3306
15	0,3380	37	0,3354	58	0,3299
18	0,3377	38	0,3353	60	0,3290
20	0,3375	40	0,3349	62	0,3281
22	0,3373	42	0,3346	64	0,3271
24	0,3371	44	0,3342	66	0,3261
26	0,3369	46	0,3337	68	0,3250
28	0,3366	48	0,3332	70	0,3239
30	0,3364	50	0,3326		

In untenstehender Tabelle habe ich für dieselben Temperaturen den Wert des Nenners in obenstehendem Bruche zusammengestellt, indem die Werte für Temperaturen unter  $18^\circ$  mittels Extrapolation bestimmt worden sind.

Da es eine ganz außerordentlich große und außerdem unnütze Arbeit sein würde, die Wasserstoffionenkonzentration in sämtlichen für die kolorimetrischen Messungen nötigen Mischungen

der verschiedenen Standardlösungen festzustellen, habe ich dies unterlassen und in großem Umfange mich der graphischer Interpolation bedient, indem ich überzeugt bin, daß die Resultate dadurch nicht weniger zuverlässige geworden sind.

$t$	$\pi_0$	$t$	$\pi_0$	$t$	$\pi_0$
0	0,0539	32	0,0605	52	0,0645
5	0,0550	34	0,0609	54	0,0649
10	0,0560	36	0,0613	56	0,0653
15	0,0571	37	0,0615	58	0,0657
18	0,0577	38	0,0617	60	0,0661
20	0,0581	40	0,0621	62	0,0665
22	0,0585	42	0,0625	64	0,0669
24	0,0589	44	0,0629	66	0,0673
26	0,0593	46	0,0633	68	0,0677
28	0,0597	48	0,0637	70	0,0681
30	0,0601	50	0,0641		

Die Wasserstoffionenkonzentration der untenstehenden Mischungen ist bei den Temperaturen  $10^\circ - 18^\circ - 28^\circ - 37^\circ - 46^\circ - 56^\circ - 62^\circ - 70^\circ$  gemessen worden.

#### Phosphatmischungen.

9,5 sek. Phosphat	+	0,5 prim. Phosphat		
8,0 „ „	„	+ 2,0 „	„	„
6,0 „ „	„	+ 4,0 „	„	„
4,0 „ „	„	+ 6,0 „	„	„
2,0 „ „	„	+ 8,0 „	„	„
0,5 „ „	„	+ 9,5 „	„	„

#### Glycinmischungen.

9,5 Glycin	+	0,5 HCl,	9,5 Glycin	+	0,5 NaOH
8,0 „	„	+ 2,0 „	9,0 „	„	+ 1,0 „
6,0 „	„	+ 4,0 „	7,0 „	„	+ 3,0 „
4,0 „	„	+ 6,0 „	5,5 „	„	+ 4,5 „
2,0 „	„	+ 8,0 „	5,0 „	„	+ 5,0 „
1,0 „	„	+ 9,0 „	4,5 „	„	+ 5,5 „
			3,0 „	„	+ 7,0 „
			1,0 „	„	+ 9,0 „

#### Citratmischungen.

9,5 Citrat	+	0,5 HCl,	10 Citrat		
8,0 „	„	+ 2,0 „	9 „	„	+ 1 NaOH
6,0 „	„	+ 4,0 „	7 „	„	+ 3 „
4,5 „	„	+ 5,5 „	5,5 „	„	+ 4,5 „
3,33 „	„	+ 6,67 „	5,25 „	„	+ 4,75 „
2,0 „	„	+ 8,0 „			
1,0 „	„	+ 9,0 „			

## Boratmischungen.

8,5 Borat + 1,5 HCl,	10 Borat
7,0 „ + 3,0 „	8 „ + 2 NaOH
6,0 „ + 4,0 „	6 „ + 4 „
5,5 „ + 4,5 „	5 „ + 5 „
5,25 „ + 4,75 „	4 „ + 6 „

Die Versuche sind in der Weise ausgeführt worden, daß der Thermostat erst auf  $10^\circ$  (mittels Kaltwasserdurchleitung) eingestellt wurde und sämtliche Mischungen bei dieser Temperatur gemessen wurden, darauf wurde die Temperatur auf  $18^\circ$  eingestellt, bei welcher Temperatur die Messung sämtlicher Mischungen wiederholt wurde; danach wurde bei  $28^\circ$  gemessen usw.

Mittels des so erhaltenen Zahlenmaterials habe ich für die verschiedenen Mischungen der Hauptkurventafel von S. P. L. Sørensen entsprechend Kurven gezeichnet, wo die Werte für  $p_H$  Abszissen und der Inhalt der Mischungen (in  $10 \text{ cm}^3$ ) von sekundärem Phosphat, Glycin, Citrat oder Borat Ordinaten sind. Durch die in dieser Weise gezeichneten Kurven wurde mittels graphischer Interpolation die  $p_H$  der nicht elektrometrisch gemessenen Mischungen bestimmt.

Mit den in dieser Weise bestimmten Werten wurden Kurven mit den verschiedenen Temperaturen als Abszissen und der Wasserstoffionenkonzentration der Mischungen in  $p_H$  ausgedrückt als Ordinaten gezeichnet und dann durch Interpolation die  $p_H$  der nicht elektrometrisch gemessenen Mischungen bei den fehlenden Temperaturen festgestellt; dies war besonders leicht, weil die korrespondierenden Werte immer auf geraden Linien lagen.

Es stellte sich bei den Versuchen heraus, daß die für Phosphatmischungen, Glycin-HCl und Citrat-HCl gezeichneten Linien alle mit der Abszissenachse parallel verliefen, d. h. daß die Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösungen bei Temperaturen zwischen  $10^\circ$  und  $70^\circ$  dieselbe ist.

Für die übrigen obenerwähnten Standardlösungen hatte eine Änderung der Temperatur eine Änderung in der Wasserstoffionenkonzentration der Lösungen zur Folge.

Die Werte dieser (Glycin-NaOH, Citrat-NaOH, Borat-HCl und Borat-NaOH) sind auf den Abb. 1, 2, 3 und 4 und in den entsprechenden Tabellen I, II, III und IV angeführt.



Tabelle I. Glycin-NaOH.

	10°	12°	14°	16°	18°	20°	22°	24°	26°	28°	30°	32°	34°	37°	40°
9.5 Glycin	8.75	8.70	8.66	8.62	8.58	8.53	8.49	8.45	8.40	8.37	8.32	8.28	8.24	8.18	8.12
+ 1 NaOH	9.10	9.06	9.02	8.97	8.93	8.88	8.84	8.79	8.75	8.71	8.67	8.62	8.58	8.52	8.45
+ 2 NaOH	9.54	9.50	9.45	9.40	9.36	9.31	9.26	9.22	9.17	9.13	9.08	9.04	9.00	8.92	8.85
+ 3 NaOH	9.90	9.85	9.80	9.75	9.71	9.66	9.61	9.56	9.51	9.46	9.42	9.37	9.32	9.25	9.18
+ 4 NaOH	10.34	10.29	10.24	10.18	10.14	10.09	10.03	9.98	9.93	9.88	9.83	9.78	9.73	9.66	9.58
+ 4.5 NaOH	10.68	10.63	10.58	10.53	10.48	10.42	10.37	10.32	10.27	10.22	10.17	10.12	10.07	9.99	9.91
+ 4.9 NaOH	11.29	11.24	11.18	11.12	11.07	11.01	10.96	10.90	10.85	10.79	10.74	10.68	10.62	10.54	10.46
+ 5 NaOH	11.53	11.48	11.42	11.36	11.31	11.25	11.20	11.14	11.09	11.03	10.97	10.92	10.86	10.78	10.70
+ 5.1 NaOH	11.80	11.74	11.68	11.62	11.57	11.51	11.45	11.39	11.33	11.27	11.22	11.16	11.10	11.02	10.93
+ 5.5 NaOH	12.34	12.28	12.22	12.16	12.10	12.04	11.98	11.92	11.86	11.80	11.74	11.68	11.62	11.53	11.44
+ 6 NaOH	12.65	12.59	12.52	12.46	12.40	12.33	12.27	12.21	12.15	12.09	12.03	11.96	11.90	11.81	11.72
+ 7 NaOH	12.86	12.80	12.73	12.67	12.61	12.54	12.48	12.42	12.35	12.29	12.23	12.17	12.11	12.07	11.98
+ 8 NaOH	13.12	13.06	12.99	12.92	12.86	12.79	12.73	12.66	12.60	12.53	12.47	12.41	12.34	12.25	12.15
+ 9 NaOH	13.23	13.16	13.09	13.03	12.97	12.90	12.83	12.77	12.70	12.64	12.57	12.51	12.45	12.35	12.25
9.5 Glycin	8.07	8.03	7.99	7.95	7.91	7.86	7.82	7.78	7.74	7.69	7.65	7.61	7.56	7.52	7.48
+ 1 NaOH	8.41	8.37	8.32	8.28	8.24	8.19	8.14	8.10	8.06	8.02	7.97	7.93	7.88	7.84	7.79
+ 2 NaOH	8.81	8.76	8.72	8.67	8.63	8.58	8.53	8.49	8.44	8.40	8.35	8.30	8.26	8.21	8.16
+ 3 NaOH	9.13	9.08	9.03	8.99	8.94	8.89	8.84	8.79	8.74	8.70	8.65	8.60	8.55	8.50	8.45
+ 4 NaOH	9.53	9.48	9.43	9.38	9.33	9.28	9.23	9.18	9.13	9.08	9.03	8.98	8.93	8.88	8.82
+ 4.5 NaOH	9.86	9.81	9.76	9.71	9.66	9.61	9.56	9.51	9.46	9.41	9.35	9.30	9.25	9.20	9.15
+ 4.9 NaOH	10.40	10.35	10.29	10.24	10.18	10.13	10.07	10.02	9.96	9.90	9.85	9.79	9.74	9.68	9.62
+ 5 NaOH	10.64	10.59	10.54	10.48	10.43	10.37	10.32	10.26	10.20	10.14	10.09	10.04	9.98	9.93	9.87
+ 5.1 NaOH	10.87	10.81	10.75	10.69	10.64	10.58	10.52	10.46	10.40	10.35	10.29	10.23	10.17	10.11	10.05
+ 5.5 NaOH	11.38	11.32	11.26	11.20	11.14	11.08	11.02	10.96	10.90	10.84	10.78	10.72	10.66	10.60	10.54
+ 6 NaOH	11.65	11.59	11.53	11.47	11.41	11.34	11.28	11.22	11.16	11.10	11.03	10.97	10.91	10.84	10.78
+ 7 NaOH	11.91	11.85	11.79	11.73	11.66	11.60	11.54	11.47	11.41	11.35	11.28	11.22	11.16	11.09	11.03
+ 8 NaOH	12.08	12.02	11.96	11.89	11.83	11.77	11.70	11.64	11.57	11.51	11.44	11.38	11.31	11.25	11.18
+ 9 NaOH	12.19	12.13	12.06	12.00	11.94	11.87	11.80	11.74	11.67	11.61	11.54	11.48	11.41	11.35	11.28

Tabelle II. Citrat-NaOH.

	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°
10 Citrat . . . . .	4,93	4,96	5,00	5,04	5,07	5,10	5,14
9,5 „ + 0,5 NaOH	4,99	5,02	5,06	5,10	5,13	5,16	5,20
9 „ + 1 NaOH	5,08	5,11	5,15	5,19	5,22	5,25	5,29
8 „ + 2 NaOH	5,27	5,31	5,35	5,39	5,42	5,45	5,49
7 „ + 3 NaOH	5,53	5,57	5,60	5,64	5,67	5,71	5,75
6 „ + 4 NaOH	5,94	5,98	6,01	6,04	6,08	6,12	6,15
5,5 „ + 4,5 NaOH	6,30	6,34	6,37	6,41	6,44	6,47	6,51
5,25 „ + 4,75 NaOH	6,65	6,69	6,72	6,76	6,79	6,83	6,86

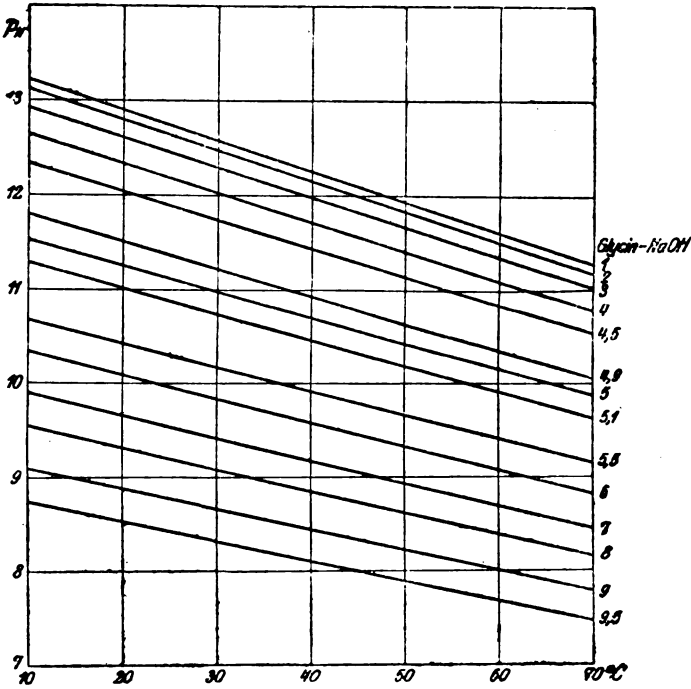


Abb. 1. Glycin-NaOH.

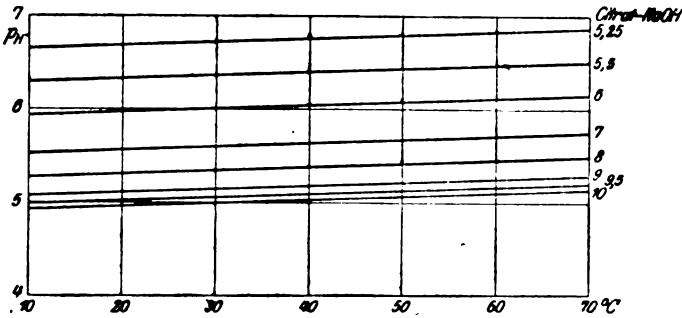


Abb. 2. Citrat-NaOH.

Tabelle III. Borat - HCl.

	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°
10 Borat . . . . .	9,30	9,23	9,15	9,08	9,00	8,93	8,86
9,5 Borat + 0,5 HCl	9,22	9,15	9,08	9,01	8,94	8,87	8,80
9 " + 1 HCl	9,14	9,07	9,01	8,94	8,87	8,80	8,74
8,5 " + 1,5 HCl	9,06	8,99	8,92	8,86	8,80	8,73	8,67
8 " + 2 HCl	8,96	8,89	8,83	8,77	8,71	8,65	8,59
7,5 " + 2,5 HCl	8,84	8,79	8,72	8,67	8,61	8,55	8,50
7 " + 3 HCl	8,72	8,67	8,61	8,56	8,50	8,45	8,40
6,5 " + 3,5 HCl	8,54	8,49	8,44	8,40	8,35	8,30	8,26
6 " + 4 HCl	8,32	8,27	8,23	8,19	8,15	8,11	8,08
5,75 " + 4,25 HCl	8,17	8,13	8,09	8,06	8,02	7,98	7,95
5,5 " + 4,5 HCl	7,96	7,93	7,89	7,86	7,82	7,79	7,76
5,25 " + 4,75 HCl	7,64	7,61	7,58	7,55	7,52	7,49	7,47

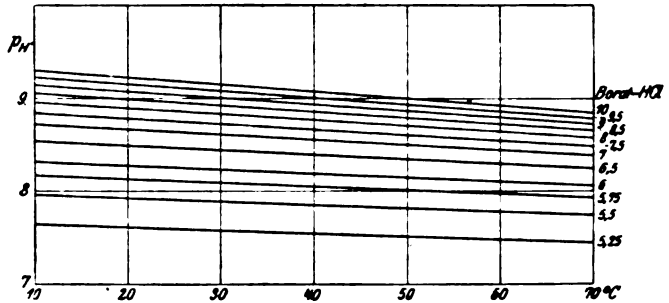


Abb. 8. Borat-HCl.

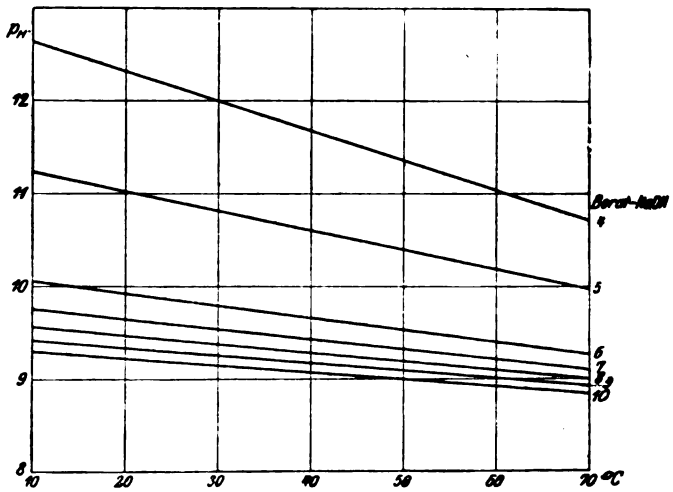


Abb. 4. Borat-NaOH.

Tabelle IV. Borat-NaOH.

	10°	12°	14°	16°	18°	20°	22°	24°	26°	28°	30°	32°	34°	37°	40°
10 Borat	9,30	—	9,27	—	9,24	—	9,21	—	9,18	—	9,15	—	9,13	9,11	9,08
9 " + 1 NaOH	9,42	—	9,39	—	9,36	—	9,33	—	9,29	—	9,26	—	9,23	9,20	9,18
8 " + 2 NaOH	9,57	—	9,54	—	9,50	—	9,46	—	9,43	—	9,39	—	9,35	9,32	9,30
7 " + 3 NaOH	9,76	—	9,72	—	9,68	—	9,63	—	9,59	—	9,55	—	9,50	9,47	9,44
6 " + 4 NaOH	10,06	10,04	10,02	9,99	9,97	9,94	9,91	9,88	9,86	9,83	9,80	9,78	9,75	9,71	9,67
5 " + 5 NaOH	11,24	11,20	11,16	11,12	11,08	11,04	10,99	10,95	10,91	10,86	10,82	10,78	10,74	10,68	1,061
4 " + 6 NaOH	12,64	12,58	12,51	12,45	12,38	12,32	12,25	12,19	12,13	12,06	12,00	11,93	11,87	11,77	11,68

	42°	44°	46°	48°	50°	52°	54°	56°	58°	60°	62°	64°	66°	68°	70°
10 Borat	—	9,05	—	9,02	—	9,00	—	8,97	—	8,93	—	8,90	—	—	8,86
9 " + 1 NaOH	—	9,15	—	9,11	—	9,08	—	9,05	—	9,01	—	8,98	—	—	8,94
8 " + 2 NaOH	—	9,26	—	9,22	—	9,18	—	9,15	—	9,11	—	9,08	—	—	9,02
7 " + 3 NaOH	—	9,40	—	9,35	—	9,31	—	9,27	—	9,22	—	9,18	—	—	9,12
6 " + 4 NaOH	9,64	9,62	9,59	9,56	9,54	9,51	9,48	9,46	9,43	9,40	9,38	9,35	9,33	9,30	9,28
5 " + 5 NaOH	10,57	10,53	10,49	10,44	10,40	10,36	10,32	10,27	10,23	10,19	10,13	10,10	10,06	10,02	9,98
4 " + 6 NaOH	11,61	11,55	11,48	11,42	11,36	11,29	11,23	11,17	11,10	11,04	10,98	10,91	10,85	10,78	10,72

Es geht hieraus hervor, daß die Wasserstoffionenkonzentration in den Mischungen von Glycin-NaOH, Borat-HCl und Borat-NaOH mit steigender Temperatur größer wird (d. h.  $p_H$  wird kleiner), während Citrat-NaOH sich umgekehrt verhält.

In den erwähnten drei Arten von Mischungen, wo  $p_H$  mit steigender Temperatur fällt, ist die mit der Temperatur eintretende Änderung am größten für die meist alkalischen Mischungen und nimmt mit Abnehmen der Alkalinität allmählich ab.

Ich habe in dieser Untersuchungsreihe nur die Standardlösungen von S. P. L. Sørensen untersucht, weil diese das ganze Wasserstoffionenkonzentrationsgebiet decken und bei der Mehrzahl der Messungen vollständig ausreichend und befriedigend sind. Man hat ja bekanntlich mehrere andere in Vorschlag gebracht, aber auch für diese kennt man nicht das Verhalten gegenüber Änderungen der Temperatur; in der allerletzten Zeit hat jedoch MacIntosh und Smart<sup>4)</sup> die Wasserstoffionenkonzentration in Acetatmischungen bei Zimmertemperatur und bei 70° untersucht und gefunden, daß sie bei diesen Temperaturen die gleiche war.

---

#### Literatur.

- <sup>1)</sup> S. P. L. Sørensen, Enzymstudien II. Compt. rend. du Lab. de Carlsberg 1909, und *Ergebn. d. Physiologie* **12** (Asher und Spiro). 1912. — <sup>2)</sup> S. P. L. Sørensen, diese Zeitschr. **21**. 153 u. 160. 1909. — <sup>3)</sup> S. P. L. Sørensen, *Ergebn. d. Physiologie* **12**. 1912. — <sup>4)</sup> Mc. J. Intosh und W. Smart, *The Brit. Journ. of experim. Pathology* **1**. 1920.

## Über die Restreduktion des Blutes.

(Zur Physiologie des Blutzuckers. III.)

Von

Rich. Ege.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 1. Mai 1920.)

In einer früheren Arbeit habe ich eine Untersuchung von Bangs Mikromethode zur Bestimmung von Glucose angewendet<sup>1)</sup>.

Das Ergebnis der Untersuchung war, daß der Methode zahlreiche Fehlerquellen anhaften, und daß einzelne davon recht ernster Art sein können, daß es aber andererseits möglich ist, diese Fehlerquellen zu vermeiden, und daß die Methode in dem Falle überraschend übereinstimmende Resultate ergebe, sowohl bei der Bestimmung von reinen Glucoselösungen als von Blutproben. Da die benutzten Titerflüssigkeiten auf Glucoselösungen bekannter Konzentration eingestellt werden, geben die gefundenen Zahlen die wahre Glucosemenge an, solange von reinen Glucoselösungen die Rede ist. Inwiefern dies auch bei der Bestimmung des Reduktionsvermögens des Blutes der Fall ist, ist eine andere Frage. Hier genügt es nicht, zu zeigen, daß die Methode übereinstimmende Resultate gibt, sowie auch nicht, daß eine zugesetzte Glucosemenge quantitativ wiedergefunden wird; die entscheidende Frage ist, ob die Methode eine spezifische ist, oder ob es andere Stoffe gibt als die Glucose, welche dasselbe Reduktionsvermögen besitzen, auf dem die angewandte quantitative Zuckerbestimmung beruht.

Nun ist es eine wohlbekannte Tatsache, daß die Reduktion einer alkalischen Metallsalzlösung nicht eine für die Glucose spezifische Reaktion darstellt, sondern daß es eine Reihe anderer

---

<sup>1)</sup> Rich. Ege, Zur Physiologie des Blutzuckers. I. Diese Zeitschr. 87. 1918.

Stoffe gibt, die in größerem oder geringerem Maße dasselbe Vermögen besitzen; da dies eben Stoffe sind, die im Blute vorkommen, sowohl unter normalen als pathologischen Zuständen, auch nach Fällung der Proteinstoffe des Blutes, so ist somit gegeben, daß Reduktionsbestimmungen von Glucose im Blute notwendigerweise zu hohe Zahlen liefern müssen; um wieviel die Zahlen aber zu hoch sind, darüber war es bisher nicht möglich, einig zu werden. Einige behaupten, daß die Menge von reduzierenden Stoffen im Blute, welche nicht Glucose oder einfache Kohlenhydrate darstellen, eine so verschwindende ist, daß man sie bei Untersuchungen über den Blutzucker ganz außer acht lassen kann; andere meinen, daß sich im Blute sehr wesentliche Mengen von reduzierender Substanz finden, die nichts mit den einfachen Kohlenhydraten zu schaffen haben, und daß jede Untersuchung über den Zuckergehalt des Blutes mittels Reduktionsbestimmungen ohne entscheidenden Wert ist, falls diese Verhältnisse nicht zur Genüge berücksichtigt werden.

Wie wenig spezifisch die Reduktionsmethode ist, ergibt sich aus folgender Liste, die eine Aufzählung der wichtigsten Krystalloide enthält, die alle — in höherem oder geringerem Grade — ein Metallsalz (Kupfersalz) in alkalischer Lösung reduzieren können: Pentosen, Hexosen, Dihexosen (mit Ausnahme von Rohrzucker), Kreatin, Kreatinin, Aldehyde, Harnsäure und andere Purine, Adrenalin, Homogentisinsäure sowie gewisse Farbstoffe.

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung eines einzelnen dieser Stoffe oder einer Stoffgruppe, z. B. Glucose, mittels einer Reduktionstitration gibt es nicht; dagegen kann man die genannten Stoffe dem Vergärungsvermögen gemäß in zwei Abteilungen teilen: Die Hexosen (und einzelne Dihexosen), welche vergären, und die übrigen reduzierenden Stoffe, die nicht vergären. Den nicht vergärungsfähigen Teil nennt man die Restreduktion. Diese Gruppe ist also von sehr heterogener Zusammensetzung, wogegen der gärungsfähige Teil aus einander sehr nahestehenden Stoffen besteht; da es außerdem unzweifelhaft ist, daß bei weitem der größte Teil davon Glucose ist, wird man kaum wesentliche Fehler begehen, wenn man aus analytischen Gründen *gezwungen* wird, die gärungsfähigen Stoffe insgesamt als Glucose zu behandeln.

Dagegen ist es notwendig, eine quantitative Untersuchung über die Größe der Restreduktion anzustellen.

Über die Restreduktion liegt eine sehr reiche Literatur vor<sup>1)</sup>.

Der Platz gestattet keine eingehende Erörterung derselben, ich möchte nur erwähnen, daß die meisten Verfasser finden, daß die Restreduktion etwa 30% der gesamten Reduktion des Blutes beträgt; von Interesse ist auch, daß das von Bang und seinen Schülern (Lyttkens und Sandgren) behauptete Verhältnis, daß die ganze, nicht unbedeutende Reduktion, welche die Blutkörperchen besäßen, ausschließlich Restreduktion sei. Andererseits fehlt es auch nicht an Untersuchern, die dem Begriff Restreduktion jede Bedeutung absprechen; so behaupten Griesbach und Strassner (Zeitschr. f. physiol. Chemie 88. 1913), daß die Restreduktion ein Produkt der alten Bangschen Methode sei. Dieser Standpunkt ist jedoch nicht haltbar, vielmehr muß man den Umstand, daß Griesbach und Strassner keine Restreduktion finden, durch die Unbrauchbarkeit der von ihnen angewandten Bertrandschen Methode erklären; diese Methode muß nämlich, wie A. C. Andersen (diese Zeitschr. 15. 1909) zeigte, in biologischen Flüssigkeiten zu geringe Werte ergeben.

Wenn auch, wie erwähnt, in den meisten Versuchen eine bedeutende Reduktion nach der Vergärung gefunden wurde, ist es klar, daß diese Versuche nichts von der wahren Restreduktion offenbaren, solange man nicht die Frage gelöst hat, die ursprünglich von Seegen (Arch. f. d. ges. Physiol. 37. 1885) erhoben wurde: Hat die Hefe unter den vorliegenden Versuchsbedingungen vermocht, die Glucose quantitativ zu entfernen? Seegen beantwortete die Frage auf Grund einiger von ihm angestellten Versuche ablehnend und ist hier in Übereinstimmung mit v. Lippmann, welcher behauptet: „...0,1proz. Lösungen vergären sogar ohne Nährlösungen überhaupt nicht“ (Chemie der Zuckerarten, 3. Aufl., S. 581).

Außer der Frage nach der Vollständigkeit der Vergärung ist ursprünglich von Neuberg<sup>2)</sup> und sodann von P. Mayer<sup>3)</sup> ein prinzipieller Einwand gegen die gewöhnliche Restreduktionsbestimmungsmethode erhoben worden. Der Einwand beruht auf dem Umstande, daß die Hefe selbst sowohl optisch aktive als reduzierende Stoffe enthält und abgibt.

P. Mayer stellte 0,1proz. Glucoselösungen her, setzte 1g reinkultivierte Hefe zu 100 ccm und stellte 24 Stunden zum Vergären in den Thermostaten; nach Reinigung mit kolloidalem Eisen wiesen die Proben eine deutliche

<sup>1)</sup> Näheres siehe Rich. Ege, Studier over Glukosens Fordeling mellem Plasmaet og de røde Blodlegemer og nogle dermed sammenhørende Problemer. København 1919/20.

<sup>2)</sup> C. Neuberg, Kleine Mitteilungen verschiedenen Inhalts. III. Über einige Reaktionen vergorener Zuckerlösungen. Diese Zeitschr. 24. 1910.

<sup>3)</sup> Paul Mayer, Zur Bestimmung der sog. „Restreduktion“ des Blutes. Diese Zeitschr. 50. 1913.



Reduktion mit Fehlings Lösung auf. Wenn Mayer auch nicht dartat, daß die Reduktion von unvergorener Glucose herrührt, hat er doch sicherlich mit der Behauptung recht, daß die reduzierenden Stoffe von der Hefe stammen; darauf deutet auch, daß die vergorene Lösung, wie bereits Neuberg nachwies, optisch aktiv sein kann, daß sie bald nach rechts, bald nach links dreht und in gewissen Fällen deutliche Reaktionen sowohl auf Pentosen als auf Purine gibt.

Wurde die Hefemenge vermindert, machte sich das Vorhandensein der obengenannten Stoffe in geringerem Grade geltend, aber in dem Falle verlief die Vergärung nicht mehr vollständig (bei Anwendung von 0,1 g Hefe zu 100 ccm 0,1proz. Glykoselösung, 24stündige Vergärung).

„Es hat sich also jedenfalls gezeigt, daß nach der Vergärung von Zuckerlösungen, die eine dem Blutzuckergehalt entsprechende Konzentration haben, Drehungen sowie Reduktionen auftreten können, die zu einer völlig falschen Beurteilung der Substanzengruppe führen müssen, auf die man die Restreduktion bezieht“ (P. Mayer).

Eine kritische Durchsicht der Literatur ergibt weiterhin folgendes:

1. Die Größe der Restreduktion ist von der benutzten Methode abhängig.

a) Bei der Benutzung von einigen Methoden scheint sie verschwindend klein zu sein — unter normalen Verhältnissen 0,005%, bei Hyperglykämien jedoch bis auf 0,03%; dies gilt z. B. von Bertrands Methode. Es ist jedoch zweifelhaft, ob dies tatsächlich einen Vorteil der Methode bedeutet, oder ob es nicht vielmehr von einem Mangel des Verfahrens herrührt. So scheint dieser Umstand bei Bertrands Methode darauf zu beruhen, daß die Methode bei der Bestimmung von reduzierender Substanz leicht versagt, namentlich in biologischen Flüssigkeiten, wo kleine Mengen von Kupferoxydul in Lösung gehalten werden.

b) Bei Benutzung von anderen Methoden, namentlich Bangs Hydroxylaminmethode wird die Restreduktion zu 0,02—0,04 angegeben, d. h. zu 20—40% der Totalreduktion unter normalen Verhältnissen.

Es scheint keine Bestimmung der Restreduktion bei Benutzung von Bangs Mikromethode vorzuliegen; jedoch finden sich gute Gründe zur Unterstützung der allgemeinen Annahme, daß die Größe der Restreduktion kaum bei diesen beiden Methoden wesentlich verschieden sein kann.

2. Sämtliche positive Angaben über die Größe der Restreduktion verlieren in hohem Grade an Wert, da noch als unentschieden betrachtet werden muß:

a) Wie groß der Teil der sogenannten Restreduktion ist, der von unvergorener Glucose herrührt.

b) Wie groß der Teil der Restreduktion ist, der von der zugesetzten Hefe herrührt.

Da keine systematischen Untersuchungen über die Größe der Restreduktion bei Anwendung von Bangs Mikromethode angestellt worden sind, war es schon aus dem Grunde notwendig, solche Bestimmungen auszuführen. Die unten genannten Bestimmungen der Größe der Restreduktion in normalem Blut gelten nur für Bangs Methode und haben sicherlich keine allgemeine Gültigkeit; dieser Abschnitt enthält aber doch eine Reihe von Untersuchungen, die für die Methodik der Restreduktionsbestimmung von allgemeiner Bedeutung sind.

Will man entscheiden, wie groß der Teil der Totalreduktion ist, der auf einfache Kohlenhydrate entfällt, und wie groß der Teil ist, der die Restreduktion darstellt, so setzt man Hefe zu einer Probe; bestimmt man nun das Reduktionsvermögen der Probe nach einer angemessenen Zeit — meist 24 Stunden — so hat man ein Maß für die Größe der Restreduktion; die Differenz zwischen Totalreduktion und Restreduktion ergibt den Zucker-gehalt der Probe.

Wie einfach diese Methode zur Bestimmung der Restreduktion auch zu sein scheint, birgt sie doch, wie schon erwähnt, die Möglichkeit zweier erheblicher Fehler. Die beiden unsicheren Punkte sind:

1. Ist die zugesetzte Hefe imstande, unter den angegebenen Verhältnissen und im Laufe der angewandten Zeit den Zucker quantitativ zu vergären?

2. Enthält die zugesetzte Hefe selbst „restreduzierende“ Stoffe?

Vor der quantitativen Untersuchung über die wahre Größe der Restreduktion muß notwendigerweise eine Untersuchung darüber vorgenommen werden, wie es sich mit dem Vermögen der Hefe verhält, unter gewissen Bedingungen (Glucosekonzentration, Zusatz von Nahrungsstoffen, Salzgehalt, Reaktion, Bakteriengifte) Glucose zu vergären und wie lange dies dauert. Eine solche Untersuchung muß zeigen können, ob die Hefe wirk-

lich imstande ist, die Glucose quantitativ zu vergären; entgegen-  
gesetztenfalls müßte man bestimmen können, bei welcher Kon-  
zentrationsgrenze der Vergärungsprozeß stillsteht, und dann  
dieses zur Einführung einer Korrektur bei den Restreduktions-  
bestimmungen selbst benutzen.

Gleichfalls muß man notwendigerweise die Eigenreduktion  
der benutzten Hefensuspension kennen.

### Untersuchungen über den Gehalt der Hefe an reduzierenden Stoffen.

Zu den ersten Versuchen benutzte ich reinkultivierte Hefe  
(*Saccharomyces Carlsbergensis*)<sup>1)</sup>, um dadurch so konstante  
Resultate wie möglich zu erhalten. Fortgesetzte Untersuchungen  
zeigten indessen, daß die gewöhnliche Preßhefe sich sehr wohl ver-  
wenden ließ, wie dieses auch aus dem Folgenden hervorgehen wird:

Die benutzte Hefe wurde in reichlichen Mengen von Wasser  
aufgeschlemmt, worauf sie abzentrifugiert wurde. Dies wurde  
zweimal wiederholt.

Versuch: 1,5 g Hefe zu 20 ccm Ringerscher Lösung. Davon  
wurde 0,01 ccm nach 2stündigem Stehenlassen bei 30° zur Bestimmung  
entnommen. Der Reduktionswert der Probe entsprach 0,10 ccm n/200-  
Jodlösung.

Nach  $\frac{1}{4}$ , 1, etwa 2 und etwa 7 Tagen wurde der Gehalt der Hefe an  
reduzierender Substanz wieder bestimmt. Bei diesen Bestimmungen wurden  
zu den Analysen größere Proben entnommen. Gibt man das Reduktions-  
vermögen — als Glucose berechnet — für 1 mg Hefe an, erhält man fol-  
gende Zahlen:

nach 2 Stunden . . . . .	0,017 mg Glukose
„ 6 Stunden . . . . .	0,00084 mg „
„ 43 Stunden . . . . .	0,00084 mg „
„ 7 Tagen . . . . .	0,00084 mg „

Die genannten Zahlen zeigen, daß die Hefe nur kleine Mengen  
von reduzierender Substanz enthält, und, was von größerer Be-  
deutung ist, die Menge hält sich unverändert sogar lange Zeiten  
hindurch. Die Abweichung der ersten Bestimmung muß wahr-  
scheinlich darauf beruhen, daß sich in der Hefe Kohlenhydrate  
finden, die noch nicht vergoren sind.

Das Reduktionsvermögen der einzelnen Hefenaufschwemmung  
ist also sehr konstant; aber verschiedene Hefenlösungen können

<sup>1)</sup> Die reinkultivierte Hefe erhielt ich von der gärungsphysiologischen  
Abteilung des Carlsberg-Laboratoriums. Ich bringe dem Vorstand der  
Abteilung, Herra Klöcker, hiermit meinen besten Dank zum Ausdruck.

ein etwas verschiedenes Reduktionsvermögen haben. Kennt man aber das Reduktionsvermögen der benutzten Hefenlösung, wird man also mit einiger Sicherheit die Restreduktionsbestimmungen damit korrigieren können, indem die Konstanz des Reduktionsvermögens eine gewisse Sicherheit dafür darbietet, daß das Reduktionsvermögen, welches die Hefe in der Kontrollprobe (Ringersche Lösung) hat, dasselbe sein muß, wie die gleiche Menge derselben Hefe in der Blutprobe aufweist. Eine weitere Bestätigung dieser Annahme erhielt ich durch besondere Versuche, welche dartaten, daß das Reduktionsvermögen der Hefe dasselbe ist bei Stehenlassen in Ringerscher Lösung, destilliertem Wasser oder in besonderen Nährlösungen.

### Vermag die Hefe die Glucose quantitativ zu entfernen?

Diese Frage läßt sich leicht durch Untersuchungen reiner Glucoselösungen beantworten; hier gibt es keine restreduzierenden Stoffe außer denjenigen, die von der Hefe herrühren, und ihre Menge wird durch besondere Versuche bestimmt. Die sich in einer solchen Flüssigkeit befindende Reduktion kann daher nur von noch nicht vergorener Glucose herrühren.

Wieviel Zeit das Vergären von Glucose erfordert, ist aus der untenstehenden Tabelle ersichtlich; hier wie in allen folgenden Versuchen fand die Vergärung bei 30—33° statt.

Versuch: 70 ccm 0,9% NaCl, 0,1% Glucose<sup>1)</sup> wurden zum Vergären mit  $\frac{1}{10}$  Vol. 10proz. Hefenaufschwemmung (10 Tr. Toluol) hingestellt. Ab und zu wurden Proben zur Analyse entnommen. Das Resultat der Bestimmungen ist aus untenstehender Tabelle ersichtlich:

Vergärungszeit	ccm Lösung <sup>2)</sup> zur Analyse	Verbraucht $\frac{n}{100}$ -Jod- lösung	Blind- wert	Korr. f. d. Reduktion % der Hefe	% Glucose
1 Stunde . . . . .	0,20	0,75	0,14	0,01	0,053
2 Stunden . . . . .	—	0,44	—	—	0,029
3 Stunden . . . . .	—	0,26	—	—	0,0097
5 Stunden . . . . .	0,40	0,28	—	0,02	0,0053
1 Tag . . . . .	2,00	0,32	—	0,09	0,0008
1 $\frac{1}{2}$ Tage . . . . .	—	0,31	—	—	0,0007
2 $\frac{1}{2}$ Tage . . . . .	4,00	0,44	—	0,28	0,0005
4 $\frac{1}{2}$ Tage . . . . .	—	0,46	—	0,31	0,00004

<sup>1)</sup> Durch diese Schreibweise wünsche ich zu bezeichnen, daß die Flüssigkeit 0,9proz. ist in betreff des NaCl, 0,1proz. in betreff der Glucose.

<sup>2)</sup> Davon nur  $\frac{10}{11}$  Glucoselösung,  $\frac{1}{11}$  Hefensuspension; bei der Berechnung wurde darauf Rücksicht genommen.

Die Korrektur für die benutzte Hefensuspension wurde durch Analyse der Hefensuspension selbst gefunden.

Die Analysen wurden, und zwar sowohl die der Zuckerlösungen als die der Hefenaufschwemmungen, in der früher beschriebenen Weise<sup>1)</sup> ausgeführt. Die Anwendung von Ferrum oxydatum dialysatum ist von besonderer Bedeutung, da es erst dadurch möglich wird, vorhandene kolloidale Stoffe durchaus quantitativ zu fällen, was die erste Bedingung einer zuverlässigen Bestimmung der Restreduktion ausmacht.

Aus der obenstehenden Tabelle ersieht man, daß es sogar bei so reichlichem Zusatz von Hefe etwa 4 Tage dauert, bevor die Glucose quantitativ vergoren ist; dies ist nur von theoretischem Interesse; ein größeres Interesse hat es indessen, daß nach fünfständigem Stehenlassen noch erkennbare Glucosemengen übrig sind (0,005%), nach einem Tage beträgt die restierende Glucosemenge etwa 0,001% oder weniger.

Das schnelle und einigermaßen vollständige Vergären läßt sich nur durch Zusatz von recht reichlichen Hefenmengen erzielen; in allen eigentlichen Versuchen benutzte ich  $\frac{1}{10}$  Vol. 10 proz. Hefensuspension, d. h. die untersuchte Zucker- und Blutprobe enthält 1% Hefe. Da die Proben in der Regel 0,1% Glucose enthalten, so finden sich 10 Teile Hefe zu 1 Teil Glucose.

Wie wichtig es ist, reichliche Hefenmengen zu benutzen, sieht man aus dem folgenden Versuch, wo nur  $\frac{1}{20}$  Vol. 2 proz. Hefenlösung also 1 Teil Hefe zu 1 Teil Glucose benutzt wurde.

Versuch: Ursprüngliche Glucosekonzentration . .	0,096%
nach eintägigem Vergären . . . . .	0,028%
nach zweitägigem Vergären . . . . .	0,053%
nach fünftägigem Vergären . . . . .	0,006%

Schließlich ist zu bemerken, daß es vorkommt, daß die Aktivität der Hefe so gering ist, daß sie, sogar in den großen Mengen (10 : 1) angewandt, nach 24 Stunden ebenso große Glucosemengen übrigbleiben läßt, wie im obenstehenden Versuch.

Die angeführten Versuche zeigen, daß es für die Bestimmung der wahren Restreduktion des Blutes notwendig ist, Kontrollversuche anzustellen sowohl über den Gehalt der Hefe an reduzierenden Stoffen als über die Glucosemenge, die zu entfernen innerhalb der angewandten Zeit nicht gelang.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 87, 91. 1918.

Diese Methode zur Bestimmung der wahren Restreduktion beruht jedoch auf unsicherer Grundlage, solange nicht untersucht worden ist, ob die Vergärung in derselben Weise im Blute wie in den untersuchten Glucoselösungen verläuft.

Diese Unsicherheit habe ich durch die folgenden Versuche zu beheben gesucht:

1. Ich untersuchte, ob die Vergärungsgeschwindigkeit und namentlich die Größe der restierenden Glucosemenge von der Natur der Glucoselösung abhängig ist.

2. Es wurden vergleichende Bestimmungen über die Vergärungsgeschwindigkeit in Ringerscher Lösung und im Blute angestellt.

3. Ich habe die Vergärung im Blute untersucht, das durch Dialyse von Glucose sowie von restreduzierenden Stoffen befreit worden war.

### Untersuchungen über die Vergärungsgeschwindigkeit in Blut und Glucoselösungen.

**Versuch:** Durch eine Reihe von Vergärungsversuchen mit Blut — und als Kontrolle — mit verschiedenen Salzlösungen (die Einzelheiten und Resultate finden sich in umstehender Tabelle) zeigte sich zuerst, daß die Restreduktion des Blutes — mit Mikro-Bang bestimmt — eine recht verschwindende Größe darstellte; wie groß sie war, kann man vorläufig nicht entscheiden, sondern nur behaupten, daß sie nicht größer sein kann als 0,0018; inwiefern sie kleiner ist, evtl. 0,000, läßt sich nicht unmittelbar entscheiden. Daß die Restreduktion kleiner sein muß als der gefundene Reduktionswert 0,0018%, ist wahrscheinlich, indem die Kontrollversuche mit Ringerscher Lösung zeigen, daß nach derselben Vergärungszeit noch 0,002% unvergorene Glucose übrig war. Das einfachste Verfahren, um zu entscheiden, ob das Reduktionsvermögen, welches das Blut nach 2 Tagen noch besitzt, von unvergorener Glucose oder einer tatsächlichen Restreduktion herrührt, würde es sein, die Vergärung fortzusetzen; wenn es sich um Zucker handelt, wird es wahrscheinlich nach noch längerem Stehenbleiben vergären, indem die Vergärungsversuche in reinen Glucoselösungen mit vereinzelt Ausnahmen zeigten, daß die Glucosekonzentration fortwährend abnimmt, so daß die Zuckerkonzentration nach 4—8 Tagen Null wurde. Die Vergärungsversuche im Blute lassen sich jedoch nicht gut über etwa 2 Tage hinaus fortsetzen; das Blut beginnt dann trotz des Toluolzusatzes zu faulen, was eine Steigerung des Reduktionsvermögens bewirkt.

Man muß sich also daher damit begnügen, zu untersuchen, ob die Vergärungsbedingungen wesentlich besser oder schlechter sind in Blut als in den Kontrollflüssigkeiten. Etwas Absolutes läßt sich darüber nicht aussagen; aber das Hauptergebnis einer Reihe von Vergärungsversuchen war,

daß die Vergärung schnell und sehr vollständig verlief in destilliertem Wasser, etwas langsamer in Ringerscher Lösung und 0,9proz. NaCl; bei Zusatz eines Nährstoffes wie Asparagin zur Ringerschen Lösung verlief die Vergärung zu Anfang bedeutend schneller, aber nicht wesentlich vollständiger, in einzelnen Fällen sogar weniger vollständig und jedenfalls nicht so gut wie in destilliertem Wasser.

	nach $\frac{1}{2}$ St.	2 St.	20 St.	48 St.
	Vergärung	Verg.	Verg.	Verg.
Blut (defib. Ziege) . . . . .	0,035	0,0028	0,0024	
dgl. $\frac{1}{10}$ Vol. $\frac{n}{10}$ -HCl . . . .			0,0024	0,0018
dgl. $\frac{1}{50}$ Vol. % Oxal . . . .			0,0040	0,0022
dgl. $\frac{1}{30}$ Vol. Toluol . . . .			0,0050	0,0022
Ringer, 0,1% Glucose . . . . .	0,050	0,015	0,0092	0,0022
dgl. 1 ccm Asparagin 1% . . . .		0,014	0,0042	0,0024
H <sub>2</sub> O, 0,1% Glucose . . . . .		0,0048	0,0030	0,0018

Sämtliche Proben enthielten  $\frac{1}{10}$  Vol. 10% Hefensuspension und, wo nichts anderes angegeben wird,  $\frac{1}{100}$  Vol. Toluol.

Man begeht daher kaum wesentliche Fehlschlüsse, wenn man annimmt, daß die Vergärung im Blute etwas langsamer vonstatten geht als in Ringerscher Lösung, so daß die Glucosemenge, die sich nach 28stündiger Gärung noch im Blute findet, geringer sein muß als diejenige, die sich zu demselben Zeitpunkt in der Kontrollflüssigkeit findet, die in den meisten Fällen Ringersche Lösung war. Daß die Vergärung im Blute mindestens ebenso vollständig verlief wie in Ringerscher Lösung, läßt sich vielleicht gleichfalls aus dem Umstande schließen, daß die Versuche, in denen zu verschiedenen Zeitpunkten während der Gärung Proben entnommen wurden, das Resultat ergaben, daß die Vergärungsgeschwindigkeit im Blute größer war als in der Kontrollflüssigkeit.

In einer dritten Untersuchungsserie habe ich die Vergärungsgeschwindigkeit in dialysiertem Blute und in Ringerscher Lösung, zu der Asparagin gesetzt war, untersucht. Um die Vergärung im Blute mit der Vergärung in der Kontrollflüssigkeit vergleichen zu können, war es notwendig, erst das Blut von seinem Gehalt an reduzierenden Stoffen zu befreien; dies geschah durch Dialyse. Nach fünftägigem Dialysieren war das Reduktionsvermögen des Blutes nach Fällung der Proteinstoffe praktisch 0 (0,0004).

Der Versuch zeigt also nicht nur, daß die reduzierenden Stoffe durch die Dialyse entfernt worden waren, sondern auch,

was für die übrigen Versuche von Bedeutung war, daß es möglich ist, mittels der benutzten Fällungsmethode aus einer proteinstoffhaltigen Lösung alles zu fällen, was darin von kolloidalen reduzierenden und jodbindenden Stoffen vorhanden sein könnte.

Bevor die Vergärungsbedingungen in dem dialysierten Blut untersucht wurden, wurde Salz zugesetzt, so daß das Blut den Salzgehalt des normalen Blutes enthält; darauf wurden folgende Proben zum Vergären hingestellt:

	Gärung: 2 St.	7 St.	19 St.	41 St.
10 ccm dialys. Blut + 1 ccm 1% GL + 1 ccm 10% Hefe . . .	0,028	0,008	0,0025	0,0008 <sup>1)</sup>
10 ccm Ringer + 1 ccm 1% GL + 1 ccm 10% Hefe + 1 ccm 1% Asparagin . . . . .	0,027	0,014	0,0040	0,0006

Die Vergärung im Blute geht also schneller und vollständiger vonstatten als in der Ringerschen Lösung mit Asparagin, wenn der Unterschied auch ein verschwindend kleiner ist.

Nach diesen Versuchen ist kaum zu bezweifeln, daß die Vergärung im Blute und in der Kontrollflüssigkeit einigermaßen in derselben Weise erfolgt, so daß es wirklich möglich ist, bei den Restreduktionsbestimmungen eine Korrektur einzuführen; aber diese Korrektur ist nur anwendbar, wenn ihre Größe gering ist. Der Vergärungsversuch in der Ringerschen Lösung ist daher vorzugsweise als Kontrollversuch, und nicht als Korrekturbestimmung zu benutzen.

Findet man z. B., daß das Reduktionsvermögen einer Blutprobe nach 48stündigem Gären noch 0,035%, in der entsprechenden Kontrollprobe 0,030% beträgt, so ist es sehr gefährlich, zu schließen, daß die wahre Restreduktion der betreffenden Blutprobe 0,035—0,030 = 0,005% beträgt; denn dazu ist unser Wissen von der Identität der Vergärungsgeschwindigkeit und der Vergärungsvollständigkeit in den beiden Lösungen viel zu unsicher; wenn dagegen das Reduktionsvermögen der Kontrollprobe 0,001% Glucose entspricht, während die Reduktion des Blutes 0,006% entspricht, dann läßt sich mit fast absoluter Sicherheit behaupten, daß die wahre Restreduktion des Blutes zwischen 0,005 und 0,006% liegen muß.

<sup>1)</sup> Hier ist in Betracht zu ziehen, daß das dialysierte Blut nicht von reduzierenden Bestandteilen befreit worden war, bevor der Versuch anfang, sondern zu dem Zeitpunkt 0,0004% enthielt.



Da es, wie die genannten Versuche gezeigt haben, möglich ist, das Vergären der Glucose im Blute selbst vorzunehmen, wird eine Restreduktionsbestimmung beinahe ebenso einfach sein wie eine Gesamtreduktionsbestimmung und wird mit recht kleinen Blutmengen, z. B. 1—2 ccm ausgeführt werden können; diese Menge wird genau abgemessen oder abgewogen, und  $\frac{1}{10}$  Vol. Hefenlösung wird zugesetzt; nach 24 oder 48 Stunden wird die ganze Probe gefällt und bis 25,0 oder 50,0 ccm verdünnt, wovon 10 ccm zur Analyse entnommen werden. Die Analyse darf nicht angestellt werden, bevor Lockes Lösung — dieselbe Hefenart und Menge enthaltend und zu demselben Zeitpunkt hingestellt — etwa 0,001% Glucose enthält.

Eine Reihe von Untersuchungen, die vorgenommen wurden, um zu entscheiden, inwiefern es notwendig sei, das Blut in besonderer Weise zu behandeln, um eine schnelle und vollständige Vergärung zu erzielen, ergaben, daß die Vergärung vom Zusatz kleiner Säuremengen einigermaßen unabhängig war, wohingegen sie bei Zusatz von kleinen Fluoridmengen bedeutend schlechter verlief, sich aber von Kaliumoxalat nur in geringerem Grade beeinflussen ließ. Toluol in größeren Mengen verminderte gleichfalls das Vergärungsvermögen.

Die Vergärung wurde daher am besten in defibriniertem Blut vorgenommen; jedoch kann man auch ohne Risiko in Oxalatblut vergären.

In den nun zu besprechenden Versuchen über die Restreduktion des Blutes wurde die Vergärung in allen Fällen im Blut selbst unternommen. Sie wurde fortgesetzt, bis die entsprechende Kontrollflüssigkeit etwa 0,002% Glucose enthielt, oder bis das Reduktionsvermögen der Blutprobe seit den letzten 24 Stunden nicht abgenommen hatte; diese beiden Umstände zeigen nämlich jeder für sich, daß die Vergärung so weit vorgeschritten ist, wie sie es unter den vorliegenden Versuchsbedingungen tun kann, wie dadurch auch verbürgt wird, daß die restierende Glucosemenge nicht größer sein kann als 0,002%.

Die Versuche, in denen die Hefe nicht so kräftig war, daß die Glucose der Kontrollflüssigkeit bis unter 0,002% vergor, oder in denen die Reduktion nach 24stündigem Vergären wesentlich höher war als nach 48 Stunden, wurden ausgeschaltet oder wiederholt.

Größe der Restreduktion unter normalen Verhältnissen:

	Etwa 24 stünd. Vergären	Etwa 48 stünd. Vergären	Kor- rektur <sup>1)</sup>
Rind . . . . .	0,006	0,007	0,0006
	0,0084	0,008	0,0015
	0,0088	0,0084	0,0028
	0,0030	0,0030	
Ziege . . . . .		0,0024	0,0012
Kaninchen . . . . .	0,006	0,004	0,002
		0,003	0,001
		0,004	
Mensch . . . . .	0,0046	0,0045	0,0015

Von den obengenannten Proben sind einige Arterien-, andere Venenblutproben; die Tabelle enthält keine Angaben darüber, da spezielle Versuche dargetan haben, daß die beiden Blutarten keinen systematischen Unterschied der Restreduktion aufwiesen.

#### Hund

Gesamtreduktion Arterienblut . . . .	0,169	0,224	0,258
Restreduktion Arterienblut . . . . .	0,004	0,004	0,004
Restreduktion Venenblut . . . . .	0,004	0,005	0,005

#### Hund. Restreduktion.

Arterienblut . . . .	0,005	0,005	0,004	0,004	0,002	0,004	0,003	0,003
Venenblut . . . . .	0,003	0,006	0,003	0,004	0,004	0,002	0,004	0,005

Durchschnittliche Restreduktion in Arterienblut = 0,0038

Durchschnittliche Restreduktion in Venenblut = 0,0040.

Es ist bekannt, daß eine Reihe von Eingriffen bewirkt, daß das Reduktionsvermögen des Blutes zunimmt; dagegen war man nicht immer darüber im klaren, inwiefern man hier mit einer echten Hyperglykämie zu tun habe, oder ob nur die Größe der Restreduktion zunehme (Otto), ob sowohl die Restreduktion als die eigentliche Glucosemenge sich vermehre, und zwar in demselben Grade (Andersson), oder ob man ausschließlich mit einer Zunahme der Glucose zu tun habe.

Diese Frage soll daher besonders untersucht werden.

Wie Bang<sup>2)</sup> gezeigt hat (und wie im übrigen aus einer Reihe noch nicht veröffentlichter Untersuchungen über die „Aderlaß-

<sup>1)</sup> Gibt die Glucosekonzentration in einer Lockeschen Lösung nach 48stündigem Vergären an.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 58—65. 1913 u. 1914.

hyperglykämie“ hervorgegangen ist), ruft der Aderlaß bei Urethannarkose eine ganz enorme Steigerung des Reduktionsvermögens des Blutes hervor. In einem solchen Versuch habe ich untersucht, ob die Steigerung des Reduktionsvermögens ausschließlich von Glucose — oder wenigstens von vergärbarem Zucker — herrührt, oder ob auch die Größe der Reduktion zugenommen hat.

Versuch.	Kaninchen 5 kg, 5 g Urethan.	Carotiskanüle	Gesamt- Restredukt.	
			reduktion	nach 48 St.
1. Probe . . . . .	3 <sup>h</sup> 15'	10 ccm	0,127	0,0050
2. Probe . . . . .	3 <sup>h</sup> 45'	10 ccm	0,185	0,0045
3. Probe . . . . .	4 <sup>h</sup> 20'	20 ccm	0,224	0,0043
4. Probe . . . . .	4 <sup>h</sup> 40'	20 ccm	0,298	0,0042
5. Probe . . . . .	5 <sup>h</sup> 10'	10 ccm	0,403	0,0050

Ringersche Lösung, 0,2% Glucose nach 48stünd. Vergären 0,0012.

Der Versuch zeigt, daß die Restreduktion nicht zunimmt; die ganze Steigerung des Reduktionsvermögens rührt von vergärbarem Zucker her.

Die durchschnittliche Restreduktion beträgt:

unkorrigiert	korrigiert
0,0046	0,0034

Ein Aderlaßversuch an einem Hund gab dasselbe Resultat:

Vor dem Aderlasse		Nach dem Aderlasse	
Gesamtreduktion	Restreduktion	Gesamtreduktion	Restreduktion
0,090	0,004	0,146	0,0046

(Durchschnitt von 4 Bestimmungen.)

Das Hauptresultat sämtlicher Untersuchungen ist, daß die mit Mikro - Bang bestimmte Restreduktion des Blutes eine recht geringe Größe ist, zwischen 0,002 und 0,009% schwankend, durchschnittlich 0,004—0,005%, und zwar ohne Korrektion für die noch nicht vergorene Glucose: der wahre Wert der Restreduktion liegt etwa 0,001—0,002% niedriger.

Unter normalen Verhältnissen beträgt der nicht vergärbare Teil der reduzierenden Stoffe des Blutes etwas unter 5% der Gesamtreduktion.

Da diese Untersuchung als Einleitung zum Studium der Glucoseverteilung zwischen dem Plasma und den roten Blutkörperchen angestellt wurde, eine Untersuchung, die abgeschlossen

ist und bald publiziert werden wird, ist die Frage von der Verteilung der restreduzierenden Stoffe zwischen dem Plasma und den Blutkörperchen von besonderer Bedeutung; wie diese Verteilung sich gestaltet, geht aus dem folgenden Versuch hervor:

Versuch: 70 ccm Blutkörperchenbrei (Rind), etwa 10% Plasma + 35 ccm Ringersche Lösung enthaltend.

Vor dem Vergären	(Korr. für Verd.) = 0,021% <sup>1)</sup>
Nach 17stünd. Vergären	= 0,011%
Nach 36stünd. Vergären	= 0,006%

Plasma.

Vor dem Vergären . . . . .	= 0,160%
Nach 17stünd. Vergären . . . . .	= 0,0096%
Nach 36stünd. Vergären . . . . .	= 0,0032%

Restreduktion. Hund.

Plasma . . . . .	= 0,002%	} 24stünd. Vergären
Blutkörperchen . . . . .	= 0,002%	
Kontrollflüssigkeit . . . . .	= 0,0002%	

Die restreduzierenden Stoffe finden sich also sowohl im Plasma wie in den Blutkörperchen; wenn die Konzentration auch in dem einen Versuch in den Blutkörperchen am größten ist, so ist die Größenordnung doch dieselbe. Dank der geringen absoluten Größe kann man daher bei Untersuchungen über die Verteilung der Glucose zwischen Plasma und Blutkörperchen, ohne merkbare Fehler zu begehen, von der Reduktion absehen und die gefundenen Reduktionswerte als für die Glucose maßgebend benutzen, oder man kann die Glucosekonzentration durch Subtraktion von 0,005 von der Gesamtrestreduktion berechnen.

Während die Restreduktion unter normalen Verhältnissen verschwindend klein ist, so klein, daß man sie in der Regel außer Betracht lassen kann, braucht dies bei verschiedenen pathologischen Verhältnissen nicht der Fall zu sein, wenn sie auch nicht die von Feigl angegebenen Werte erreicht.

Versuch: Hund. 2,4 kg. Nierenexstirpation. 3 Tage nach der Operation wies eine Blutprobe folgende Reduktionswerte auf:

Gesamtrestreduktion . . . . .	0,115%
Restreduktion nach 24stünd. Vergären . . . . .	0,036%
Restreduktion nach 48stünd. Vergären . . . . .	0,035%

Das Tier starb 8 Stunden nach der letzten Probeentnahme.

<sup>1)</sup> Wird noch für den Gehalt des Plasmas an reduzierenden Stoffen korrigiert, wird die Gesamtrestreduktion der Blutkörperchen zu 0,005% berechnet.

## Kaninchen. Nierenexstirpation. Probe 3 Tage danach.

Gesamtreduktion . . . . .	0,150%
Restreduktion nach 24 stünd. Vergären . . . . .	0,028%
Kontrollflüssigkeit nach 24 stünd. Vergären . . . . .	0,0017%

Die Versuche zeigen, daß  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$  vom Reduktionsvermögen des Blutes bei experimentell hervorgerufener Urämie von der Restreduktion herrührt: solche Zustände werden somit Pseudo-hyperglykämien veranlassen können.

Die oben besprochenen Restreduktionsuntersuchungen besitzen natürlich nur absolute Gültigkeit bei Benutzung von Mikro-Bang; einige allgemeine Resultate ist man jedoch berechtigt aufzustellen, indem Feigl sicherlich recht hat, wenn er behauptet, daß die Restreduktion einigermaßen identisch ist bei Mikro-Bang und Makro-Bang, welche Behauptung durch einige Untersuchungen über die mit Mikro-Bang und mit der neuen von Hagedorn und Normann Jensen<sup>1)</sup> beschriebenen Kalium-Ferricyanidmethode bestimmte Restreduktion in Blut sowie in Harn erhärtet wird<sup>2)</sup>. Es zeigte sich nämlich, daß die Restreduktion des Harns denselben durchschnittlichen Wert hatte bei Bestimmung mit Mikro-Bang wie bei A. C. Andersens Bestimmung mit Makro-Bang<sup>3)</sup>.

Da nun Makro-Bang eine größere Restreduktion ergeben hat als andere Methoden, nach denen quantitative Untersuchungen angestellt wurden, läßt sich daraus schließen, daß die Restreduktion nach den meisten Restreduktionsmethoden von derselben, ja evtl. von geringerer Größenordnung sein muß, als die in dieser Untersuchung nach Mikro-Bang gefundenen, und es läßt sich im allgemeinen behaupten, daß die Restreduktion des Blutes ganz außerordentlich klein ist. Andererseits muß man natürlich darauf gefaßt sein, Reduktionsmethoden zu finden, die eine größere Restreduktion ergaben als Mikro-Bang; eine solche Methode ist eben die obenerwähnte Kaliumferricyanidmethode, bei der die Restreduktion in Blut prozentisch größer ist als nach Mikro-Bang, der absolute Unterschied unter normalen Verhältnissen ist aber sehr gering.

Nachdem ich meine Untersuchungen über die Restreduktion

<sup>1)</sup> Hagedorn und Normann Jensen, Ugeskrift for Laeger. 1918.

<sup>2)</sup> Rich. Ege und Ove Rasmussen, Hospitalstidende 1919.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. 15. 1909.

des Blutes beendigt hatte, hat J. W. Best eine umfangreiche Untersuchung über dasselbe Thema veröffentlicht<sup>1)</sup>, in der er zu einem ganz anderen Resultat kommt, indem er mittels einer Kupfersulfatmethode findet, daß ein sehr großer Teil der reduzierenden Bestandteile des Blutes sich nicht vergären läßt. Er benutzte reinkultivierte Hefe verschiedener Sorten (*Torula monosa*, *Saccharomyces cerevisiae* und eine Lactosehefe).

Die bei Benutzung einer dieser Hefesorten übrigbleibenden Substanzen bestehen hauptsächlich aus nicht vergärbaren Kohlenhydraten unbekannter Zusammensetzung.

Ich bezweifle diese Angaben jedoch stark, denn teils widersprechen meine Versuche, bei denen sich fast die ganze Reduktion durch Vergären mit gewöhnlicher Preßhefe entfernen ließ, teils gestatte ich mir zu behaupten, daß Best keine Garantie dafür hat, daß die Vergärung tatsächlich eine vollständige war; nach den Resultaten, zu denen ich bei Vergärungsversuchen in reinen Glucoselösungen gekommen bin, möchte ich a priori behaupten, daß dies unmöglich der Fall gewesen sein kann, da die Hefemengen — Best benutzt eine „Platinöse“ Hefekultur zu 150 ccm Lösung — viel zu klein sind.

### Zusammenfassung.

I. Soll eine Vergärungsuntersuchung zuverlässige Aufschlüsse über die Menge von nicht gärungsfähigen reduzierenden Stoffen ergeben, so muß

1. die Eigenreduktion der Hefe bestimmt und
2. die Vergärungsfähigkeit der Hefe kontrolliert werden.

II. Die Restreduktion ist von der benutzten Reduktionsmethode abhängig.

III. Die Restreduktion ist bei Anwendung von Bangs Mikromethode ganz außerordentlich gering (0,000—0,008).

IV. Die Restreduktion in Blutkörperchen und Plasma ist von derselben Größenordnung.

V. Die Restreduktion ist die gleiche in arteriellem und in venösem Blut.

<sup>1)</sup> J. W. Best, *Over de suikers van het bloed. Onderzoekingen gedaan in het Physiol. Laboratorium, Utrecht. 1918.*

## Zur Frage der Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Glucose und Anelektrolyten.

Von  
Rich. Ege.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 1. Mai 1920.)

In dieser Zeitschrift 100, 1919, haben W. Falta und M. Richter-Quittner, sich auf ein sehr reiches Analysenmaterial stützend, dessen angegebene Genauigkeit eine ungemein große ist, behauptet, daß die früheren Untersuchungen über die Verteilung von Stoffen zwischen Blutkörperchen und Plasma nicht für das zirkulierende Blut zutreffen; Falta und Richter-Quittner finden nämlich, daß die Blutkörperchen von Hirudinblut weder Chlorionen (noch sonstige Elektrolyten) noch Glucose enthalten; wenn andere Forscher gefunden haben, daß die Blutkörperchen Elektrolyten enthalten, und daß wenigstens die Menschenblutkörperchen auch Glucose enthalten, sollte dies nur von Blutkörperchen gelten, die durch Zusatz von Kaliumoxalat, Natriumfluorid oder durch Defibrinieren geschädigt worden wären.

Da ich eben eine Untersuchung über das osmotische Verhalten der Blutkörperchen und der Durchlässigkeit des Blutkörperchenhäutchens für verschiedene Stoffe (spez. Anionen und Glucose) abgeschlossen hatte, war ich genötigt, Falta und Richter-Quittners Resultate einer näheren Nachprüfung zu unterwerfen. Es ergab sich dadurch, daß die Behauptung dieser Forscher gar nicht zutrifft.

Bestimmt man die Verteilung der Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma im Menschenblut, das in Hirudin entleert worden ist (ich arbeitete mit derselben Menge und demselben Hirudinpräparat wie Falta und Richter-Quittner), so findet man, daß die Blutkörperchen eine Glucosmenge von etwa 70%

von der des Plasmas enthalten. An Kaninchenblut gelang es mir durch ein schnelles Zentrifugieren des unbehandelten Blutes, eine quantitative Scheidung von Plasma und Blutkörperchen zu erzielen. Diese Probe muß somit sehr nahezu dem strömenden Blut entsprechen, während sich dies eigentlich nicht vom Hirudinblut behaupten läßt. Die Chlormenge der Blutkörperchen betrug 67% von der des Plasmas.

Ganz dieselben Resultate hatte ich früher für Oxalat- (0,1%), Fluorid- (0,2%) und für defibriniertes Blut gefunden, weshalb ich mich berechtigt glaube, die Richtigkeit und Allgemeingültigkeit meiner Resultate zu behaupten.

Die Resultate meiner Versuche<sup>1)</sup>, die später in ausführlichem Umfang veröffentlicht werden sollen, waren u. a., daß 1. die Blutkörperchen diffusible Elektrolyten enthalten; 2. Die Anionen dringen durch das Häutchen der Blutkörperchen mit einer Geschwindigkeit, die teilweise vom Ionengewicht abhängig ist. (Setzen wir die Geschwindigkeit für  $\text{SO}_4^{\ddagger\ddagger} = 1$ , so erhalten wir für andere Ionen die folgende Geschwindigkeiten:  $\text{HPO}_4^{\ddagger\ddagger} = 2$ ;  $\text{NO}_3^{\ddagger} = 10$ ;  $\text{CO}_3^{\ddagger\ddagger} = 20$ ;  $\text{Cl}^{\ddagger} = 30$ ); 3. Die roten Blutkörperchen des Kaninchens, der Ziege, des Rindes und des Hundes sind impermeabel für Glucose, dagegen sind die des Menschen permeabel für Glucose. Die Verhältnisse sind jedoch nicht so einfach, wie Masing und Kozawa meinen, indem die Glucose teils in der Membranphase absorbiert wird, teils ganz langsam in die Blutkörperchen hineindringt.

---

<sup>1)</sup> Rich. Ege, Studier over Glukosens Fordeling mellem Plasmaet og de røde Blodlegemer og nogle dermed beslægtede Problemer (Studien über die Verteilung der Glucose zwischen Plasma und roten Blutkörperchen und einige hiermit verwandte Probleme [1—205]). Diss. København 1919—20.



## **Einige Bemerkungen über die Verteilung der Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma.**

Von  
**H. C. Hagedorn.**

(Aus der medizinischen Universitätsklinik Kopenhagen  
[Prof. Dr. Kn. Faber].)

(Eingegangen am 1. Mai 1920.)

Als ich vor einigen Jahren gemeinschaftlich mit Herrn Norman Jensen eine Mikromethode zur Blutzuckerbestimmung ausarbeitete<sup>1)</sup>, hatte ich bei den systematischen Untersuchungen über die Fehlerquellen auch darauf zu achten, inwiefern eine kleine, bei der Probeentnahme entstandene Inhomogenität im Verhältnis Blutkörperchen: Blutplasma einen Analysenfehler bedingen konnte. Deshalb kamen mehrere Proben von Oxalatblut und Plasma sowie Blut und Serum zur Analyse, wobei ein größerer Gehalt an Glukose im Plasma gefunden wurde. Die Unterschiede waren aber recht kleine, so daß man also annehmen mußte, daß im Blutkörperchen eine erhebliche Menge von Glucose vorkäme.

Zunächst haben W. Falta und M. Richter-Quittner<sup>2)</sup> einige Untersuchungen mitgeteilt, aus welchen hervorzugehen schien, daß die Blutkörperchen im zirkulierenden Blut oder Hirudinblut keine Glucose enthalten sollen. Hier sollen nun einige Analysen von Hirudinblut und Plasma, die die Anwesenheit der Glucose in Blutkörperchen feststellen, veröffentlicht werden.

Das Blut ist durch Punktion der Vena mediana cubiti gewonnen, in ein Zentrifugengläschen mit Hirudin aufgefangen und so gleich nach Mischung und Probeentnahme zentrifugiert worden. Die Glucose ist durch die genannte Mikromethode, deren Prinzip

---

<sup>1)</sup> Bisher nur in Ugeskrift for Laeger 1918 veröffentlicht: Om kvantitativ Bestemmelse af minimale Glucosemaengder saerlig i Blod.

<sup>2)</sup> W. Falta und M. Richter-Quittner, diese Zeitschr. 100. 1919.

sich auf die Reduktion des Ferricyanids in Ferrocyanid stützt, bestimmt, das Ferricyanid jodometrisch titriert, und es ist für jede Analyse 0,1 ccm Blut verwendet worden.

	Glucose %			Häma- tokrit	B/P
	Blut	Plasma	Blut- körperch.		
Normaler Mann . . . . .	0,087 0,087	0,105 0,107	0,068	50,0	64
Normaler Mann. Nüchtern .	0,067 0,068	0,076 0,077	0,055	42,5	72
Normaler Mann. Nüchtern .	0,107 0,107	0,117 0,119	0,096	49,5	81
Derselbe, 40 Min. nach Eingabe von 50 g Glucose	0,165 0,163	0,173 0,169	0,156	49,5	91
Pat. mit leichtem Diabetes. Nüchtern	0,139	0,151 0,155	0,123	47,0	80
Derselbe, 50 Min. nach Eingabe von 40 g Glucose	0,237 0,238	0,257 0,258	0,216	47,0	84

Die Blutkörperchenwerte sind mittels der Glucosekonzentration des Blutes und des Plasmas unter Berücksichtigung des Blutkörperchenvolumens berechnet.

# Über die Verteilung der Reststickstoffkörper auf Plasma und Körperchen im strömenden Blute.

Von

K. L. Gad Andresen.

(Aus dem zoophysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 1. Mai 1920.)

In dieser Zeitschrift 100, 1919, haben W. Falta und M. Richter-Quittner eine Arbeit über die Verteilung des Zuckers, der Chloride und der Reststickstoffkörper auf Plasma und Körperchen im strömenden Blute veröffentlicht. Die Resultate, die sie erhalten haben, gehen darauf hinaus, daß weder Zucker noch freie Chloride, noch Reststickstoffkörper in diffusibler Form in den Blutkörperchen zu finden sind, wenn man das Blut mit Hirudin flüssig hält oder nach Defibrinierung sofort untersucht, sondern daß diese Bestandteile ausschließlich im Plasma vorkommen.

Da der Harnstoff einen wesentlichen Teil des Reststickstoffes ausmacht, will ich, durch jene Arbeit veranlaßt, eine vorläufige Mitteilung über eine Untersuchung machen, die ich über die Verteilung des Harnstoffes auf Plasma und Blutkörperchen angestellt habe. Die Bestimmung ist teils an Menschenblut und teils an wärmblütigen wie auch kaltblütigen Tieren gemacht worden. Bei den meisten Bestimmungen habe ich Oxalatblut (1 g oxalsaures Kali auf 1000 ccm Blut und nicht, wie Falta und Richter-Quittner, 1 g oxalsaures Natron auf 100 ccm Blut) verwendet. Gleichzeitig habe ich einzelne Bestimmungen an defibriniertem Blut sowie nach der Angabe von Falta und Richter-Quittner durch Hinzusetzen von Hirudin zum Blute gemacht, und zwar unmittelbar nachdem dieses einer Vene entnommen war.

Bei allen Bestimmungen habe ich gefunden, daß die Blutkörperchen Harnstoff enthielten, nämlich ca. 80% der im Plasma enthaltenen Menge, wenn man die Harnstoffmenge pr. 100 ccm

Blutkörperchen resp. 100 cem Plasma berechnet. Außerdem habe ich die Verteilung des Harnstoffes zwischen Ringerscher Flüssigkeit und Blutkörperchen bestimmt, wo ich dieselbe Verteilung wie zwischen Plasma und Blutkörperchen fand. Gleichzeitig habe ich vergleichende Bestimmungen über Harnstoffkonzentrationen im Blut und verschiedenen Sekreten und Organen angestellt, wobei ich nie höhere, aber bisweilen niedrigere Harnstoffkonzentrationen als im entsprechenden Blute fand, welches in hohem Grade dafür zeugt, daß Harnstoff nicht ausschließlich im Plasma des strömenden Blutes vorkommt.

---

## **Einige Bemerkungen über die Verteilung von Anionen zwischen Blutkörpern und Plasma.**

Von

**E. J. Warburg.**

(Aus dem Laboratorium von Finsens med. Lichtinstitut, Kopenhagen [Direktor: Dr. med. Carl Sonne].)

(Eingegangen am 13. Mai 1920.)

In der Biochemischen Zeitschrift 100, 148, 1919, haben W. Falta und M. Richter-Quittner ein bedeutendes Versuchsmaterial veröffentlicht. Sie geben u. a. an, daß alles Chlorid im Blut, welches mit Hirudin inkoagulabel gemacht ist, im Plasma vorhanden ist, während ein großer Teil der Chloriden im defibrinierten Blut und im Oxalat- und Fluoridblut in den Blutkörperchen gefunden werden, solcherweise, daß man eine Wanderung der Cl vom Plasma zu den Blutkörpern vermuten muß, wenn das Blut auf die letztere Art behandelt wird. Da wir im hiesigen Laboratorium mehrere Jahre lang mit Untersuchungen über die Gesetze für die Verteilung der Ionen zwischen Blutkörperchen und Serum im defibrinierten Blut beschäftigt gewesen sind, haben wir Falta's und Richter-Quittner's Versuche einer Nachprüfung unterworfen und finden es des lebhaften Interesses wegen, welches die Frage erwecken kann, zweckmäßig, eine vorläufige Mitteilung über diese Verhältnisse zu geben; ein ausführlicherer Bericht über die Verhältnisse im defibrinierten Blut wird bald erscheinen. Wir können aber gleich feststellen, daß wir, im Gegensatz zu Falta und Richter-Quittner, ganz die gleiche Verteilung von Cl und  $\text{HCO}_3$  im Hirudinblut wie im defibrinierten Blut gefunden haben.

Versuch I. Pferdeblut, hinzugesetzt 3 cg Hirudin zu 100 ccm Blut,  $\frac{1}{3}$  Stunde mit 19,4 mm HgCO<sub>2</sub> gesättigt.

Hämatokrit- zahl	Milligramm- äquivalente Cl in 1000 ccm	Vol.-% CO <sub>2</sub> gebunden	Milligramm- äquivalente HCO <sub>3</sub> in 1000 ccm
Plasma . . . . .	108	59,4	26,8
Blut . . . . . 42,0—43,0	82	48,6	21,6
Blutkörpergrütze 77,0—77,0	63	37,9	16,9
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,44 von Blut und Plasma		
Cl in Plasma			
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,46 von Blutkörpergrütze und Plasma		
Cl in Plasma			
<u>HCO<sub>3</sub> in Blutkörperchen</u>	= 0,57 von Blut und Plasma		
HCO <sub>3</sub> in Plasma			
<u>HCO<sub>3</sub> in Blutkörperchen</u>	= 0,53 von Blutkörpergrütze und Plasma		
HCO <sub>3</sub> in Plasma			

Versuch II. Dasselbe Blut mit 744,2 mm Hg CO<sub>2</sub> gesättigt.

Hämatokrit- zahl	Milligramm- äquivalente Cl in 1000 ccm	Vol.-% CO <sub>2</sub> gebunden	Milligramm- äquivalente HCO <sub>3</sub> in 1000 ccm
Plasma . . . . .	92	127,4	57,0
Blut . . . . . 46,0—46,5	82	122,4	54,8
Blutkörpergrütze 77,5—78,5	75	116,4	52,1
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,78 von Blut und Plasma		
Cl in Plasma			
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,77 von Blutkörpergrütze und Plasma		
Cl in Plasma			
<u>HCO<sub>3</sub> in Blutkörperchen</u>	= 0,92 von Blut und Plasma		
HCO <sub>3</sub> in Plasma			
<u>HCO<sub>3</sub> in Blutkörperchen</u>	= 0,89 von Blutkörpergrütze und Plasma		
HCO <sub>3</sub> in Plasma			

Versuch III. Dasselbe Pferdeblut defibriniert, 24 Stunden lang auf Eis aufbewahrt und mit 15,0 mm Hg CO<sub>2</sub> gesättigt.

Hämatokritzahl	Milligrammäquival. Cl in 1000 ccm
Serum . . . . .	107
Blut . . . . . 42,0—42,0	82
Blutkörpergrütze . . 75,0—75,0	66
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,44 von Blut und Serum
Cl im Serum	
<u>Cl in Blutkörperchen</u>	= 0,49 von Blutkörpergrütze und Serum
Cl im Serum	

Versuch IV. Dasselbe Blut mit 741,5 mm Hg CO<sub>2</sub> gesättigt.

	Hämatokritzahl	Milligrammäquival. Cl in 1000 ccm
Serum . . . . .		92
Blut . . . . .	47,5—47,5	82
Blutkörpergrütze . . . . .	72,0—73,0	73

$$\frac{\text{Cl in Blutkörperchen}}{\text{Cl im Serum}} = 0,78 \text{ von Blut und Serum}$$

$$\frac{\text{Cl in Blutkörperchen}}{\text{Cl im Serum}} = 0,72 \text{ von Blutkörpergrütze und Serum}$$

Die Verteilung von Bicarbonat mußte früheren Untersuchungen entsprechend in Versuch 3: 0,55 und in Versuch 4: 0,86 sein.

Ferner haben wir einige Proben von Menschenblut, dem Hirudin beigesetzt war, untersucht und haben hier große Mengen Cl in den Blutkörperchen gefunden; hier kann z. B. angeführt werden, daß wir bei Zentrifugierung gleich nach der Blutentleerung eine Cl-Verteilung von 0,53 vorfanden.

Die CO<sub>2</sub>-Bestimmungen sind durch Auspumpen mit der Quecksilberpumpe und die Analyse im Pettersonapparat vorgenommen worden. Die Cl-Bestimmungen sind nach Bang gemacht, indem wir aber 1 ccm zur Ausfällung nahmen und in Mengen 0,2 ccm entsprechend titrierten; dies geschah bequemlichkeits halber und es läßt sich nicht erwarten, daß dadurch größere Genauigkeit erlangt werden konnte, weil man dadurch eine von Richter - Quittner behauptete Inhomogenität in kolloiden Auflösungen vermeiden sollte.

Richter - Quittner hat in der Biochemischen Zeitschrift, Bd. 96, S. 92, 1919, mehrere vorhandene Mikromethoden mit der Motivierung modifiziert, daß kolloide Auflösungen so inhomogen sind, daß man sich nicht damit begnügen kann, 0,1 ccm zur Analyse zu nehmen, sondern lieber 3 ccm nehmen müßte; ein einfacher Rechnungsüberschlag wird zeigen, daß dies nicht richtig ist.

Laßt uns zuerst das Serum betrachten; dies enthält ca. 7,5% Proteine, laßt die Molekülzahl der Proteine 75 000 sein und die Avogadrozahl  $6 \cdot 10^{23}$  in 0,1 ccm wird dann sein

$$\frac{6 \cdot 10^{23}}{10^4 \cdot 10^4} = 6 \cdot 10^{15} \text{ Partikeln Protein.}$$

In Blut mit  $5 \cdot 10^6$  Blutkörperchen pr. Kubikmillimeter werden in 0,1 ccm  $5 \cdot 10^8$  Blutkörperchen sein, es versteht sich

von selbst, daß hier keine Rede sein kann von Inhomogenität im Richter-Quittnerschen Sinne.

Zum Schluß möchten wir nur darauf aufmerksam machen, daß Richter-Quittner selbst im Jahre 1918 in der Biochem. Zeitschr., Bd. 95, S. 202, Analysen mitgeteilt hat, die zeigen, daß das Plasma dieselbe Menge Chlorid wie auch dieselbe Menge Rest-N enthält, ob es aus Hirudinblut oder Oxalat-Fluorid- und Citratblut gewonnen wird. Die Genauigkeit der erwähnten Analysen scheint sehr groß zu sein, und es ist erstaunlich, daß die Übereinstimmung zwischen den Chloriden so gut ist, da ja die Verteilung zwischen Blutkörpern und Plasma von der Kohlensäurespannung während der Zentrifugierung abhängig ist.

Richter-Quittner hat selbst nicht auf die mangelnde Übereinstimmung zwischen den früheren und später mitgeteilten Resultaten aufmerksam gemacht, und auch wir wollen gerne davon absehen, eine Erklärung zu geben.



## Haben Aminosäuren schlechthin Secretincharakter ?

Von

Dr. Schweitzer.

(Aus der Experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 1. Mai 1920.)

In seiner Arbeit „Physiologische und klinische Untersuchungen über die Magensaftsekretion“ zeigte Ehrmann<sup>1)</sup>, daß gewisse Eiweißabbauprodukte, und darunter auch einige Aminosäuren, keinen secretinartigen Charakter haben, d. h. er stellte fest, daß diese Körper nach ihrer intravenösen oder subcutanen Injektion bei einem nach der Bickelschen Methode ganz oder nach der Heidenhainschen Art teilweise seiner extragastralen Nerven beraubten fundalen Magenblindsack des Hundes an eben diesem Blindsack keine Sekretion hervorrufen. Ehrmann prüfte in dieser Weise das Pepton (Witte), das Natrium nucleinicum (Boehringer), das Sarkosin (Kahlbaum), ferner Kreatinin, Alanin, Glykokoll. Andererseits war von Eisenhardt<sup>2)</sup>, Bickel<sup>3)</sup> und mir festgestellt worden, daß es Aminosäurengemische gibt, die zweifellos einen mehr oder minder stark secretinartigen Charakter besitzen. Zu diesen Gemischen gehört vor allem dasjenige, das durch die Säurehydrolyse des Spinats gewonnen wird, ferner ein Gemisch, das durch die Säurehydrolyse des im Handel erhältlichen Ereptons, angeblich eines auf fermentativem Wege erhaltenen Fleischeiweißabbauproduktes, gewonnen wird, endlich gehört zu diesen Aminosäurengemischen die Muttersubstanz der ebenfalls im Handel erhältlichen Maggischen Suppenwürze (Würzepaste).

Bei diesen widerspruchsvollen Ergebnissen war es nun zweifellos von Interesse, einmal die Frage zu entscheiden, ob der secretinartige Charakter eines Aminosäurengemisches eine Ausnahme bei solchen Gemischen verschiedener Provenienz ist,

oder ob im Gegenteil die Ausnahme darin gesucht werden muß, daß einem solchen Gemisch der secretinartige Charakter fehlt. Gleichzeitig war es wünschenswert, auch noch reine Aminosäuren auf ihren secretinartigen Charakter hin zu prüfen. Denn wenn sich ergab, daß reine Aminosäuren oder Aminosäurengemische verschiedener Provenienz gewöhnlich keinen Secretincharakter haben, so war damit die Annahme überaus wahrscheinlich geworden, daß der Secretincharakter in Aminosäurengemischen durch Substanzen erzeugt wird, die bei dem hydrolytischen Abbau und Aufschluß der Muttersubstanzen nicht ohne weiteres durch einen solchen Prozeß erzeugt werden. Entweder sind den Muttersubstanzen — von vornherein — Secretinkörper beigemischt, die durch die Hydrolyse in Freiheit gesetzt werden, oder aber es erfährt der Abbau durch besondere Eingriffe eine bestimmte, ungewöhnliche Richtung, so daß Spaltungen mit secretinartigem Charakter entstehen, die bei der gewöhnlichen Hydrolyse der meisten solcher Muttersubstanzen nicht erzeugt werden.\*)

Wenn nun auch der Secretincharakter der Aminosäuren noch ungeklärt war, so war doch auf der anderen Seite durch Bickel<sup>4)</sup> festgestellt worden, daß jedes Aminosäurengemisch verschiedenster Provenienz, das durch Säurehydrolyse aus Eiweiß gewonnen wurde, nach seiner Einführung per os in den Magen auf dem nervösen, reflektorischen Wege eine Sekretion auszulösen imstande ist. Diese Aminosäurengemische sind also sämtlich Erreger für die nervösen Apparate der Magendrüsen. Rheinboldt<sup>5)</sup> hatte das zuerst für die Maggische Suppenwürze nachgewiesen und in gewissem Sinne gehört auch vielleicht in diese Reihe der Nachweis von Pawlow und Sasaki über die erregende Wirkung des Fleischextraktes.

Die Methodik, deren ich mich nun zur Prüfung der Frage bediente, ob bestimmte Aminosäuren oder Aminosäurengemische Secretincharakter haben, war folgende.

Wenn man einem Hunde mit einem aller extragastralen

---

\*) Im Jahre 1917 hat Bickel mitgeteilt, daß er über eine Methode verfügt, durch die er Aminosäurengemischen, die von Hause aus keinen Secretincharakter haben, den Secretincharakter verleihen kann. Er zwingt dabei das Eiweißmolekül, einen anderen Weg beim Abbau einzuschlagen, als er bei der Säurehydrolyse beschritten wird. (Berl. klin. Wochenschr. 1917.)

Nerven beraubten Bickelschen Magenblindsack eine Substanz in den großen Magen eingießt, und wenn sich dann eine Sekretion in dem kleinen Magen einstellt, so kann diese Sekretion nur in der Weise ausgelöst werden, daß entweder die eingeführte Substanz resorbiert und durch das Blut den Drüsen des kleinen Magens zugeführt wird und diese anregt, oder daß die Schleimhaut des großen Magens durch die Zufuhr der genannten Substanzen zunächst auf dem Wege eines nervösen Reflexes zur Arbeit getrieben wird, daß dabei der Pylorus Secretin produziert, das nach seiner Resorption den kleinen Magen wieder auf dem Blutwege beeinflußt; endlich ist es möglich, daß beide Faktoren nebeneinander hergehen.

Auch dann, wenn nach der intravenösen oder der subcutanen Zufuhr eine Sekretion im nervenlosen Magenblindsack auftritt, ist eine Intervention des von der Schleimhaut des großen Magens stammenden Secretins nicht auszuschließen. In jedem Fall aber kann man beim negativen Ausfall der nach der einen oder anderen Anordnung angestellten Versuche den Schluß ziehen, daß die eingeführten Substanzen nach ihrer Resorption, vorausgesetzt daß sie resorbiert werden, auf dem Weg über die Blutbahn keine direkte Reizung der Drüsen bewirken können, daß sie also keinen secretinartigen Charakter haben.

Die Aminosäuren wurden im allgemeinen in der Weise hergestellt, daß eine bestimmte Menge der Grundsubstanz mit dem 2—6fachen Volumen rauchender HCl einige Zeit auf dem Wasserbade gelöst und dann während 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht wurde. Die mit Wasser verdünnte, filtrierte braune Flüssigkeit wurde dann im Vakuum unter wiederholtem Zusatz von Wasser solange destilliert, bis eine Prüfung auf Chlor mit Silbernitrat keine Trübung mehr ergab; und die Biuretprobe mußte, um Polypeptide ausschließen zu können, negativ ausfallen. Bei der schließlich auf 200 ccm eingeengten Flüssigkeit wurde der N-Gehalt, bei der Mehrzahl der Aminosäuren auch der NaCl-Gehalt bestimmt.

Es ist natürlich möglich, daß, wie aus den Arbeiten von Thomas B. Osborne und H. H. Guest\*) hervorgeht, das prozentische Verhältnis der einzelnen Aminosäuren zueinander

\*) Untersuchung der bei der Hydrolyse von Weizengliadin entstehenden Produkte. Journ. of Biol. Chem. 9, 425—438. 1911.

in einem Gemisch, das von derselben Ursprungssubstanz stammt, ein anderes ist, je nachdem, ob man den hydrolytischen Prozeß längere oder kürzere Zeit dauern läßt. Hiervon wird es abhängen, ob die Bildung der einen oder anderen Aminosäure in dem Gemisch ein Optimum erreicht. Dieses Moment habe ich berücksichtigt, indem ich einige Substanzen länger als 6 Stunden, sogar bis zu 80 Stunden mit Salzsäure kochte.

Ich untersuchte die Wirkung der Aminosäuren in drei Applikationsweisen: 1. bei intragastraler, 2. bei intravenöser, 3. bei subcutaner Einführung. Die Versuche wurden an Hunden ausgeführt, von denen dem einen ein nervenloser Magenblindsack nach Bickel, zwei anderen ein partiell entnervter nach Heidenhain angelegt war.

Bei der Gabe per os wurde eine Menge eines Aminosäurengemisches verabfolgt, die, aus dem N-Gehalt berechnet, einem Eiweißgehalt von 6 g entsprach; der NaCl-Gehalt schwankte zwischen 0,5 und 2 g; diese Menge wurde neutralisiert, in 100 ccm Wasser gelöst und mit der Schlundsonde eingegeben. Vorher war die Magensaftsekretionskurve des nüchternen Hundes aufgezeichnet worden; alle 30 Minuten erfolgte die Entnahme und Messung des aus der Fistel secernierten Magensaftes, und zwar so lange, bis nach Eingabe der zu untersuchenden Substanzen die Menge des secernierten Magensaftes zu den Werten im nüchternen Zustand zurückgekehrt war. Es sei hier bemerkt, daß die nach der Bickelschen oder Heidenhainschen Methode operierten Magenblindsackhunde eine kontinuierliche Sekretion erkennen lassen, durch die also auch bei leerer Höhle des großen Magens, d. h. im nüchternen Zustande, die Saftabscheidung nie ganz zum Stillstand kommt.

Bei der intravenösen und subcutanen Einführung wurden Mengen von Aminosäuren gegeben, die 3 g Eiweiß entsprachen. Die Entnahme des Magensaftes und die Aufstellung der Sekretionskurve erfolgte hier in derselben Weise wie oben.

In allen Fällen wurden die Versuche zur Kontrolle des öfteren wiederholt, in einzelnen Fällen Kontrollversuche mit Kochsalzlösungen in den den Aminosäurengemischen entsprechenden Konzentrationen angesetzt. Die zu den Versuchen verwendeten, durch Salzsäurehydrolyse gewonnenen Aminosäurengemische waren folgende:

1. Hydrolysiertes Glidin (1 a) Kochdauer bei der Hydrolyse 80 Stunden.
2. Hydrolysiertes Casein.
3. Hydrolysierte Weizenkörner.
4. Hydrolysierte, gekeimte Weizenkörner.
5. Hydrolysiertes Heu.
6. Hydrolysiertes Rindfleisch.
7. Hydrolysiertes, vorher fermentativ peptonisiertes Rindfleisch.
8. Hydrolysierte, vorher autolyzierte Leber.
9. Hydrolysiertes Fisch.
10. Glutaminsäure (Kahlbaum).
11. Glutaminsaures Chlorhydrat.
12. Hydrolysiertes Spinat.
13. Hydrolysiertes Erepton.
14. Maggische Würzenpaste.

#### A. Versuche bei peroraler Verabreichung der Aminosäuregemische.

##### 1. Hund I (mit nervenlosem Magenblindsack nach Bickel).

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 30—10 <sup>h</sup>	nüchtern	3,9 ccm
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'		
10 <sup>h</sup> 30'	Leberhydrolysat (8)	13,3 ccm
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'	Caseinhydrolysat (2)	9,9 ccm
12 <sup>h</sup> 30'		
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>		
1 <sup>h</sup> —1 <sup>h</sup> 30'		
1 <sup>h</sup> 30'—2 <sup>h</sup>		3,3
2 <sup>h</sup> —2 <sup>h</sup> 30'		0,3

##### 2. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 45'—10 <sup>h</sup> 15'	nüchtern	0,4 ccm
10 <sup>h</sup> 15'	Fleischhydrolysat (6)	1,1 ccm
10 <sup>h</sup> 15'—10 <sup>h</sup> 45'		
10 <sup>h</sup> 45'—11 <sup>h</sup> 15'		0,2
11 <sup>h</sup> 15'	Fleischhydrolysat (7)	4,9 ccm
11 <sup>h</sup> 15'—11 <sup>h</sup> 45'		
11 <sup>h</sup> 45'—12 <sup>h</sup> 15'		
12 <sup>h</sup> 15'—12 <sup>h</sup> 45'		
12 <sup>h</sup> 45'—1 <sup>h</sup> 15'		0,3
1 <sup>h</sup> 15'	100 ccm einer 1 proz. NaCl-Lösung	
1 <sup>h</sup> 15'—1 <sup>h</sup> 45'		0,2
1 <sup>h</sup> 45'—2 <sup>h</sup> 15'		0,4

## 3. Hund I.

Zeit		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>	nüchtern	1,8 ccm
11 <sup>h</sup> 10'—11 <sup>h</sup> 20'	Fischhydrolysat (9)	0,3
11 <sup>h</sup> 20'—11 <sup>h</sup> 30'		0,5
11 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup> 40'		0,4
11 <sup>h</sup> 40'—11 <sup>h</sup> 50'		0,1
11 <sup>h</sup> 50'—12 <sup>h</sup>		0,2
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 10'		0,1
12 <sup>h</sup> 10'—12 <sup>h</sup> 30'	0,4	2,0 ccm
12 <sup>h</sup> 30'		
12 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup> 50'	Caseinhydrolysat (2)	0,3
12 <sup>h</sup> 50'—1 <sup>h</sup> 16'		1,2
1 <sup>h</sup> 10'—1 <sup>h</sup> 36'		0,1
1 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup> 50'		0,4
1 <sup>h</sup> 50'—2 <sup>h</sup> 10'		0,3

## 4. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.	
10 <sup>h</sup> 10'—10 <sup>h</sup> 30'	nüchtern	0,2 ccm	
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>			
11 <sup>h</sup>	Weizenhydrolysat (3)	3,5 ccm	
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'			0,6
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>			1,7
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'			0,8
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>			0,4

## 5. Hund II (mit partiell entnervtem Magenblindsack nach Heidenhain.)

Zeit.		Magensaftmenge.	
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'	nüchtern	1, 2 ccm	
10 <sup>h</sup> 30'	Glidin (1)	5,0 ccm	
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>			3,5
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'			0,7
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>			0,3
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'			0,5

## Anhang zur Gruppe A.

## 6. Hund I\*).

Zeit.		Magensaftmenge.	
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'	nüchtern	0,2	
10 <sup>h</sup> 30'	Spinathydrolysat (12)	1,0 ccm	
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>			0,2
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'			0,5
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>			0,3

\*) Ein entsprechender Versuch an dem Hunde II mit Heidenhain'schem Blindsack hatte dasselbe Ergebnis.

## 7. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.
10 <sup>h</sup> — 10 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	0,8 ccm
10 <sup>h</sup> 30' — 11 <sup>h</sup>		0,8 ccm
11 <sup>h</sup>	} Würzenpaste (14)	
11 <sup>h</sup> — 11 <sup>h</sup> 30'		1,8
11 <sup>h</sup> 30' — 12 <sup>h</sup>		2,3
12 <sup>h</sup> — 12 <sup>h</sup> 30'		1,3
12 <sup>h</sup> 30' — 1 <sup>h</sup>		0,2

Resultat: Nach der peroralen Zufuhr von Aminosäurengemischen in den großen Magen wird in dem nervös isolierten Magenblindsack in der Regel eine schwache Sekretion ausgelöst, die wohl auf die Bildung und Resorption von Magensecretin und dessen Einwirkung auf den Blindsack von der Blutbahn aus zu beziehen ist.

Daß obendrein mit den Aminosäurengemischen noch besondere Secretinstoffe zugeführt, resorbiert und in Wirkung getreten wären, dafür geben höchstens die Versuche mit dem Leberhydrolysat (8) und der Maggischen Würzenpaste (14) einen gewissen Anhalt. Der Versuch mit dem Spinathydrolysat beweist, daß die in diesem Hydrolysat enthaltenen Secretine entweder überhaupt nicht resorbiert oder nach ihrer Resorption in der Leber festgehalten werden, jedenfalls nicht zur Wirkung auf den Magenblindsack kommen.

## B. Versuche mit intravenöser Verabreichung der Aminosäurengemische.

## 8. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.
10 <sup>h</sup> 5'	} nüchtern	0,0
10 <sup>h</sup> 35'		1,9
11 <sup>h</sup> 5'		0,5
12 <sup>h</sup> 35'		5,0
12 <sup>h</sup> 5'	} Hydrolysiertes Glidin (1) = 0,7 g NaCl enthaltend	
12 <sup>h</sup> 35'		3,5
1 <sup>h</sup> 5'		0,5
1 <sup>h</sup> 35'	} 4,6 ccm	0,6
2 <sup>h</sup> 25'		15 ccm hydrolysiertes Casein (2) = 0,9 g NaCl enthaltend
2 <sup>h</sup> 55'	} 2,1 ccm	0,4
3 <sup>h</sup> 25'		1,5
3 <sup>h</sup> 55'		0,2

## 9. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.	
9 <sup>h</sup> — 9 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	0,9	
9 <sup>h</sup> 30' — 10 <sup>h</sup>		0,5	
10 <sup>h</sup>	} hydrolysiertes Fleisch (6)	} 1,4 ccm	
10 <sup>h</sup> — 10 <sup>h</sup> 30'			0,2
10 <sup>h</sup> 30' — 11 <sup>h</sup>			0,3

## Anhang zur Gruppe B.

## 10. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.	
9 <sup>h</sup> — 9 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	0,0	
9 <sup>h</sup> 30' — 10 <sup>h</sup>		0,9	
10 <sup>h</sup> — 10 <sup>h</sup> 30'		0,5	
10 <sup>h</sup> 30'	} 6 g Würzenpaste (14)	} 5,4 ccm	
10 <sup>h</sup> 30' — 11 <sup>h</sup>			3,7
11 <sup>h</sup> — 11 <sup>h</sup> 30'			1,5
11 <sup>h</sup> 30' — 12 <sup>h</sup>			0,2

Resultat: Nach intravenöser Zufuhr lassen die Hydrolysate von Glidin, Casein und Fleisch keine Secretinwirkung erkennen. Bei der Würzepaste von Maggi ist solche nachweisbar.

## C. Versuche mit subcutaner Verabreichung der Aminosäuregemische.

## 11. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.	
11 <sup>h</sup> — 11 <sup>h</sup> 30'	nüchtern	0,8 ccm	
11 <sup>h</sup> 30'	} Weizenhydrolysat (3)	} 4,4 ccm	
11 <sup>h</sup> 30' — 12 <sup>h</sup>			2,1
12 <sup>h</sup> — 12 <sup>h</sup> 30'			1,4
12 <sup>h</sup> 30' — 1 <sup>h</sup>			0,6
1 <sup>h</sup> — 1 <sup>h</sup> 30'			0,3

## 12. Hund II.

Zeit.		Magensaftmenge.	
11 <sup>h</sup> 15' — 11 <sup>h</sup> 45'	} nüchtern	1,5	
11 <sup>h</sup> 45' — 12 <sup>h</sup> 15'		1,2	
12 <sup>h</sup> 15'	} Weizenhydrolysat (3)	} 5,4 ccm	
12 <sup>h</sup> 15' — 12 <sup>h</sup> 45'			2,0
12 <sup>h</sup> 45' — 1 <sup>h</sup> 15'			1,3
1 <sup>h</sup> 15' — 1 <sup>h</sup> 45'			1,0
1 <sup>h</sup> 45' — 2 <sup>h</sup> 15'			1,1

## 13. Hund II.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 30' — 10 <sup>h</sup>	} nüchtern	0,4 ccm
10 <sup>h</sup> — 10 <sup>h</sup> 30'		
10 <sup>h</sup> 30'		Glidinhydrolysat (1)



## 13. Hund II (Fortsetzung).

Zeit		Magensaftmenge
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		0,8
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		0,3
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		0,2
12 <sup>h</sup>	Caseinhydrolysat (2)	
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		0,3
12 <sup>h</sup> 30'—1		0,4
1 <sup>h</sup>	Leberhydrolysat (8)	
1 <sup>h</sup> —1 <sup>h</sup> 30'		0,5
1 <sup>h</sup> 30'—2 <sup>h</sup>		0,2
2 <sup>h</sup>	Gekeimtes Weizenhydrolysat (4)	
2 —2 <sup>h</sup> 30'		0,4
2 <sup>h</sup> 30'—3 <sup>h</sup>		0,5

## 14. Hund II.

Zeit.		Magensaftmenge.
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	2,0
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		1,5
12 <sup>h</sup>	Heuhydrolysat (5)	
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		4,1
12 <sup>h</sup> 30'—1		0,1

## 15. Hund II.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 30'—10 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	0,9
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		0,4
11 <sup>h</sup>	Glidinhydrolysat (1)	
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		0,8
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		0,8
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		0,3
12 <sup>h</sup> 30'	0,5 g Glutaminsäure in 8 ccm Aq. (10)	
12 <sup>h</sup> 30'—1		1,2
1 —1 <sup>h</sup> 30'		0,5
1 <sup>h</sup> 30'—2 <sup>h</sup>		0,3

## 16. Hund II.

Zeit.		Magensaftmenge.
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'	} nüchtern	1,9 ccm
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		
12 <sup>h</sup>	Fischhydrolysat (9)	
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		1,2
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>		1,1

## 17. Hund III (nach Heidenhain operiert).

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> 30'—10 <sup>h</sup>	} nüchtern	0,8
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'		0,9

## 17 Hund III (Fortsetzung).

Zeit.		Magensaftmenge.
10 <sup>h</sup> 30'	0,5 g Glutaminsäure (10) in Aq.	
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		1,6
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		0,7
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		0,4
12 <sup>h</sup>	Glidinhydrolysat (1)	
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		0,6
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>		0,4

## 18. Hund III.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> —9 <sup>h</sup> 30'		0,9
9 <sup>h</sup> 30'—10 <sup>h</sup>	} nüchtern	1,2
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'		0,9
10 <sup>h</sup> 30'	Glidinhydrolysat (1a) (80 Std. gekocht)	
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		2,5
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		3,8
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		1,1
12 <sup>h</sup>	1 g glutaminsaures Chlorhydrat in Aq. gelöst	
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		1,8
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>		1,5
1 <sup>h</sup> —1 <sup>h</sup> 30'		0,7

## 19. Hund III.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> —9 <sup>h</sup> 30'		
9 <sup>h</sup> 30'—10 <sup>h</sup>	} nüchtern	
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'		1,8 ccm
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		
11 <sup>h</sup>	1 g Glutaminsäure (10) in Aq. gelöst.	
11 <sup>h</sup> —11 <sup>h</sup> 30'		0,7
11 <sup>h</sup> 30'—12 <sup>h</sup>		0,5
12 <sup>h</sup> —12 <sup>h</sup> 30'		0,8
12 <sup>h</sup> 30'—1 <sup>h</sup>		0,3
1 <sup>h</sup>	Glidinhydrolysat (1)	
1 <sup>h</sup> —1 <sup>h</sup> 30'		0,8
1 <sup>h</sup> 30'—2		1,9
2 <sup>h</sup> —2 <sup>h</sup> 30'		2,6
2 <sup>h</sup> 30'—3 <sup>h</sup>		1,2

## Anhang zur Gruppe C.

## 20. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup> —9 <sup>h</sup> 30'		0,5
9 <sup>h</sup> 30'—10 <sup>h</sup>	} nüchtern	0,6
10 <sup>h</sup> —10 <sup>h</sup> 30'		0,6
10 <sup>h</sup> 30'—11 <sup>h</sup>		0,5

## 20. Hund I (Fortsetzung).

11 <sup>h</sup>	Würzepaste (14) (6,0 g in H <sub>2</sub> O gelöst)	
11 <sup>h</sup>	—11 <sup>h</sup> 30'	2,6
11 <sup>h</sup> 30'	—12 <sup>h</sup>	2,9
12 <sup>h</sup>	—12 <sup>h</sup> 30	1,4
12 <sup>h</sup> 30'	—1 <sup>h</sup>	0,5
1 <sup>h</sup>	Erepton (13)	
1 <sup>h</sup>	—1 <sup>h</sup> 30'	2,1
1 <sup>h</sup> 30'	—2 <sup>h</sup>	1,8
2 <sup>h</sup>	—2 <sup>h</sup> 30'	1,5

7,4 ccm

5,4 ccm

## 21. Hund I.

Zeit.		Magensaftmenge.
9 <sup>h</sup>	—9 <sup>h</sup> 30'	0,9
9 <sup>h</sup> 30'	—10 <sup>h</sup>	0,9
	nüchtern	1,8 ccm
10 <sup>h</sup>	Spinathydrolysat (12) (enthaltend 3,5 g NaCl)	
10 <sup>h</sup>	—10 <sup>h</sup> 30'	5,9
10 <sup>h</sup> 30'	—11 <sup>h</sup>	16,4
11 <sup>h</sup>	—11 <sup>h</sup> 30'	15,6
11 <sup>h</sup> 30'	—12 <sup>h</sup>	18,3
12 <sup>h</sup>	—12 <sup>h</sup> 30'	3,0

59,2 ccm

Resultat: Nach der subcutanen Zufuhr lassen die Hydrolysate von Weizen, gekeimtem Weizen, Casein, autolysierter Leber, Heu und Fisch, keine Secretinwirkung erkennen. Das Hydrolysat von Glidin enthält vielleicht Spuren von Secretin; jedenfalls waren hier die Versuche nicht ganz eindeutig negativ. Glutaminsäure und glutaminsaures Chlorhydrat hatten keine Secretinwirkung. Bei den Hydrolysaten von Erepton, Maggischer Würzepaste und Spinat war dieselbe deutlich; weitaus am stärksten war dieselbe bei dem Spinathydrolysat.

## Schluß.

Aus allen im vorstehenden mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß die nach der angegebenen Methode durch Salzsäurehydrolyse bei 100° C aus verschiedenen eiweißhaltigen Rohprodukten gewonnenen Aminosäurengemische in der Regel keine Secretinwirkung auf die Magendrüsen erkennen lassen. Gleiches gilt auch für alle bislang von Ehrmann und mir geprüften reinen Aminosäuren. Nur ausnahmsweise trifft man Aminosäurengemische an, die Secretinwirkung besitzen. Diese Erfahrungen machen es wahrscheinlich, daß die Träger der Secretin-

\*) Bei dem Kontrollversuch, bei dem allein 4,0 g NaCl subcutan injiziert wurden, gelangten nur 1,8 ccm Magensaft zur Absonderung.

wirkung, die gelegentlich bei Aminosäurengemischen (Erepton, Spinat, Würzenpaste) beobachtet wird, nicht solche Aminosäuren sind, die bei dem nach der genannten Methode sich vollziehenden Abbau auftreten, sondern daß die beobachteten Secretinwirkungen entweder darauf beruhen, daß durch Besonderheiten des angewandten Spaltungsverfahrens (Bickel) secretinartige Stoffe erzeugt werden, oder daß die Muttersubstanzen von vornherein Secretinstoffe enthalten, die nur bei der Hydrolyse in Freiheit gesetzt werden. Jedenfalls ist der Secretincharakter keine allgemeine Eigenschaft der Aminosäuren.

Ferner ergibt sich, daß nach der intragastralen Zufuhr von Secretinsubstanzen nicht alle Secretinsubstanzen in gleichmäßiger Weise resorbiert und auf dem Weg über die Blutbahn in wirksamer Form den Magendrüssen zugeführt werden können. Das in der Würzenpaste enthaltene Secretin scheint resorbiert und sofort dem ganzen Kreislauf in größerem Umfange mitgeteilt zu werden, das im Spinathydrolysat enthaltene Secretin dagegen wird entweder überhaupt nicht resorbiert, oder, wie K. Djenab<sup>6)</sup> annimmt, resorbiert, aber in der Leber weitgehend zurückgehalten, endlich besteht die dritte Möglichkeit, daß es bei der Magen-Darmpassage resorbiert und in unwirksamer Form in den Kreislauf gelangt.

Endlich machen meine Versuche es wahrscheinlich, daß die Secretinwirkung nicht an einen einzigen chemisch einheitlichen Körper gebunden ist, sondern daß verschiedene Körper Secretinwirkung haben können.

---

#### Literatur.

<sup>1)</sup> Ehrmann, Physiologische und klinische Untersuchungen über die Magensaftsekretion. Bickels Internat. Beiträge z. Pathol. u. Therap. der Ernährungsstörungen **3**, 382. 1912. — <sup>2)</sup> Eisenhardt, Über die hämatogene Anregung der Magensaftsekretion durch verschiedene Bestandteile der Nahrung. Bickels Internat. Beitr. z. Pathol. u. Therap. der Ernährungsstörungen **2**, 206. 1911. — <sup>3)</sup> A. Bickel, Ein neues Pflanzensecretin. Berl. klin. Wochenschr. 1917, S. 74; derselbe, Über Sekretine und Vitamine. Ebenda S. 552. — <sup>4)</sup> A. Bickel, Über die Wirkung der Aminosäuren auf die Magensaftsecretion. Bickels Internat. Beitr. z. Pathol. u. Therap. der Ernährungsstörungen **5**, S. 75. — <sup>5)</sup> Rheinboldt, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Gewürze auf die Magensaftbildung. Zeitschr. f. phys. u. diät. Therapie 1906. — <sup>6)</sup> K. Djenab, Berl. klin. Wochenschr. 1917, S. 624.

---

## Zur Chemie der Polysaccharide.

Reindarstellung von Polysacchariden. — Die Jodreaktion. — Die Wirkungsweise der diastatischen Fermente und die Dextrinstufe der Polysaccharide.

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chem. Lab. der med. Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 3. Mai 1920.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die bisherigen Methoden für die Reindarstellung der Polysaccharide sind teils unbefriedigend, weil sie keine wirklich reinen Präparate liefern, teils umständlich und unzuweckmäßig. Viele, namentlich Stärkepräparate, sind N-haltig, wobei nicht selten ein Gehalt von 1% N (entsprechend etwa 6% Eiweiß) gefunden wird. Am reinsten wurde bisher das Glykogen dargestellt, weil in diesem Falle die besonderen chemischen Eigenschaften des Stoffes dem Untersucher eine geeignete Darstellungsweise förmlich aufdrängten. Bei den übrigen Polysacchariden wurde hingegen in der Regel nicht genügend beachtet, daß dieselben infolge ihrer Entstehung inmitten eines eiweißreichen Mediums Eiweißkörper (und zwar in nicht zu vernachlässigender Menge) eingeschlossen enthalten. Wir möchten daher im folgenden ein Verfahren beschreiben, welches gestattet, auf relativ einfachem Wege zu wirklich reinen Stoffen zu gelangen. Wir haben auch mit derartigen Präparaten die wichtigsten chemischen Reaktionen ausgeführt und werden auf Grund der hierbei festgestellten Eigenschaften eine Einteilung derselben versuchen; hierauf soll im zweiten Teil dieser Mitteilung näher eingegangen werden.

Für die Isolierungsmöglichkeit der Polysaccharide (P. S.) ist von großer Wichtigkeit, daß sie, wie bekannt, gegen die Ein-

wirkung von Alkali sehr widerstandsfähig sind, während die sie begleitenden oder in die Stärkekörner miteingebauten Stoffe gegen Alkali, namentlich in der Hitze sehr empfindlich sind (Eiweiß, Lipide usw.). Es ist deshalb möglich, diese Verunreinigungen durch alkalische Aufspaltung in ihre tiefen Bausteine zu zerlegen, während die Polysaccharide unverseht zurückbleiben. Es handelte sich bloß darum, die bei dieser Behandlung entstehenden Spaltstücke der Begleitstoffe auf geeignete Weise von den Polysacchariden abzutrennen. Nach den in früheren Arbeiten von uns entwickelten Vorstellungen ausgedrückt, kommt es darauf an, einen Lösungsvermittler zu finden, welcher diese Verunreinigungen und das Alkali zu entfernen gestattet, zu den Polysacchariden dagegen keine größere Affinität besitzt, so daß dieselben durch ihn aus ihren kolloiden Lösungen ausgefällt werden.

Dieser Anforderung entspricht der auch bei der Reindarstellung der Eiweißkörper so gut bewährte 90proz. Alkohol. Unsere Methode läßt sich somit folgendermaßen zusammenfassen:

Aufspaltung aller Verunreinigungen in tiefe, alkohollösliche Bausteine durch Behandlung mit warmer Lauge. Ausfällung der intakt gebliebenen Polysaccharide durch Versetzen mit 90proz. Alkohol, Wiederauflösen derselben in Wasser, nochmalige Fällung usw. Es war zu erwarten, daß auf diese Weise eine vollständige Befreiung der betreffenden Stoffe von allen Beimengungen erreichbar sein würde. In der Tat ist es uns gelungen, die verschiedensten Polysaccharide stickstofffrei zu erhalten und bis auf Spuren von allen organischen Bestandteilen (Salzen) zu befreien<sup>1)</sup>. Wir geben im folgenden einige Beispiele für die Darstellung solcher Polysaccharid-Präparate und werden hierbei noch auf verschiedene Einzelheiten näher eingehen.

Es muß allerdings hervorgehoben werden, daß dieses Verfahren dann unzulänglich ist, wenn es sich um die Isolierung niederer (jod-negativer) PS aus eiweißreichem Medium handelt. Es entstehen dann bei der Laugenbehandlung große Mengen von Abbauprodukten, die, wie wir weiter unten näher zeigen werden, als Lösungsvermittler des PS auftreten und dessen Fällung durch Alkohol verhindern. Für die Darstellung solcher Körper muß daher ein etwas anderes Verfahren (vorherige Entfernung möglichst

<sup>1)</sup> Reis und Kartoffelstärke sowie Glykogen waren ganz aschefrei. Die aus Hefe gewonnenen Präparate enthielten Spuren von Stickstoff, ebenso unsere Gerstenstärke.

vieler von diesen Lösungsvermittlern, weniger starke Aufspaltung des Eiweißes usw.) angewandt werden, worauf wir in einer späteren Mitteilung eingehen möchten.

#### Reindarstellung von Stärkearten.

Besteht das Ausgangsmaterial aus frischen, wasserhaltigen Pflanzenteilen (z. B. Kartoffel- oder Inulinknollen usw.), so werden dieselben durch die Hackmaschine getrieben, der erhaltene Brei wird mit 33% NaOH am Wasserbade erhitzt, wobei so lange Lauge zugesetzt wird, bis der größte Teil der Masse eine homogene, durchscheinende, schleimige Beschaffenheit angenommen hat. Ebenso kann trockenes Mehl nach Anrühren mit etwas Wasser verarbeitet werden. Hierauf wird scharf zentrifugiert, um die in der Masse suspendierten, unlöslichen Bestandteile zu entfernen. Die geklärte, zähe Flüssigkeit wird abgegossen und in einer Porzellanschale unter Umrühren auf dem Wasserbade erwärmt, dann mit kleinen Mengen 90 proz. Alkohol so lange versetzt, bis kein weiterer Niederschlag mehr entsteht. Im (wasserhaltigen) alkalischen Alkohol bleibt ein großer Teil der Eiweißkörper, Lipide usw. gelöst, der Alkohol ist daher dunkelbraun gefärbt. Man läßt den Niederschlag absetzen und löst den meist zähen klebrigen Rückstand in möglichst wenig Wasser auf dem Wasserbade auf, bis wieder eine klare sirupöse Flüssigkeit resultiert. Die Alkoholfällung und die Lösung in Wasser werden hierauf noch zweimal wiederholt, worauf mit verdünnter HCl genau neutralisiert und hierauf neuerlich mit Alkohol bis zur völligen Fällung versetzt wird. Die Fällung wird hierauf noch zweimal wiederholt, um alle Salzreste zu entfernen. Die letzten Waschungen müssen bereits nahezu klare Alkoholabgüsse ergeben. Die Niederschläge werden dagegen mit jeder Fällung heller, an Stelle der ursprünglich zähen, klebrigen Konsistenz tritt eine mehr flockige, schließlich körnige, zugleich wird die Farbe des Materials rein weiß (nur in manchen Fällen bleibt das Präparat grau gefärbt). Schließlich wird nach dem Abdampfen des Alkohols pulverisiert, was häufig nur mit großer Mühe gelingt.

Interessant ist die Löslichkeit derartiger Stärkepräparate. Werden dieselben nach dem Verdampfen des Alkohols grob zerkleinert und einige Stückchen davon in Wasser geworfen, so sind sie darin zunächst gut löslich, die einzelnen Körnchen werden am Rand rasch vollständig durchsichtig, man sieht, wie die Stärke abschwimmt und in Lösung geht. Aber schon nach kurzer Zeit macht dieser Auflösungsprozeß halt und die durchsichtig gewordenen Partien werden wieder trüb. Zugleich wird auch die vorher klare Lösung getrübt von grob dispersen (zusammengelagerten) Stärketeilchen. Die durch Alkoholfällung gewonnene Stärke hatte noch Alkohol an ihren Oberflächen festgehalten und dieser hatte als Lösungsvermittler für die Stärke gedient. Sehr bald wird aber der Alkohol vom Wasser, zu welchem er viel größere Affinitäten

als zur Stärke hat, gebunden und dadurch der Stärke entzogen. Diese verliert damit ihre Beziehung zum Wasser und fällt aus. Wirklich reine, d. h. vollkommen alkoholfreie Stärke besitzt nur so geringe Nebenaffinitäten, daß sie in Wasser nicht kolloid verteilbar ist; erst durch Erhitzen in Wasser ist eine grobdisperse kolloide Verteilung möglich (Verkleisterung), weil jetzt die Affinitäten zu Wasser (wie bei allen anderen löslichen Stoffen) etwas größer werden. Die Teilchen gehen dadurch in den gequollenen Zustand über, können aber zum größten Teil wieder abzentrifugiert werden.

### Reindarstellung von Hefe-Polysacchariden.

Nach den bisherigen Angaben soll in der Hefe neben einem Glykogen eine Art Zellulose vorkommen, ein Polysaccharid, von welchem behauptet wird, daß es keine Jodreaktion gibt und in kochendem Wasser nur schwer quillt. Bei Verarbeitung von Preßhefe mit Hilfe der beschriebenen Methode haben wir zuerst eine Fraktion erhalten, welche nach Erhitzen der Hefe mit Lauge sehr leicht kolloid verteilbar war und ähnlich wie Dextrin mit Alkohol ausfiel. Eine zweite Fraktion blieb bei der Laugenbehandlung gröber dispers und wurde auf der Zentrifuge von der ersten getrennt. Dieselbe wurde hierauf wiederholt mit Alkali ausgekocht und mit Alkohol immer wieder gewaschen, schließlich neutralisiert und noch einmal gefällt und weiter gereinigt. So wurde eine Art Zellulose erhalten, auf deren Eigenschaften wir unten noch näher eingehen.

### Darstellung von Zellulose.

Wir gingen hier in Anlehnung an das bekannte Viskoseverfahren vor: gereinigte Watte wird mit dem dreifachen Gewicht NaOH (in Stangen) unter Wasserzusatz verrieben und CS<sub>2</sub> in kleinen Mengen zugesetzt. Man reibt die Masse einige Minuten kräftig, sie wird hierbei allmählich weich und klebrig, die Fasern werden undeutlich, gleichzeitig tritt hier (wie bei allen anderen Polysacchariden nach Laugenzusatz) eine Gelbfärbung auf. Es wird immer etwas Wasser und kleine Mengen CS<sub>2</sub> unter starkem Reiben zugesetzt, bis eine dickliche Flüssigkeit resultiert, die beim Stehen dunkel orangerote Farbe annimmt. Man läßt über Nacht stehen, zentrifugiert dann und fällt den erhaltenen viskösen Abguß mit 90% Alkohol. Es tritt eine massive Fällung ein, die in Wasser nur zum kleinen Teil wieder löslich ist. Der größere Teil der Zellulose geht in eine sulzige, grünliche Masse über. Diese wird mit 90% Alkohol versetzt, noch einmal ausgefällt, dann mit Wasser auf dem Wasserbade erhitzt und durch Glaswolle filtriert. Der Filtrückstand wird neuerdings mit Alkali in der Wärme digeriert und abermals mit Alkohol behandelt. Ist dieser jetzt farblos, so kann man den sulzigen Rückstand mit verdünnter HCl neutralisieren und abermals mit Alkohol behandeln. Solange die Masse noch gelblich gefärbt ist, ist eine



Fortsetzung der Alkalibehandlung angezeigt. Das mit Alkohol und Äther getrocknete Präparat bildet eine weiße flockige Masse, die pulverisierbar ist.

### Darstellung von reinem Agar.

Agar wird mit Wasser im Autoklav gelöst, dann mit Lauge versetzt, die dunkelbraungelbe Masse auf dem Wasserbade erwärmt; es geht nicht alles in Lösung, daher wird zentrifugiert, hierauf mit Alkohol gefällt und wie sonst weiterbehandelt. Das Präparat ist eine harte, etwas zähe, bräunliche Masse, die nicht gut pulverisierbar ist

### Glykogendarstellung.

Möglichst frisch zerriebene Leber (beste Ausbeute aus Meerschweinchen- und Kaninchenleber nach Rübenfütterung) wird mit 33% NaOH auf dem Wasserbad etwa 1 Std. erhitzt, wobei eine klare, dünnflüssige Lösung erhalten wird. Hierauf wird durch Glaswolle heiß filtriert, dann mit Alkohol auf dem Wasserbad in der Hitze gefällt, wieder in wenig Wasser gelöst, abermals gefällt, die dritte Lösung mit HCl neutralisiert, hierauf noch zweimal gefällt. Man erhält schließlich nach dem Trocknen im Exsiccator eine glasige Masse, die pulverisiert ein schneeweißes Präparat liefert.

### Darstellung von Inulin.

Darstellung gelang nur schlecht, weil Jahreszeit (Februar) schon zu vorgeschritten. Das Präparat blieb lange durch Lösungsvermittler unreinigt, die wässrige Lösung war immer noch sirupös und braun. Nach Behandlung mit etwas körniger Tierkohle und Filtrieren durch ein aschefreies Filter konnte schließlich ein ziemlich reines Präparat erhalten werden, allerdings nur in sehr geringer Ausbeute und immer noch braun gefärbt.

Gummi arabicum, nach der gleichen Methode behandelt, liefert ein rein weißes wasserlösliches Pulver.

Wir wollen im folgenden die wesentlichsten Eigenschaften der verschiedenen Polysaccharid-Präparate, die wir nach dem obigen Verfahren erhalten haben, besprechen, wobei hauptsächlich berücksichtigt werden soll: 1. Das Verhalten gegenüber Wasser. 2. Die Jodreaktion. 3. Aufspaltbarkeit. 4. Verhalten gegenüber einigen Fällungsmitteln. 5. Die enzymatische Aufspaltung.

#### 1. Verhalten gegenüber Wasser.

Die Zellulose ist dadurch charakterisiert, daß sie nur mit Hilfe einiger ganz bestimmter Lösungsvermittler (Kupferoxyd-amoniak, Viskoseverfahren, als Acetat) zur kolloiden Verteilung gebracht werden kann. Aus solchen Lösungen rein dargestellte Zellulose ist in Wasser auch in der Hitze unlöslich. Nur mit Alkali quillt die Zellulose in der Hitze auf, ohne sich kolloid zu verteilen. Von Interesse ist, daß alle diese Lösungsvermittler nur eine relativ

schwache Affinität zu den Zelluloseteilchen besitzen, so daß sie leicht von denselben entfernt werden können. Auch der Alkohol haftet nicht merklich an Zellulose.

Wir möchten die Stoffe, welche sich ähnlich wie das beschriebene Präparat verhalten, als Zellulosegruppe zusammenfassen. Ihr schließt sich eine zweite, die Stärkearten umfassende Gruppe, an. Reine Stärke verschiedener Herkunft ist in Wasser in der Kälte ebenfalls unlöslich, in der Hitze erlangt sie aber bereits eine gewisse Beziehung zum Wasser, wird kolloid verteilbar, fällt allerdings beim Erkalten zum großen Teil wieder aus. Mit Alkali und Wasser erhitzt, läßt sich dagegen eine ziemlich gute Lösung erzielen, aus welcher die Stärke mit Alkohol fällbar ist. Die so erhaltenen Präparate enthalten, wie oben bereits erwähnt, auch nach dem Trocknen noch Alkohol an den Oberflächen der Teilchen gebunden und sind daher vorübergehend wasserlöslich. Wir sehen somit in dieser Gruppe im Gegensatz zur ersten, daß die Teilchen bereits relativ mehr Nebenaaffinitäten im Vergleich zur Größe ihrer Oberfläche besitzen und daher mit Wasser und auch mit Alkohol, wenn auch nur schwach, reagieren.

2. Übergangsguppe zu den Dextrinen („Dextrinoide“).

Hierher gehören Polysaccharide, die in der Hitze durch Wasser in kolloide Verteilung überführbar sind und auch nach dem Erkalten derartiger wässriger Lösungen noch eine gewisse Beziehung zum Wasser bewahren. Ein relativ großer Teil des Wassers bleibt an die kolloide Oberfläche gebunden, so daß eine gelatinöse oder sulzige Masse entsteht. Ein bekanntes Beispiel ist der Agar.

### 3. Dextrine.

Polysaccharide, die schon in kaltem Wasser löslich sind, deren Teilchen aber noch so groß sind, daß die Lösungen noch kolloide Eigenschaften zeigen (Tyndall-Kegel nachweisbar, gehen aber ähnlich wie Peptone durch Abderhalden-Hülsen). Hierher gehört das Glykogen, ferner unser Inulinpräparat, sowie die gewöhnlichen Dextrine aus verschiedenen Polysacchariden.

## II. Die Jodreaktion.

Neben der Wasserlöslichkeit ist es namentlich das Verhalten gegenüber Jod, welches die eben aufgestellten Gruppen

zu charakterisieren gestattet. Bevor wir jedoch auf diesbezügliche Einzelheiten eintreten, müssen ein paar Worte über das Wesen der Jodreaktion selbst gesagt werden. Wir gehen hierbei von der am meisten untersuchten Jod-Stärkereaktion aus.

Während früher vielfach eine Verbindung von Jod und Stärke als Ursache der Blaufärbung angesehen wurde, ist besonders Harrison zuerst dafür eingetreten, daß dieselbe bloß mit dem physikalisch-chemischen Zustande des Jods zusammenhänge<sup>1)</sup>, eine Ansicht, welche in den letzten Jahren immer mehr Anhänger gefunden hat<sup>2)</sup>. Harrison kam zur Annahme, daß das Jod in der Stärkelösung kolloid verteilt sei und die Stärke ihm hierbei als Schutzkolloid diene. Er führt als Stütze dieser Ansicht die Tatsache an, daß die Blaufärbung in der Hitze verschwindet, von gewissen Mischungsverhältnissen beider Stoffe abhängig sei (was namentlich beim Erhitzen deutlich hervortritt), daß Salze (mit Ausnahme der Jod lösenden) die Blaufärbung begünstigen, während Alkohol umgekehrt wirkt usw.

Wir möchten diesen Beobachtungen einige weitere für diese Frage wichtige anfügen und zugleich einen unseres Erachtens nicht unwichtigen Punkt in der Auffassung Harrisons (und mehrerer späterer Autoren) richtigstellen.

Wenn man ein mit Stärke imprägniertes Filtrierpapier mit einer absolut alkoholischen Jodlösung benetzt, so tritt nur eine Rotbraunfärbung des Papiers ein, identisch mit jener der Jodlösung selbst. Die Stärke hat mit dem Jod nicht reagiert. Sowie wir dagegen mit Wasser anfeuchten, wird das Papier blau. Es ist somit notwendig, daß das Jod in wässrigem Milieu auf die Stärke einwirke, ein Umstand, der bereits auf die Wichtigkeit phys.-chemischer Momente bei dieser Reaktion hinweist. Das blaugefärbte Papier oder in Wasser suspendierte und mit Jod blau gefärbte, gewöhnliche Stärke können nun jederzeit durch bloße jodlösende Mittel wieder entfärbt werden (Zusatz von Alkohol, Xylol usw.), ein deutlicher Beweis für die Richtigkeit der Harrisonschen Behauptung, daß hier keine wirkliche Verbindung vorliegt. Hingegen ist die von diesem Forscher gemachte Annahme, daß das Jod hier für sich kolloid verteilt ist und die Stärke bloß die Aufgabe hat, als Schutzkolloid seine Ausfällung

<sup>1)</sup> Kolloid-Ztschr. 9, 5.

<sup>2)</sup> Wir verweisen namentlich auf die eingehende Bearbeitung dieser Frage durch W. Ostwald, Kolloid. chem. Beihefte II. S. 457, worin sich dieser Autor allerdings der Harrisonschen Ansicht (Stärke als Schutzkolloid für das Jod) anschließt. Hingegen hat sich L. Berczeller (diese Zeitschr. 84) für die Adsorptionnatur der Jod-Stärkeverbindung ausgesprochen.

zu verhindern, nicht haltbar. Sie träfe ja nur für den Fall zu, daß wir eine kolloide Verteilung von Jod hervorgerufen haben; dies mag z. B. dann eintreten, wenn eine alkoholische Jodlösung in die wässrige Stärkelösung eingebracht wird, vielleicht auch bei stärkerer Verdünnung einer Jod-JK-Lösung usw. Hier könnte in der Tat eine schuttkolloide Wirkung der Stärke angenommen werden, wenn sich auch sofort die Frage erheben muß, warum nicht andere als gute Schutzkolloide bekannte Körper, wie z. B. kolloid verteiltes Eiweiß, denselben Dienst tun können? Wir können aber eine Jod - Stärkereaktion auch unter Bedingungen hervorrufen, wo eine vorherige kolloide Verteilung des Jodes nicht besteht. So in folgendem, einfachem Experiment: In eine nicht zu dünne Lösung von Stärke in Wasser werden nach dem Erkalten einige Plättchen krystallisierten Jodes eingetragen. Man sieht nun, wie beim leichten Bewegen der Flüssigkeit fortwährend blaue Wolken von Jodstärke von den Krystalloberflächen weg in die Flüssigkeit abgehen. Dieser Versuch zeigt, daß die Stärke das Jod von den Krystallflächen weg löst, es an sich zieht (während Jodkrystalle in reinem (kalten) Wasser ganz ungelöst liegen bleiben. Unmöglich kann hier die Stärke zunächst eine kolloide Verteilung von Jod bewirkt haben und dann als Schutzkolloid für dasselbe funktionieren<sup>1)</sup>). Nur die Annahme einer direkten Verbindung der Stärke mit dem Jod vermag diese Erscheinung zu erklären, eine Verbindung, die freilich nicht eine auf Hauptaffinitäten beruhende, sondern eine bloße „Adsorptionsbindung“ ist, die auf Nebenaftinitäten beider Körper zurückzuführen ist. (Der Versuch läßt sich noch einfacher in der Weise anstellen, daß ein Jodkrystall auf angefeuchtetes, kleisterhaltiges Filtrierpapier gelegt wird; die Umgebung desselben wird sofort blau.)

Es liegt somit nicht eine kolloide Verteilung von Jod zwischen den Stärketeilchen, sondern eine Adsorption des Jods an den Stärkeoberflächen vor. Es muß angenommen werden, daß auch hier, analog wie bei den kolloiden Metallen, der jeweilige Dispersitätsgrad des Stoffes, an welchem das Jod adsorbiert ist, für die auftretende Färbung entscheidend ist, und daß der blauen Farbe („Jodstärke“) eine relativ gröber disperse,

<sup>1)</sup> Wird anstatt Stärke Dextrin gelöst und Jod Krystalle zugegeben, so erhält man auf diese Weise eine braunrote Färbung!

der gelben (z. B. J-JK-Lösung) eine weit feinere, molekular disperse Verteilung des Jodes entspricht, während die violettbraunen und rotbraunen Zwischentöne den verschiedenen Zwischenstufen der Aufteilung zukommen. Weitere Beweise für die Richtigkeit dieser Auffassung werden wir noch unten kennenlernen. Die Jodreaktion gestattet uns daher, einen Schluß auf den Dispersitätsgrad der Polysaccharid-teilchen, und scheint uns deshalb für eine Einteilung der Polysaccharide gut verwendbar zu sein.

Daß Stärke ohne Wasser mit Jod nicht blau gefärbt wird, zeigt, daß die Bindung des Jods an die Stärke nicht direkt erfolgt, sondern daß zunächst Wasser adsorbiert werden muß und erst an die hierdurch schon teilweise abgesättigten Nebenaflinitäten der O-Atome (der Stärke oder des Wassers) die Jodmoleküle sich anlagern. Das Verschwinden der Jodreaktion in der Hitze beruht darauf, daß dann sowohl das Jod wie die Stärke größere Affinitäten zu Wasser erlangen und daher ihre gegenseitige Bindung aufgeben.

Wie verhalten sich nun die einzelnen Präparate gegenüber Jod? Wenn von der Zellulose einige gröbere Körnchen in etwas Wasser gebracht und  $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung zugesetzt wird, so nehmen dieselben rasch eine schwarzblaue Farbe an; sobald man die Jodlösung durch Wasser ersetzt, geht das Jod bald wieder in das Wasser über, die Körnchen entfärben sich. Dasselbe geschieht noch schneller in der Hitze; das Jod haftet somit nur sehr schwach an der Zellulose, wird aber durch dieselbe aus seiner Bindung an das JK herausgezogen. — Ähnlich verhält sich die aus Hefe gewonnene Cellulose, doch haftet hier das Jod noch etwas fester.

**Stärkegruppe:** Ungelöste Körnchen von reiner Stärke färben sich in Jod-JK-Lösung intensiv schwarz. Das Jod haftet hier sehr fest, da es mit Wasser allein kaum und selbst mit Alkohol nur langsam wieder ablösbar ist. Erhitzt man und kühlt wieder ab, so nehmen die gequollenen Stärkepartikelchen jetzt eine schön violett-blaue, die kolloide Lösung die bekannte tiefblaue Farbe an.

**Dextrinoidgruppe:** Agarkörnchen in kaltem Wasser werden braunschwarz gefärbt. Wasser löst das Jod leicht wieder ab. Erhitzt quillt der Agar, beim Erkalten werden die Stücke dunkelblau, die Lösung rotbraun, ähnlich wie Dextrin. — Hefe-Polysaccharid verhält sich ähnlich, nach dem Erhitzen wird die Lösung rotbräunlich gefärbt.

**Dextringruppe:** Glykogen: Noch ungelöste Körnchen färben

Tabelle I.

Gruppe	Art des Polysaccharids	Löslichkeit in Wasser		Jodreaktion	Aufspaltbarkeit				H <sub>2</sub> O, 170°, Reduktion (Jod-R)	Ba(OH) <sub>2</sub>	Tannin
		kalt	heiß		H <sub>2</sub> O, 138°		H <sub>2</sub> O + Milchsäure, 138°				
					Jodreakt.	Reduktion Osazone	Jodreakt.	Reduktion			
I. Zellulosegr.	Zellulose	unlöslich	unlöslich	Körnchen werden schwarzblau	negativ	+	negativ	+			
	Hefe-Zellulose	"	"	"	"	schwach positiv	schwach bräunl.	± (schw. positiv)			
	Reisstärke	"	Kolloid löslich	ungelöst: schwarz, gelöst: blau	blau	—	braun	—	Spur (blau)	flockig gefällt	opalesz.
	Kartoffelstärke	"	"	"	"	—	braun	—	+	"	"
	Maisstärke	"	"	"	"	—	rotviolett	—	(blau)	"	"
II. Stärkegruppe.	Gerstenstärke	"	"	"	negativ	+++		+++			
	Agar	quillt etwas	Kolloid beim Erkalten gelatinös	Stücke: braunschw., gequollen: dunkelblau, gelöst: rotbraun rotbraun	braun	+++ verharzt		+++		trüb, sp. feine Fällung	negativ
	Hefe-Dextrin				bläulich dann braun	—	braun	—			
III. Dextrinolde.	Glykogen	Kolloid leicht löslich		braunrot	braunrot	—	rotbraun	+	Spur (braun)	negativ	grob, flockig gefällt
	Inulin	löslich		braungrün braun	gelbbraun	—				opalesz.	negativ
IV. Dextrine.	andere Dextrine	löslich		braun	—					"	"

sich in J-JK-Lösung sofort braunrot, gehen bald in Lösung, die Lösung ist je nach der Konzentration des Glykogens rot bis braun gefärbt. — Inulin: Die wässrige Lösung gibt mit  $\frac{1}{10}$ -Jodlösung eine braungüne Färbung. — Die übrigen Dextrinlösungen reagieren bekanntlich mit Braunfärbung.

### III. Aufspaltbarkeit.

Um die Hydrolysierbarkeit der verschiedenen Polysaccharide zu untersuchen, wurden 2% Aufschwemmungen in Wasser 4 Stunden bei 138° (ca. 3 Atmosphären) gehalten. Die Lösungen wurden hierauf auf ihre Jodreaktion sowie auf die Anwesenheit reduzierender Stoffe (Nylandersche Probe) untersucht. Dort, wo die letztere positiv ausfiel, wurde die Natur der abgespaltenen Zucker durch die Osazonprobe festgestellt.

1. Gruppe. Die Zellulose wurde mit Wasser zum Teil aufgespalten: Nylander positiv; die wässrige Lösung gab aber mit Jod keine Färbung. Es waren somit bloß niedere Saccharide von der Zellulose abgespalten worden. Die Phenylhydrazinprobe ergab dem Maltoseosazon ähnliche Krystalle.

2. Die Stärkearten waren zum großen Teil nicht tiefer verändert (Nylander negativ, blaue Jodreaktion). Auffallend war aber die starke und tiefe Aufspaltung der aus Gerste gewonnenen Stärke: Die Lösung gab viel Glukosazon, dagegen mit Jod keine Färbung mehr.

3. Agar: Reduktionsprobe stark positiv, mit Jod Braunfärbung. Mit Phenyl-Hydrazin wurde nur eine amorphe Fällung erzielt, in der Kälte eine braun-schwarze, harzige Fällung. — Hefe-Polysaccharide: mit Jod zuerst etwas bläuliche, dann braune Färbung.

4. Glykogen: Keine Reduktion! Jodreaktion braunrot, also anscheinend unverändert. — Inulin ebenfalls unverändert.

Einzelne Präparate wurden auch bei 5 Atmosphären (3 Stunden) auf Hydrolysierbarkeit untersucht. Hier war die Reduktionsprobe bei Reissetärke und Glykogen ganz schwach positiv, Kartoffelstärke war jetzt deutlich aufgespalten.

Wir haben ferner dem gespannten Wasserdampf noch eine schwache Säurewirkung hinzugesellt, indem zu je 50 cem derselben Aufschwemmungen je 1 Tropfen konz. Milchsäure zugesetzt und abermals 3 Stunden bei 138°

gehalten wurde. Nunmehr war die Jodreaktion braun bei Kartoffelstärke, gelbbraun bei Reisstärke, in beiden Fällen aber die Nylander'sche Probe noch immer negativ. Diese Stärkearten waren somit wohl in Dextrin aufgespalten, ohne daß Zucker entstanden wäre. Mais war noch weniger verändert: Jodreaktion rotviolett, Nylander negativ. Glykogen gab noch rotbraune Jodfärbung, zeigte aber deutliche Reduktion. Das Verhalten der anderen Stoffe war ähnlich dem auch ohne Säure erhaltenen Befund und ist im einzelnen aus der Tabelle erkennbar.

Wir sehen somit, daß bei der Zellulosegruppe nur wenige, tiefe Bausteine abgespalten wurden, daß die Stärken, mit Ausnahme der sehr labilen Gerstenstärke, sehr resistent sind und erst bei schwach saurer Hydrolyse in Dextrin übergeführt werden. Der Agar wurde stark in reduzierende Stoffe aufgespalten, während das Glykogen sich als unerwartet resistent erwies.

#### IV. Verschiedene Fällungsmittel [ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ und Tannin].

Hier können nur die wenigstens kolloid löslichen Präparate untersucht werden. Bekannt ist die gute Fällbarkeit von Stärkelösungen durch Bariumhydroxyd; von den übrigen Präparaten reagierte nur Inulin mit schwacher Opalescenz. Das Verhalten des Tannins ist ebenfalls aus der Tabelle erkennbar. Wir heben die ungemein starke Fällbarkeit des Glykogens durch diesen Körper hervor, die den Charakter einer spezifischen Reaktion trägt. Im Überschuß des Glykogens sowie in Alkohol ist dieser Niederschlag sehr leicht löslich. Jod-Jodkalium verstärkt die Fällung und färbt sie rostbraun.

#### Zur Theorie der Diastasewirkung.

Im Laufe unserer Versuche mit den verschiedenen gereinigten Polysaccharidpräparaten haben wir auch die Einwirkung von diastatischen Fermenten auf dieselben untersucht. Wenn man gereinigte Reisstärke unter Aufkochen in Wasser löst und dann mit einem Diastasepräparat versetzt im Brutschrank stehen läßt, so ist die Jodstärkereaktion nach 24 Stunden blau. Die wasserunlösliche Stärke wurde somit von der Diastase nicht deutlich angegriffen. Stellt man denselben Versuch mit Speichel anstatt mit reiner Diastase an, so zeigt sich am nächsten Tag die Jodreaktion zunächst wohl negativ; wenn man aber die Mischung nach der oben beschriebenen Methode behandelt, d. h. mit Alkali versetzt und



dann mit Alkohol ausfällt, so scheidet sich beim Erwärmen am Boden des Kölbchens eine gelbe, klebrige Masse ab, die nach Abgießen des Alkohols mit verdünnter HCl neutralisiert und gelöst und nochmals mit Alkohol gefällt einen weißen Bodensatz liefert. Dieser ist in Wasser löslich und gibt mit Jod eine intensiv blaue Reaktion. Die Stärke war also noch nicht tiefer verändert, ihre Jodreaktion war bloß verdeckt, vermutlich durch Adsorption von Eiweiß oder Eiweißabbauprodukten aus dem Speichel.

Dieser und ähnliche Befunde lassen Zweifel an der Zuverlässigkeit der Jodreaktion bei Anwesenheit von Eiweiß oder dessen Abbauprodukten aufkommen, was für unsere Frage um so wichtiger ist, als die meisten Diastasepräparate nicht frei von diesen Stoffen sind. Wir mußten uns deshalb nach einer besseren Nachweismethode für eine eventuelle Aufspaltung der Stärke umsehen. Das sicherste Zeichen einer solchen ist jedenfalls die Feststellung der betreffenden Spaltprodukte, in unserem Falle also von Zuckern. Um über das Auftreten von Mono- oder Di-Sacchariden Auskunft zu erhalten, darf aber bei solchen Versuchen nicht eine der meist verwendeten Reduktionsproben angewandt werden, weil sowohl die Methode nach Trommer oder Fehling wie nach Nylander auch mit anderen, den Zuckern fernstehenden Körpern Reduktion geben. So reagiert Harnsäure, Kreatinin und ähnliche nach Trommer und Fehling positiv. Aldehyde geben mit diesen und mit der Nylanderschen Probe positiven Ausfall usw. Einzig die Phenylhydrazinprobe nach E. Fischer kann für unsere Untersuchungen als brauchbar bezeichnet werden, da hierbei die Zucker in einer für sie vollkommen charakteristischen Weise nachgewiesen werden. Es fragt sich bloß, ob diese Reaktion fein genug ist, um auch sehr geringe Zuckermengen zu erkennen, speziell dann, wenn andere Stoffe wie Stärke oder Eiweiß zugegen sind? Unsere diesbezüglichen Versuche haben ergeben, daß es bei Verwendung der freien Base möglich ist, noch Zuckermengen nachzuweisen, die einem Gehalt von 0,005% oder 0,5 mg in 10 ccm entsprechen.

Treten wir, mit dieser Methode ausgerüstet, an die Frage nach der enzymatischen Aufspaltbarkeit der Stärke heran, so ergibt sich, daß auch bei Verwendung „guter“ Diastasepräparate eine

Zuckerbildung nicht nachweisbar ist. Wir haben weder mit den käuflichen oder aus physiologischen Laboratorien erhaltenen<sup>1)</sup>, noch mit einem aus Grünmalz nach A. Wroblewsky (Ber. 30, 31) selbst hergestellten Präparate, noch mit dem bekanntlich gut diastatisch wirkenden Speichel in sehr zahlreichen und unter verschiedenen Versuchsbedingungen angestellten Versuchen in irgend einem Falle eine erkennbare Zuckerbildung feststellen können. (Viele dieser Versuche werden von A. Bianchetti als Dissertationsarbeit veröffentlicht werden; daselbst wird auch über den Einfluß des Zusatzes von Salzen, Eiweißabbauprodukten usw. berichtet.)

Bei der Mehrzahl dieser Versuche wurde die von Wohlgemuth (diese Zeitschr. 9) vorgeschriebene und als die beste empfohlene Methode verwendet (Digerieren einer 10proz. Stärkelösung („lösliche“ Stärke Kahlbaum in Aqua dest.) in der Menge von 5 ccm mit absteigenden Mengen der Diastaselösung während 30—60 Min., bei 37—40°, vor und nach dem Aufenthalt im Wasserbade Eiskühlung). Für die Osazonbildung hat sich uns schließlich folgendes Verfahren als das empfindlichste bewährt: Zu je 1,0 Phenylhydrazin (fast farblose, in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrte, freie Base!) wird 2—3 ccm Eisessig und 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzugefügt. Es wird eine Stunde im Wasserbad gekocht und hierauf vorsichtig abgekühlt, wobei die büschelförmigen gelben Krystalle ausfallen. Um die evtl. störende Anwesenheit von Eiweiß zu vermeiden, wurde die mit Diastase digerierte Lösung zunächst mit dem 5—6fachen Volumen abs. Alkohols versetzt und zum Sieden erhitzt. Man erhält auf diese Weise ein Filtrat von ca. 80—85% Alkohol, in welchem aller evtl. vorhandener Zucker gelöst ist. Dieses wird zur Trockne eingedampft, der Trockenrückstand einige Minuten mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbade extrahiert (bis der Alkohol kräftig siedet). Man filtriert hierauf den Alkohol-Extrakt, dampft ihn nochmals ein und löst den so erhaltenen Rückstand in 10 ccm Wasser auf dem Wasserbade. Nachdem diese Lösung mit Phenylhydrazin und Eisessig eine Stunde im köchenden Wasserbade gestanden, wird sie sofort heiß filtriert, um etwa gebildete Verharzungsprodukte (die das Auskrystallisieren kleiner Osazonmengen stören würden) zu entfernen. Es gelingt auf diese Weise leicht, 1 und selbst noch  $\frac{1}{4}$  mg künstlich zugesetzten Zucker in Diastaselösungen (Speichel, Blut usw.) nachzuweisen. Hingegen ist es uns auch bei längerer Einwirkung der Diastasepräparate (z. B. 24 Stunden Brutschrank unter Toluol) nicht gelungen, eine Zuckerbildung festzustellen.

<sup>1)</sup> Für die gütige Überlassung mehrerer Präparate möchten wir Herrn Prof. E. Winterstein an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen. Ebenso sind wir Herrn Brauereidirektor H. Bibus für ein größeres Quantum Grünmalz zu großem Dank verpflichtet.

Wir stellen somit fest, daß niedere Spaltstücke bei der diastatischen Stärkeverdauung nicht auftreten und daß das Verschwinden der Jodreaktion noch nicht als Beweis einer Aufspaltung gelten kann<sup>1)</sup>. Worin beruht also die biologisch gewiß bedeutungsvolle Wirkung dieser „Enzyme“?

Hierüber gibt uns folgender grundlegende Versuch Auskunft: 50 ccm einer 3proz. Lösung von löslicher Stärke (Kahlbaum) werden mit 0,15 g Diastasepulver versetzt, das letztere mit einem Glasstab zur Lösung gebracht und, sobald dies geschehen ist, eine kleine Probe entnommen. Mit  $\frac{1}{100}$  n-Jodlösung erhält man die für Dextrine charakteristische Braunrotfärbung. Die Stärke ist somit bereits auf die Dextrinstufe übergeführt. Versetzen wir eine weitere Probe unserer Lösung mit dem 5fachen Volumen Alkohol, so fällt auf, daß zunächst nur eine opalescente, Trübung eintritt, von einigen Flocken abgesehen, die von der gefällten Diastase herrühren. Erst wenn wir einige Tropfen NaOH (33%) zusetzen, fällt nun auch das Polysaccharid massig aus. Wird zentrifugiert, mit verdünnter HCl neutralisiert, mit Alkohol nochmals gefällt und der Bodensatz mit Wasser gelöst, so gibt er mit Jod eine blaviolette Farbe. Es war somit möglich, durch Behandlung mit Alkali und Fällung mit Alkohol die dextrinierte Stärke wieder in einen wesentlich gröberen Dispersitätszustand zurückzuführen. Sowohl dieser Umstand wie das fast momentane Eintreten der Dextrinierung beweisen, daß hier unmöglich eine hydrolytische Aufspaltung vor sich gegangen sein kann (die, wie wir

<sup>1)</sup> Zugesetztes Jod verbindet sich außerdem direkt mit Eiweißabbauprodukten und reagiert daher, solange solche ungesättigt vorhanden sind, nicht mit Stärke. Auf diese Tatsache begründet sich eine Eiweißbestimmungsmethode, die C. Lange vor kurzem an dieser Stelle veröffentlicht hat (Bd. 95, S. 46). Der Autor ist darin der Ansicht, daß durch Zusatz einer titrierten Jodlösung zu Eiweiß ein Urteil über den Eiweißgehalt der Lösung möglich sei. Er übersah dabei vollständig, daß das Jod nicht mit dem Eiweiß, sondern bloß mit dessen Abbauprodukten reagiert, welche in jeder Eiweißlösung in einer bald größeren, bald geringeren, von Zufälligkeiten (Grad der Hydrolyse usw.) abhängenden Menge vorkommen. Eine grobe Bestimmung wäre auf diese Weise wohl möglich, dürfte aber, da wir weit genauere Methoden besitzen, entbehrlich sein. Daß feinere eiweiß-chemische Vorgänge wie Immunreaktionen u. ä. mit dieser Technik studierbar sein sollten, scheint uns wenig wahrscheinlich.

gesehen haben, selbst bei stark hydrolytischen Einwirkungen auf Stärke nur sehr schwer erzielbar ist). Der Versuch beweist vielmehr, daß dasjenige, was wir auf Grund der Jodreaktion als „Dextrin“ bezeichnen, nicht eine eigentliche Aufspaltung, sondern bloß eine Dispersitätserhöhung, eine Zerteilung der zuerst gröber dispersen Stärketeilchen in wesentlich feinere ist. Die Änderung der Farbenreaktion ist ja, wie wir oben ausgeführt haben, dadurch bedingt, daß das Jod jetzt auf viel höher dispersen Teilchen adsorbiert ist.

Es ist klar, daß diese schnelle Umwandlung nur dadurch erfolgt sein kann, daß ein geeigneter Lösungsvermittler an die Stärkeoberflächen gebunden wurde und dadurch deren Affinität zu Wasser erhöht hat. Entfernen wir diese aus der Diastase adsorbierten Stoffe wieder (alkalischer Alkohol), so sind die Partikelchen wieder ungenügend mit wasserbindenden Stoffen versehen, sie müssen sich daher wieder zu größeren Komplexen = „Stärke“ zusammensetzen. Der Unterschied zwischen Stärke und Dextrin ist somit kein „chemischer“ in dem Sinne, daß Dextrin durch eine chemische Umwandlung (Hydrolyse) aus der Stärke hervorgeht, sondern mehr physikalisch-chemischer Natur: er beruht auf einer feinen dispersen Aufteilung infolge besserer Wasserlöslichkeit der Oberflächen. Diese wurde in unserem Beispiele durch gewisse, in der Diastase enthaltene Stoffe bewirkt, die sich elektiv an die Stärke adsorbieren und als ihre Lösungsvermittler dienen. Für die Aufspaltung der Stärke in Zucker ist damit an sich noch nichts geschehen. Doch ist es eine für die folgende Hydrolyse sehr wichtige Vorbereitung. Denn die Stärke hat dadurch nicht nur eine weit größere Oberfläche erhalten, sie wurde zugleich — was noch wichtiger ist — mit dem Wasser in Beziehung gebracht und dürfte dadurch geeigneten, hydrolytischen Agentien gegenüber angreifbarer geworden sein.

Die Wiederherstellung der Stärke aus dem Dextrinzustand gelingt (bei löslicher Stärke) nur, wenn die Diastase bloß kurze Zeit eingewirkt hat. Nach Stehen (namentlich im Brutschrank) wird die Adsorption der Diastasestoffe und damit die Aufteilung der Stärke bald so hochgradig, daß auch nach Alkali-Alkoholfällung nur noch Dextrin erhalten wird. Es tritt zunächst ein zerfließlicher, gelblicher Bodensatz auf, der nach der zweiten Fällung weiß-

flockig ist, in Wasser sich glatt löst und mit Jod schön braunrot gefärbt ist. Dem entspricht auch die bekannte Tatsache, daß jetzt die Jodreaktion, an der ungefällten Stärke-Diastaselösung ausgeführt, ganz negativ ist: „Achroodextrin“. Wie sehr diese Bezeichnung aber in diesem Falle unzutreffend wäre, zeigt die eben geschilderte Restituierbarkeit der Jodreaktion durch die bloße Entfernung der Lösungsmittel. Auch dieses Achroodextrin ist somit keine Abbaustufe der Stärke, sondern bloß ein durch reichliche Adsorption von Abbauprodukten sehr fein aufgeteiltes Dextrin.

Sind in der Stärkelösung infolge ungenügender Auflösung der Stärke einige ungelöste Krümelchen liegen geblieben, so können dieselben von der Diastase natürlich nicht angegriffen werden (ebenso wie unlösliche Stärke) und geben daher, wenn sie später entfernt und in Wasser gelöst werden, die unveränderte Blaufärbung. Man ersieht daraus die Wichtigkeit einer schon vorherigen, feineren Verteilung der Stärke behufs Vergrößerung der Ansatzflächen der Diastase.

Welcher Art sind die in den „Diastasen“ enthaltenen Lösungsvermittler? Alle wirksamen Präparate geben die Biuretreaktion und reduzieren die Nylandersche Lösung. Die Reindarstellungsverfahren weisen uns ebenfalls darauf hin, daß Abbauprodukte der Eiweiß- oder Lipoidgruppe vorliegen dürften. Von Interesse ist ferner der folgende Befund, welcher inzwischen durch die von G. Woker hervorgerufene Diskussion<sup>1)</sup> über die Diastase-ähnliche Wirkung des Formalins in weiteren Kreisen bekannt wurde: Wenn man lösliche Stärke mit Formaldehyd versetzt und etwas erhitzt, so tritt gleichfalls schon nach kurzer Zeit dieselbe Dextrinierung ein: braunrote Jodreaktion. Gewöhnliche (nicht lösliche) Stärke zeigt diese Umwandlung erst später und nach mehrmaligem Aufkochen. Wir sehen daraus, daß auch chemisch einfache Körper, wofern sie sich nur an die Stärkeoberflächen binden, eine Dextrinierung bewirken können und dürfen daher vermuten, daß auch in den eigentlichen Diastasepräparaten vielleicht ähnliche Stoffe

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 99, Ber. 1919. Durch den von uns erbrachten Beweis, daß auch die Diastasen nicht zur Zuckerbildung führen, fällt natürlich der Hauptunterschied zwischen Diastase- und Formalin-Wirkung dahin, und ist es daher wieder berechtigt, beide Vorgänge in Analogie zu setzen. Der von G. Woker gegebenen Erklärung der Formalinwirkung auf Stärke können wir uns dagegen, aus eben diesem Grunde (weil eine Hydrolyse nicht eintritt), nicht anschließen.

eine Rolle spielen. Freilich haben die Diastasestoffe viel ausgesprochenere Affinitäten zur Stärke als bloßes Formaldehyd. Dies zeigt sich darin, daß sie viel schneller und leichter sich adsorbieren (Formalin bedarf Erhitzung) und auch schwerer wieder entfernbar sind. Mit bloßem Alkohol kann z. B. wohl das Formalindextrin, nicht aber das mit Diastase gewonnene von den Lösungsvermittlern wieder befreit und die blau färbbare, ursprüngliche Stärke wiedergewonnen werden. Das Formalin wird sogar durch das Jod spontan zerstört (vermutlich oxydiert), so daß eine mit Jod braunrot gefärbte Formalinstärke-lösung beim Stehen allmählich dunkler, violett, schließlich blauviolett wird (Restitution des Stärkedispersitätsgrades infolge Verlust des Formalins). Wir möchten aber keineswegs behaupten, daß nicht auch andere als aldehydartige Stoffe eine diastatische Wirkung ausüben könnten. Es ist sogar wahrscheinlich, daß auch Eiweißabbauprodukte, z. B. gewisse Albumosen oder Peptone, ähnlich wirksam sind, und daß vielleicht darauf zum Teil die dextrinierende Wirkung des Speichels (die sich mit der obigen Technik leicht nachweisen läßt) zurückzuführen ist.

Daß N-haltige, am Aufbau tierischer (und pflanzlicher) Zellen beteiligte Stoffe bei der Dextrinierung eine Rolle spielen, läßt sich auch aus folgenden Versuchen erkennen: 30 g fein zerriebener Leichenleber (Mensch) werden mit 30 ccm 33% Lauge auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Flüssigkeit homogen zu werden beginnt, und hierauf 100 ccm einer 3proz. Lösung von löslicher Stärke zugesetzt. Es wird eine Stunde auf dem Wasserbade gekocht, hierauf mit 90% Alkohol heiß gefällt. Sobald das Gemisch durchsichtig, der Bodensatz also sichtbar wird, gießt man den Alkohol ab und löst den Rückstand in alkalischem Wasser, fällt noch einmal, neutralisiert die Fällung mit HCl, zentrifugiert und fällt die klare Lösung mit 90% Alkohol. Der weißliche Niederschlag wird abzentrifugiert und liefert nach dem Trocknen eine schwach gelb gefärbte, glasige Masse. Das so erhaltene dextrinartige Produkt ist in kaltem Wasser leicht kolloidverteilbar und gibt dann bei Versetzen mit einigen Tropfen einer  $\frac{1}{100}$ -Jodlösung eine intensiv rot-violette Farbe. Behandelt man dagegen lösliche Stärke ebenso, aber ohne Leberzusatz, so erhält man ein in kaltem Wasser kaum lösliches, mit Jod (nach

Auflösen in heißem Wasser) tiefblau färbbares Produkt. — Dasselbe wie mit Leber kann auch durch Kochen von Stärke mit Eiereiweiß und Lauge und nachfolgender gleichartiger Behandlung erzielt werden. Wir haben somit die ursprünglich in kaltem Wasser unlösliche Stärke in einen Körper von relativ leichter Löslichkeit und veränderter Jodfärbbarkeit umgewandelt, somit zweifellos den Dispersitätsgrad seiner wässrigen Lösung erhöht, d. h. ihn in einen Körper der Dextrinstufe übergeführt. Eine Fermentwirkung ist unter den beschriebenen Bedingungen ausgeschlossen, so daß die gegenwärtige Auffassung für die Erklärung dieses Vorganges (wie für die oben besprochene Formalinwirkung) völlig versagt. Derselbe dürfte dagegen leicht verständlich werden, wenn wir annehmen, daß Abbauprodukte der verwendeten Organe sich an die Stärketeilchen adsorbiert und dieselben feiner Kolloid verteilt haben. Bei der folgenden Fällung mit Alkohol werden dieselben nicht wieder völlig abgelöst, die Teilchen können sich daher nicht mehr wie früher zu Stärke zusammenlagern. Nur dort, wo wir die Lösungsvermittler wieder glatt entfernen können, wie dies bei dem nur schwach haftenden Formalin leicht möglich ist (Zusatz von Ammonazetat nach M. Jacoby), von Neutralsalzen oder kochendem Wasser (v. Kaufmann und Lewite), kann die ursprünglich blaue Jodreaktion der Stärke wieder erhalten werden.

Ob das völlige Verschwinden der Jodreaktion bei Zusatz relativ großer Formalinmengen wirklich auf einer Aufteilung der Stärke bis über die Dextrinstufe oder bloß auf einer so dichten Besetzung der Oberflächen durch das Formalin beruht, daß diese mit Jod nicht mehr zu reagieren vermögen, sei dahingestellt.

Auch die bekannte Nachweismethode diastatischer Fermente mit Hilfe der Kleisterplatte wird in ihrem Chemismus durch das soeben Gesagte verständlich. Die mit der Diastase herangebrachten Lösungsvermittler erhöhen die Beziehungen der Stärkepartikelchen zum Wasser und verteilen sie fein dispers, sie führen daher in ganz gleicher Weise zur Verflüssigung wie etwa eine Gelatineplatte durch „proteolytische Fermente“, d. h. Eiweißabbauprodukte flüssig wird. Eine Verzuckerung findet auch hier nicht statt. Daß Formalin Stärkekleisterplatten ähnlich wie Diastase auflöst (Woker), ist nach dem oben Gesagten zu erwarten.

Stellen wir analoge Versuche anstatt mit Stärke mit Glykogen und gewöhnlichem „Dextrin“ an, so ergibt sich folgendes: Diese

beiden Dextrine werden nach Digerieren mit Diastase so verändert, daß sie weder direkt noch nach der eben geschilderten Behandlung mit Alkali-Alkohol die ursprüngliche rotbraune Jodreaktion geben. Mit Speichel tritt dieselbe Veränderung sogar momentan ein, so daß schon das sofort nach der Mischung wieder-gewonnene Dextrin nur noch goldgelbe Jodreaktion gibt, nach längerer Einwirkung die Jodreaktion ebenfalls ganz negativ wird. Wir sehen daraus, daß das Dextrin noch keineswegs die letzte Stufe in der Verteilung der Polysaccharide (vor ihrer Aufspaltung in Zucker) darstellt, sondern daß dieselben noch feiner dispers aufteilbar sind und in einen Zustand übergehen können, in welchem das Jod eben noch ein wenig oder überhaupt nicht mehr mit ihnen reagiert. Daß auch hier einzig Adsorptionsvorgänge entscheidend sind, beweist der Umstand des schnellen Eintritts dieser Veränderung, sowie der folgende, analog zu dem oben geschilderten Versuch (mit Stärke) anstellbare Versuch: Wird eine Glykogenlösung mit etwas Formalin kurz aufgeköcht und jetzt die Jodreaktion gemacht, so ist dieselbe zunächst ganz negativ; nach Fällung mit Alkohol und Wiederauflösen in Wasser erhält man aber auch jetzt nicht mehr die ursprünglich rote, sondern nur noch eine goldgelbe Farbe. Das einmal feiner dispers verteilte Glykogen bleibt in diesem Zustand, weil unser Fällungsmittel (der Alkohol) nicht ganz indifferent zu demselben ist. Er vermag zwar die Teilchen nicht vor dem Aneinanderlagern zu schützen, bleibt aber doch teilweise an ihrer Oberfläche adsorbiert, so daß, wenn wir wieder in Wasser lösen, keine so grob disperse Zusammenlagerung (d. i. Glykogen) auftreten kann. (Diese Affinitäten des Alkohols zu den Polysacchariden haben wir schon oben bei der Stärke kennengelernt, sie läßt sich auch am Glykogen gut beobachten. Ein frisch aus Alkohol gewonnenes Glykogen löst sich in Wasser besser und feiner dispers als ein schon längere Zeit aufbewahrtes Präparat oder als ein solches, welches nach dem Alkohol noch mit Äther behandelt wurde.)

Wir sehen somit, daß es unter dem Glykogen noch eine Dextrinstufe gibt, die sich gegen Jod bereits negativ verhält und dennoch als typisches Dextrin bezeichnet werden muß (Fällbarkeit in sehr wasserarmen Alkohol, negative Reduktionsprobe).



Um das gegenseitige Verhalten dieser verschiedenen Stufen und die Zusammenhänge mit der Löslichkeit möglichst klar zu machen, wollen wir die Bildung und Wiederaufteilung eines Stärkekornes in der Pflanze verfolgen: Der im Chlorophyllkorn rasch in großer Menge auftretende Zucker wird synthetisiert und liefert den niedersten Polysaccharidbaustein (im engeren Sinn), das jodnegative Dextrinteilchen. Da am Ort der Entstehung keine oder nur wenige Lösungsvermittler vorhanden sind, so lagern sich diese Partikelchen immer wieder aneinander, es entstehen dadurch zunächst etwas gröbere Körnchen (jodpositive Dextrinstufe). In unserem Schema (Abb. 1) haben wir die synthetisch wirksamen Stellen des Protoplasmas mit einer Lage schwarzer Striche angedeutet. Sie produzieren nach rechts die niedersten Dextrinteilchen, welche sich sofort zu Komplexen zusammenlagern. Indem diese durch das nachwachsende Dextrin von ihrer Bildungsstätte



Abb. 1.



Abb. 2.



Abb. 3.



Abb. 4.



Abb. 5.

abgeschoben werden, treten in den entstehenden zylindrischen Gebilden einzelne Bruchlinien auf, wodurch die jod-positiven Dextrinteilchen vorgebildet sind. Alle diese sind, da sie fast keine Lösungsvermittler besitzen, voneinander nicht durch Wasserhüllen isoliert und lagern sich daher fest aneinander. Nach einer gewissen Dauer der Synthese muß durch äußere Momente (Belichtung usw.) oder vielleicht durch innere chemische Ursachen bedingt, ein Stillstand in der Produktion eintreten und nunmehr an der entstandenen Stärke zunächst Eiweiß oder Eiweißabbauprodukte angelegt werden, worauf später wieder die Stärkesynthese einsetzen kann. So kommt der bekannte wechselnde, organisierte Bau der Stärkekörner zustande; die meist nachweisbare Doppelbrechung weist auf eine geschichtete Struktur, die chemische Analyse auf nicht unbeträchtliche Eiweißeinlagerung hin. Abb. 2 stellt, ebenfalls schematisch, ein Stück eines solchen Kornes dar (die vom Eiweiß eingenommenen Streifen sind weiß gelassen). Wenn wir dieses in

Wasser erhitzen, so dringt das heiße Wasser in die großen Spalt-systeme ein, die daselbst befindlichen Albumosen usw., sowie die Stärkeoberfläche selbst werden besser wasserlöslich; die Teilchen erlangen daher so viel Wasserbindung, daß sie nicht sofort wieder verkleben, sondern einigermaßen verschieblich bleiben (Kleister, kolloid verteilte Stärke<sup>1)</sup>). (Abb. 3, wo einzelne Teilchen schwarz umrandet gezeichnet sind, was schematisch die [blaue] Jodadsorption bei Jodfärbung andeuten soll.) Mehr ist mit bloßem (heißen) Wasser nicht erreichbar, eine Trennung der größeren Komplexe in die höher dispersen Partikelchen erfolgt nicht, weil das Wasser keine genügende Wasserbindung bewirkt, um auch die feineren Teilchen auseinanderzuhalten. Setzen wir nunmehr einen Lösungsvermittler in Form von Diastase zu, so wird dieser nicht nur die schon bestehenden Oberflächen sofort in Beschlag nehmen und gut wasserbindend machen, sondern er dringt, durch seine chemischen Affinitäten zur Stärke getrieben, auch in die präexistierenden Spalten der Stärkepartikelchen ein; gleichzeitig mit ihm das Wasser, welches die Teilchen nun umhüllt und dadurch isoliert, d. i. fein dispers verteilt. Die Lösungsvermittler gehen natürlich zuerst in die größeren Spalten und teilen die Stärke daher zunächst in Teilchen der jodpositiven Dextrinstufe (Abb. 4). Sind sie aber in genügender Menge vorhanden und lassen wir dem ganzen Vorgang Zeit, so dringen sie auch zwischen die Haftflächen der niederen Bausteine, der negativen Dextrinteilchen, ein und verwandeln das ganze Stärkekorn in die feinst disperse Phase (Abb. 5). Alles dies geschieht ohne Hydrolyse und ist ein bloßer Lösungsvorgang infolge Adsorption von Lösungsvermittlern.

Da die Dextrinstufe (namentlich die hoch disperse) bereits aus sehr kleinen und sehr gut wasserlöslichen Teilchen besteht, vermag dieselbe durch die gewöhnlichen Zellmembranen und Scheidewände ohne weiteres durchzutreten. Wir möchten deshalb für wahrscheinlich halten, daß in der Pflanze nicht, wie bisher meist angenommen wurde, jeweils eine Hydrolyse der Stärke bis zu Zucker eintritt, wenn die Stärke von einer Zelle zur andern wandert, sondern daß es im we-

<sup>1)</sup> Die „lösliche“ Stärke ist eine durch Säurehydrolyse teilweise aufgespaltene Stärke, in welcher das vorhandene Dextrin die größeren Partikelchen umgibt und so in kolloider Verteilung hält.

sentlichen Polysaccharide der Dextrinstufe sind, welche in der Pflanze von einem Ort zum anderen ziehen. Es genügt ja, daß in der Zelle Lösungsvermittler in größerer Menge auftreten (wir erinnern an die diesbezügliche Wirkung der Aldehyde, die ja in der Pflanze verschiedentlich vorkommen), um die Stärke in Dextrin überzuführen und damit permeierend zu machen. Und diese Lösungsvermittler müsse nur an anderer Stelle wieder entfernt (z. B. oxydiert oder synthetisch verarbeitet) werden, um wieder eine Aneinanderlagerung der Teilchen und damit die Ausscheidung von Stärke zu bewirken.

Ganz anders als in den Stärkekörnern müssen wir uns den Aufbau der Cellulosewände in der Pflanze vorstellen. Hier werden ebenfalls die kleinsten Bausteine (Dextrinteilchen) aneinandergelagert, sie scheiden sich aber jedenfalls in Form einer zusammenhängenden, bloß von wenigen größeren Spalten durchbrochenen Masse aus. Denn wir wissen, daß diese Scheidewände zwar für Wasser und darin gelöste Stoffe (wenigstens in den jüngeren Geweben) durchgängig sind, wir kennen aber auch die großen Schwierigkeiten, welchen Pflanze und Tier und schließlich selbst der Chemiker begegnen, wenn sie diesen Stoff feiner kolloid verteilen sollen. Hier genügt es eben nicht, daß Lösungsvermittler



Abb. 6.

herangebracht werden, die Oberfläche ist viel zu wenig ausgedehnt, die Spalten viel zu spärlich, als daß dadurch eine Verteilbarkeit ermöglicht wäre (Abb. 6). Dazu kommt noch, daß die älteren Cellulosewände durch Einlagerung selbst wieder schwer löslicher Stoffe (Lignin usw.) in die Zwischenräume abgedichtet werden, wodurch die Angriffsfläche für Lösungsvermittler noch weiter vermindert wird. Erst wenn wir diese Stoffe entfernen, können wir solches Material einigermaßen verdaulich machen, d. h. mit Hilfe von Drüsensekreten usw. zum Teil in fein disperse Teilchen aufteilen. Nur die Scheidewände junger, noch wachsender Gewebe dürften noch nicht aus durchwegs zusammenhängender Cellulose, sondern aus einzelnen Schollen bestehen, die erst später durch Einlagerung weiterer Cellulose oder anderer unlöslicher Stoffe verschmolzen werden.

Diese Überlegungen machen uns das verschiedene chemische Verhalten der einzelnen, von den Pflanzen hervorgebrachten Poly-

saccharide verständlich, und zwar aus vorwiegend physikalisch-chemischen Momenten. Daß noch Unterschiede in der chemischen Vereinigung der Zucker (z. B. bei Cellulose einerseits, bei Stärke andererseits usw.) vorkommen können, soll damit nicht bestritten werden. Wir sind aber der Ansicht, daß dies weit weniger häufig ist, als aus der großen Mannigfaltigkeit der verschiedenen Polysaccharide zunächst geschlossen werden könnte, und daß die Unterschiede derselben vor allem durch die Art der Zusammenlagerung der Dextrinpartikelchen und durch die Natur und Menge der an ihnen vorhandenen Lösungsvermittler bedingt ist. Wir müssen daher die oben gegebene Einteilung (die für praktische Zwecke natürlich ihren Wert behält) insofern ergänzen, als wir nicht alle einzelnen Gruppen als chemisch different und ihre Grenzen daher nicht als scharfe ansehen können; vielmehr müssen wir den jeweils bestehenden Beziehungen zwischen den sie aufbauenden Teilchen zum Wasser eine entscheidende Bedeutung zuschreiben.

Überall dort, wo sich Lösungsvermittler in relativ großer Menge vorfinden, wird eine Zusammenlagerung von Dextrinteilchen zu Stärke nicht stattfinden können. Dies ist wohl der Grund, warum im tierischen Organismus keine Stärke, sondern bloß ein Dextrin auftritt und warum wir derartigen Dextrinen auch im Pflanzenreich nicht selten begegnen (namentlich bei den saprophytisch lebenden Pflanzen wie Bakterien, Hefen, Pilzen usw., welche ihre Polysaccharide meist nach Art der Tiere aus Zucker, Glycerin oder ähnlichem aufbauen und sie nicht, wie die grünen Pflanzen, selbst produzieren). Wir möchten aber auch in bezug auf die Verdauung der Stärke im tierischen Organismus einige wichtige Schlußfolgerungen aus unseren Beobachtungen ziehen. Der Speichel und die Sekrete der Darmdrüsen bringen an die (mit Vorteil durch Quellung etwas zugänglicher gemachte) Stärke Lösungsvermittler heran, welche sie in die jodnegative Dextrinstufe überführen. Als solche kann die Stärke die Darmwand (unter Benützung der zwischen den Epithelien befindlichen, kapillaren Spalten) glatt durchsetzen und ins Blut übertreten. Es scheint uns deshalb sehr wahrscheinlich, daß die höheren Kohlehydrate unserer Nahrung keineswegs, wie bisher angenommen wurde, stets bis zu Zucker

aufgespalten und erst in dieser Form resorbiert werden, vielmehr ist eine Resorption in Form von Dextrin viel wahrscheinlicher, und zwar aus folgenden Gründen: 1. Weil im Darm eine schwach alkalische Reaktion besteht, die für eine Hydrolyse von Polysacchariden (Verzuckerung des Dextrins) nicht günstig ist. Auch haben wir gesehen, daß sogar die Dextrine wie Glykogen, Inulin usw. nur schwer hydrolysierbar sind. Die Annahme einer solchen Aufspaltung hätte jedenfalls weit weniger Wahrscheinlichkeit für sich als diejenige einer direkten Resorption des Dextrins. 2. Wir wissen, daß für Stärke, im Gegensatz zu Zucker, eine beliebige Toleranz besteht. Würde die Stärke wirklich in Zucker zerfallen, so müßte bei sehr reichlicher Zufuhr ebenfalls eine Zuckerüberladung des Blutes eintreten. Um diese große Toleranz zu erklären, mußte bisher eine „außerordentliche Feinheit in der Regelung von Resorption und Nachschub der Stärke“ bei der Verdauung angenommen werden (O. Cohnheim, *Physiol. d. Verd.* 1908, S. 145), über deren Mechanismus freilich nichts bekannt war. Hingegen ist diese Tatsache vom Standpunkt unserer Auffassung aus ohne weiteres verständlich. Wollte man diese Annahme nicht machen, so müßte ja, in Anbetracht der ungemein schnellen Überführung der Stärke in die gut permeierende Dextrinstufe bei der Verdauung die Frage aufgeworfen werden, was denn die Stärke im Darm zurückhalten sollte, damit sie erst nach ihrer Hydrolyse und nicht schon als Dextrin resorbiert wird?<sup>1)</sup>

Nach der Resorption wird das Dextrin sehr schnell von den verschiedenen Zellen (Leber, Organe) aufgenommen, so daß es aus dem Blut wieder verschwindet. Die meisten Organe besitzen dagegen die Fähigkeit, es nicht nur zu binden, sondern auch bis zur jodpositiven Dextrinstufe zusammenzulagern (durch Wegnahme des Hauptteils seiner Lösungsvermittler).

Es genügt aber, daß durch eine Änderung im Chemismus der Zelle (Steigerung der Autolyse und damit der Abbauvorgänge infolge von Nervenströmen usw.) die Lösungsvermittler zunehmen, um das Glykogen zu „mobilisieren“, d. h. in Dextrin überzuführen. Auch für diesen Vorgang ist es somit nicht notwendig,

<sup>1)</sup> Die Tatsache, daß Glykogen auch aus Zucker in den tierischen Zellen aufgebaut werden kann, steht mit unserer Annahme natürlich nicht in Widerspruch.

daß das Glykogen bis zur Zuckerstufe aufgespalten werde, um aus der Zelle austreten zu können. (Es sei übrigens daran erinnert, daß das Glykogen auch selbst ein Dextrin ist und durch die Membranen vieler Zellen bereits durchtreten kann, wie aus pathol.-anatomischen Arbeiten hervorgeht.) Wir halten es für wahrscheinlich, daß nicht nur die Aufnahme der Polysaccharide, sondern auch der größte Teil des inneren Umsatzes nicht in Form von Zucker, sondern auf der (jodnegativen) Dextrinstufe abläuft, worauf wir in einer späteren Arbeit noch näher eingehen möchten.

Mit diesen Feststellungen dürfte eines der Haupträtsel des pflanzlichen und tierischen Kohlehydratstoffwechsels aufgeklärt sein. Die Frage, wie die niederen Dextrine aus den Zuckern hervorgehen und wie sie wieder in dieselben übergeführt werden, ist freilich noch nicht gelöst. Dasselbe gilt ja auch für die Entstehung und den Abbau der Zucker selbst. Doch lassen uns die neueren Arbeiten auf diesem Gebiete, wie sie von C. Neuberg und seinen Mitarbeitern ausgeführt sind, hoffen, daß auch hier bald einfache chemische Formeln an Stelle der bloßen Fermentnamen treten werden.

#### Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode für die Reindarstellung von höheren Polysacchariden beschrieben und die Eigenschaften (Löslichkeit, Aufspaltbarkeit usw.) verschiedener, nach diesem Verfahren gewonnener Polysaccharid-präparate besprochen.

2. Die Jodreaktion der Polysaccharide beruht auf der Adsorption von Jod an die Oberfläche der kolloid verteilten Partikeln und ändert sich in bezug auf die jeweils auftretende Farbe mit der Dispersität der letzteren: Blau entspricht einer relativ grob dispersen, Braunrot einer hoch dispersen Verteilung.

3. Die Stärke kann durch bloße Besetzung ihrer Oberfläche mit Lösungsvermittlern (Adsorption von z. B. Formaldehyd) dextriniert, d. h. aus dem grob in den fein dispersen Zustand übergeführt werden. Die Dextrine sind somit nicht aufgespaltene, sondern bloß höher disperse Stärke.

4. Auch die Wirkung der diastatischen Fermente besteht in einer bloßen Änderung des Dispersitätsgrades der Stärke, bedingt durch Herantreten von Lösungsvermittlern, wodurch die

vorher aneinanderhaftenden, unlöslichen Teilchen wasserbindende Oberflächen erhalten und daher kolloid verteilbar werden. Dadurch wird zunächst die grob disperse Stärke in kleinere Partikelchen (jodpositive Dextrinstufe) und diese weiter in eine noch tiefere, jodnegative Stufe zerteilt, ohne daß hierfür eine Hydrolyse nötig ist. Eine Überführung in Zucker wird durch diese Fermente nachweislich nicht bewirkt, doch dürfte die damit gegebene Vergrößerung der Oberfläche für eine spätere Hydrolyse eine wichtige Vorbereitung sein.

5. Die wirksamen Stoffe der Diastasen sind sehr wahrscheinlich Spaltprodukte aus Lipoiden oder Eiweißkörpern, oder deren Derivate.

6. Die mannigfaltigen Polysaccharide des Pflanzenreiches sind nur z. T. chemisch, z. T. dagegen durch physikalisch-chemische Momente unterschieden; in erster Linie wichtig ist die Art und Menge der zwischen ihnen und den aneinander gelagerten Dextrinteilchen vorkommenden Lösungsvermittler, ferner das Vorhandensein oder Fehlen eingelagerter fremder Substanzen (Eiweiß, Lignin usw.).

7. Da die in Dextrin übergeführte Stärke löslich ist und durch Membranen durchtreten kann, braucht nicht, wie bisher, ein Abbau der Stärke in Zucker und Wiederaufbau angenommen zu werden für alle Fälle, wo Stärke durch Zellmembranen durchgehen muß; es genügt die Besetzung ihrer Oberflächen mit geeigneten Lösungsvermittlern. (Wanderung der Stärke in der Pflanze, Resorption „verdauter“ Stärke aus dem Darm und übriger innerer Stoffwechsel des tierischen Organismus.)

8. Das tierische Glykogen ist mit Stärke der Dextrinstufe identisch. Es findet sich im Tierkörper nur deshalb ausschließlich, weil hier Lösungsvermittler stets so reichlich vorhanden sind, daß unlösliche (und daher grob disperse) Teilchen (Stärke) nicht entstehen können.

# Über die Bedeutung der Magen-Salzsäure und Bemerkungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in den biologischen Wissenschaften<sup>1)</sup>.

Von  
J. Traube.

(Technische Hochschule Charlottenburg.)

(Eingegangen am 4. Mai 1920.)

Soerensen<sup>2)</sup> hat nachgewiesen, daß das Optimum der Pepsinverdauung für Acidalbumin, nach der Wasserstoffionenmeßmethode berechnet, bei einer Konzentration von 0,01—0,03 n H liegt, während L. Michaelis und Mendelsohn<sup>3)</sup> das peptische Verdauungsoptimum für Casein bei 0,017 n Wasserstoffionenkonzentration fanden.

Es spricht für die Zweckmäßigkeit unseres Organismus, daß nach Michaelis und Davidsohn<sup>4)</sup> der Mittelwert der normalen Magenacidität nach der elektrometrischen Methode gemessen gleich 0,015 n gefunden wurde. Wenn der Magen richtig arbeitet, so ist hiernach gerade diejenige Menge freier Salzsäure vorhanden, welche für eine optimale peptische Verdauung erforderlich ist. Es wurde nun von mir darauf hingewiesen<sup>5)</sup>, daß nach einer Arbeit von M. Fischer<sup>6)</sup> ein Maximum der Fibrinquelleung bei 0,02 n Salzsäurekonzentration und nach Traube und Köhler<sup>7)</sup> ein Maximum der Gelatinequelleung bei 0,019 n

<sup>1)</sup> Siehe die Mitteilungen von Traube, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 27, und Leonor Michaelis, ebenda 1920, Nr. 5.

<sup>2)</sup> Soerensen, diese Zeitschr. 21, 136. 1909.

<sup>3)</sup> L. Michaelis und Mendelsohn, diese Zeitschr. 65, 1. 1914.

<sup>4)</sup> Michaelis und Davidson, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Th. 8, 398. 1910.

<sup>5)</sup> Traube, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 27.

<sup>6)</sup> M. Fischer, Das Ödem. Dresden 1910. S. 24.

<sup>7)</sup> Traube und Köhler, Intern. Zeitschr. f. phys. chem. Biol. 2, 42. 1915.



Salzsäurekonzentration statthat. Die letztere Quellungskurve steigt steil an, um ebenso steil wieder abzufallen.

Aus diesem Zusammenfallen der Konzentrationen der freien Salzsäure für die optimale Fermentwirkung bei der Verdauung eines so leicht verdaulichen Eiweißstoffes wie das Fibrin und seiner maximalen Quellbarkeit zog ich den bereits — empirisch — von anderer Seite gezogenen und sich geradezu als selbstverständlich aufdrängenden Schluß, daß das Ferment Pepsin Leim und Eiweißstoffe wie Fibrin usw. am besten angreift, wenn die Quellung des Substrats am größten ist. Daß die maximale Quellung ein absolut notwendiger Faktor für die Verdauung aller Eiweißstoffe ist, habe ich nicht behauptet. Wohl aber glaubte ich den Satz aussprechen zu dürfen, daß ein Eiweißstoff im Magen um so leichter und schneller verdaut wird, je größer seine Quellung bei der vorhandenen Salzsäurekonzentration ist. So wies ich denn auch darauf hin, daß es bei den Verdauungsvorgängen im Magen und Darm in erster Linie auf die Quellung ankommt, und diese Quellung besorgt im Magen die Säure und im Darms das Alkali.

Herr Leonor Michaelis (l. c.) ist nun mit dieser einfachen Theorie nicht recht einverstanden. Er gibt zwar zu, daß „ein Kolloid je nach der Oberfläche, die es dem Ferment darbietet, und je nach der Quellung schneller oder langsamer verdaut wird“; „aber damit sei nicht gesagt, daß dies die einzige Beziehung der Säure zur Fermentwirkung sei, er glaube vielmehr, daß dies eine mehr sekundäre Wirkung der Säuren sei“ usw.

Herr Michaelis hält fest an der von ihm aufgestellten Theorie, daß die Wirkung der Wasserstoffionen vor allem in einer Beeinflussung des elektrolytischen Dissoziationszustandes der als Elektrolyte aufgefaßten Fermente zu erblicken sei<sup>1)</sup>.

Wenn bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration ein Ferment in der Zeiteinheit den halben Umsatz herbeiführt, wie bei der optimalen Wasserstoffionenkonzentration, so meint Michaelis, daß nur die Hälfte des Ferments wirksam sei, und indem er die Fermente als teilweise dissoziierte Elektrolyte auffaßt, ist er nun der Ansicht, daß bei dem einen Ferment nur der undissoziierte Anteil, bei dem anderen nur das Kation oder Anion und bei wieder anderen die Ionen und der undissoziierte Teil

<sup>1)</sup> L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 60 u. f. Berlin 1914.

wirksam sind. Je nach dem Grade der Verschiebung des Dissoziationszustandes durch die Wasserstoffionen wird nun eine mehr oder weniger optimale Wirkung eintreten. Bei der Invertase soll der undissoziierte Teil der Träger der Fermentwirkung sein, beim Pepsin sollen nur die Kationen, beim Erepsin nur die Anionen wirksam sein und bei der Katalase endlich wird auf eine Wirkung des undissoziierten Ferments sowie der Anionen geschlossen.

Man erkennt, daß diese Theorie von Michaelis doch sehr hypothetisch ist, und sie wird noch hypothetischer, wenn man berücksichtigt, daß außer den Wasserstoffionen auch die verschiedensten anderen Ionen, insbesondere Anionen, und zwar entsprechend ihrer Stellung in der Haftdruckreihe<sup>1)</sup> (Hofmeister-Spiroschen Reihe) die Fermentwirkung beeinflussen. Das führt zu weiteren Hypothesen<sup>2)</sup>, die mir wenig annehmbar erscheinen.

Vor allem aber sei auf die Arbeiten von Snetlage<sup>3)</sup> hingewiesen, insbesondere auf die im Institut von Bredig angefertigte Inauguraldissertation. Bekanntlich hatte Wilhelm Ostwald u. a. behauptet, daß bei der Inversion des Rohrzuckers und anderen katalytischen Vorgängen in der Säurereihe der Katalysatoren nur die Wasserstoffionen wirksam seien. Snetlage zeigt aber, daß diese Annahme — eine der Fundamentalannahmen zur Stütze der elektrolytischen Dissoziationstheorie — nicht mehr haltbar sei, daß auch die Anionen und insbesondere auch der undissoziierte Teil der Säuren einen ganz erheblichen Anteil bei der katalytischen Wirkung ausübten. Was für andere Katalysatoren richtig ist, sollte nun doch auch für die Fermente gelten. Und es scheint mir ein Rückschritt zu sein, wenn Michaelis im Gegensatz zu den Arbeiten von Snetlage beiden Fermenten bestimmte hypothetische Teile der Fermente als wirksam, andere als unwirksam erklärt. Da ist doch wirklich an Stelle dieser verwickelten Annahmen die Annahme wahrscheinlicher, die Fermente einstweilen als einheitlich aufzufassen und deren Wirkungen in gewissen Fällen, insbesondere bei den Verdauungsvorgängen als in erster Linie abhängig von der Quellung des zu verdauenden

<sup>1)</sup> Traube, Archiv f. d. ges. Physiol. **132**, 511. 1910, u. **140**, 109. 1911.

<sup>2)</sup> Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, I. c. S. 75.

<sup>3)</sup> Snetlage, Inaug.-Diss. Karlsruhe 1913, und Zeitschr. f. physikal. Chemie **90**, 1. 1915.

Substrats anzunehmen. Diejenigen, welche sich mit meiner Haftdrucktheorie beschäftigt haben, wissen auch, daß die Wirkung der Salzionen auf fermentative und andere katalytische Vorgänge dem Verständnisse weit geringere Schwierigkeiten darbietet als die Anwendung der elektrolytischen Dissoziations-  
theorie.

Endlich sei mir noch ein allgemeines Wort gestattet in bezug auf die nach meiner Ansicht allzu häufige Berufung auf die Wasserstoffionentheorie in den biologischen und medizinischen Wissenschaften.

Man hört u. a. fortwährend von der Wasserstoffionenkonzentration der Körperflüssigkeiten, erfährt, daß das Blut und andere Körpersäfte nahezu neutrale Flüssigkeiten sind, und die Methoden der Titrationsacidität und -alkalität, die uns die Gesamtacidität und -alkalität der Körpersäfte zu messen gestatten, sind ganz in den Hintergrund getreten. Und doch ist die Bestimmung dieser Gesamtacidität und -alkalität etwa des Blutes viel wichtiger als die Feststellung der Wasserstoffionenzahl. Während die letztere Größe in den meisten pathologischen Fällen gegenüber dem Normalzustande eine kaum feststellbare Änderung erfährt, verschiebt sich das Mengenverhältnis zwischen den primären und sekundären Phosphaten und insbesondere dem Natriumbicarbonat sehr erheblich, und man kann durch Messung der Gesamtacidität und -alkalität ganz besonders mit Hilfe der von mir herrührenden oberflächenaktivitätstitririschen Methode<sup>1)</sup> zweifellos wertvolle Schlüsse in physiologischer und pathologischer Hinsicht ziehen. Das Blut ist beispielsweise ein stark alkalisches und gleichzeitig

<sup>1)</sup> Vgl. Traube, Internat. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol. 1, 389. 1914, und Münch. med. Wochenschr. Nr. 31, S. 1713. 1914. Somogyi, Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol. 1, 370. 1914. Vgl. insbesondere auch Windisch und Dietrich, diese Zeitschr. 97, 135. 1919 und 100, 130. 1919. — Wenn man eine größere Empfindlichkeit der Methode anstrebt, so ist die von den Herren Windisch und Dietrich angewandte Undecylsäure oder Nonylsäure der Isovaleriansäure vorzuziehen, ebenso das von mir den Herren vorgeschlagene Eukupin dem von mir früher angewandten Chinin. Die sehr beachtenswerten Untersuchungen der genannten Herren über Bier, Bierwürze usw. sind direkt auf Blut und andere Körperflüssigkeiten übertragbar, da dieselben Gleichgewichte zwischen Phosphaten und Carbonaten bestehen. Untersuchungen nach dieser Richtung dürften in physiologischer und namentlich auch pathologischer Hinsicht weit mehr ergeben als Feststellungen der Wasserstoffionenkonzentrationen.

saures Milieu, in pathologischen Fällen bei Kachexie usw. verschiebt sich das Verhältnis von Acidität und Alkalität oft sehr erheblich. Ob auch in allen Fällen, wo man von der Wasserstoffionenreihe der Säuren spricht, wirklich nur die Zahl der Wasserstoffionen in Betracht kommt und nicht auch häufig andere Faktoren mitsprechen (wie Oberflächenaktivität, Haftdruck), erscheint mir nach meinen biologischen Arbeiten recht zweifelhaft. Bei aller Anerkennung der gewiß in vieler Hinsicht sehr beachtenswerten Arbeiten von Leonor Michaelis meine ich doch, daß es nicht schaden würde, wenn man zuweilen etwas weniger die Wasserstoffionen in den Vordergrund treten ließe.

---

# Zur Pharmakologie des Selens und Tellurs.

## I. Mitteilung.

### Die Wirkung ihrer Säuren auf Bakterien.<sup>1)</sup>

Von

Georg Joachimoglu.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 6. Mai 1920.)

Über den Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung ist viel gearbeitet und noch mehr spekuliert worden<sup>2)</sup>.

Wenn man bedenkt, daß wir nicht einmal in der Lage sind, die einfachen physikalischen Eigenschaften der chemischen Verbindungen auf Grund ihrer chemischen Konstitution zu erklären und allgemeine Regeln über den Zusammenhang zwischen Bau der Moleküle und ihrer physikalischen Eigenschaften aufzustellen, so muß man mit Recht im Zweifel sein, ob es uns jemals gelingen wird, die pharmakologischen Wirkungen der chemischen Verbindungen aus ihrer Konstitution abzuleiten und bei Synthesen neuer Körper ihre Wirkungen vorauszusagen. Bei wenigen verwandten Verbindungen der organischen Chemie (z. B. Curarewirkung der quartären Basen) und auch bei einigen Giften aus der anorganischen Chemie konnten allerdings einige allgemeine Regeln aufgestellt werden, deren Wert man freilich aus den oben erörterten Gründen nicht überschätzen darf.

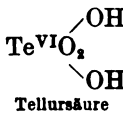
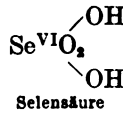
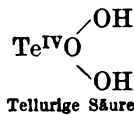
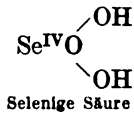
<sup>1)</sup> Vorgetragen in der Berl. Mikrobiologischen Gesellschaft am 3. Mai 1920.

<sup>2)</sup> Curci (Therapia moderna, Jan. 1891, S. 33; zit. nach S. Fränkel, Arzneimittelsynthese, S. 26, Berlin 1919) hat die Hypothese aufgestellt, daß in den organischen Verbindungen dem Kohlenstoff eine lähmende, dem Wasserstoff eine erregende und dem Sauerstoff eine indifferente Wirkung zukäme. Es wäre leicht aus der Literatur noch weitere Beispiele derartiger Absurditäten anzuführen. Besonders irreführend ist der Versuch, Tatsachen, die innerhalb einer Gruppe von verwandten Verbindungen gewonnen sind, auf andere Gruppen zu übertragen und daraus allgemeine Regeln zu ziehen.

Es ist eine allgemein anerkannte Tatsache, daß die Verbindungen des dreiwertigen Arsens (arsenige Säure) viel wirksamer sind als die des fünfwertigen (Arsensäure). In einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> konnte gezeigt werden, daß nach Versuchen an Warmblütern die Giftigkeit der arsenigen Säure sich zu der Giftigkeit der Arsensäure verhält wie 6:10, d. h. 10 g As in der fünfwertigen Form entsprechen 6 g As in der dreiwertigen. Am isolierten Froschherzen war die arsenige Säure ca. 300 mal giftiger als die Arsensäure.

In einer späteren mit E. Friedberger ausgeführten Arbeit, konnte die höhere Giftigkeit der arsenigen Säure auch an Bakterien, Protozoen und Hefezellen deutlich nachgewiesen werden<sup>2)</sup>.

Das pharmakologische Verhalten der arsenigen Säure und Arsensäure veranlaßte mich, analoge Versuche mit Tellur- und Selenverbindungen anzustellen. Während Arsen in die fünfte Gruppe des periodischen Systems gehört, gehören Tellur und Selen in die sechste. Trotzdem haben sie mit dem Arsen einige Eigenschaften gemeinsam. Nach den Untersuchungen von Czapek und Weil<sup>3)</sup> zeigen die Symptome der Selen- und Tellurvergiftung bei Kalt- und Warmblütern große Ähnlichkeit mit den nach Applikation von Arsenik beobachteten. Selen und Tellur treten in ihren Verbindungen zwei-, vier- und sechswertig auf. Hier interessieren uns die vier- und sechswertigen Verbindungen, nämlich die selenige Säure und Selensäure, bzw. die tellurige Säure und die Tellursäure.



Die Technik meiner Versuche war die denkbar einfachste. Die Natriumsalze der genannten Säuren ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{TeO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) wurden in wässriger Lösung zu verflüssigtem Agar zugesetzt und die erzielte Selen bzw. Tellur-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. **70**, 157. 1915.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. **79**, 135. 1917.

<sup>3)</sup> Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **32**, 438. 1893.

konzentration aus der zugesetzten Menge berechnet. Der Agar wurde dann in Petrischalen gegossen. Aus einer 24stündigen Agarkultur der betreffenden Bakterien wurde nun eine Öse auf die Oberfläche gebracht und mit einem Drigalskispatel gleichmäßig verteilt. Die Platten blieben 24 Stunden lang im Brutschrank. Die Resultate sind aus folgenden Tabellen ersichtlich.

Tabelle I.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 2500	Tellurat- agar Te 1: 2500	Kontrolle
1. X 19 Koch	steril	üppiges Wachstum	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	„	mäßiges Wachstum	„
3. Proteus Jacoby	„	üppiges Wachstum	„
4. Proteus 280	„	starkes Wachstum	„
5. Prodigiosus	„	steril	„
6. B. Coli	„	„	„
7. B. subtilis	„	„	„
8. Micr. candidans	„	„	„
9. Milzbrand	„	„	„
10. Typhus	„	„	„
11. Paratyphus B.	„	„	„
12. B. Gärtner	„	„	„
13. V. Metschnikoff	„	„	„
14. Staphylokokken	„	mäßiges Wachstum	„
15. Streptokokken	„	etwa 100 Kolonien	„
16. Flexner	„	steril	„
17. Pyocyaneus	„	„	„

Die Tabelle zeigt uns, daß alle benutzten Bakterien bei gleicher Te-Konzentration durch das Tellurition eine vollständige Wachstumshemmung erfahren, während das Telluration sich bei den 4 Proteusarten<sup>1)</sup> sowie bei Staphylokokken und Streptokokken sich als nicht wirksam genug erweist. Tellurat entsprechend einer Konzentration von  $Te^{VI}$  1: 1250 zeigt bei Streptokokken und Staphylokokken vollständige Hemmung, während die Proteusarten erst durch eine Konzentration von  $Te^{VI}$  1: 850 in ihrem Wachstum vollständig gehemmt werden.

Bei einer Konzentration von  $Te^{IV}$  1: 5000 haben wir bei allen Bakterien mit Ausnahme des X 19 Moabit vollständige Hemmung, während bei Tellurat die Proteusarten mäßiges bis starkes Wachstum, Streptokokken, Staphylokokken, Pyocyaneus geringes Wachstum zeigen. Wir sehen also, daß das Tellurition bei einer Konzentration von  $Te^{IV}$  1: 5000 das Wachstum auch der Proteus-

<sup>1)</sup> Die mit X 19 Koch und X 19 Moabit bezeichneten Proteusarten wurden durch Fleckfieberserum auch nach dem Erhitzen auf 85° agglutiniert.

Tabelle II.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 5000	Tellurat- agar Te 1: 5000	Kontrolle
1. X 19 Koch	steril	mäßiges Wachstum	üpp. Wachst.
2. X 19 Moabit	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"
3. Proteus Jacoby	steril	mäßiges Wachstum	"
4. Proteus 280	"	starkes Wachstum	"
5. Prodigiosus	"	steril	"
6. B. Coli	"	"	"
7. B. subtilis	"	"	"
8. Micr. candicans	"	"	"
9. Milzbrand	"	"	"
10. Typhus	"	"	"
11. Paratyphus B.	"	"	"
12. B. Gärtner	"	"	"
13. V. Metschnikoff	"	"	"
14. Staphylokokken	"	2 Kolonien	"
15. Streptokokken	"	geringes Wachstum	"
16. Flexner	"	steril	"
17. Pyocyaneus	"	geringes Wachstum	"

arten hemmt, während beim Tellurat die gleiche Wirkung erst bei einer Konzentration von  $\text{Te}^{\text{VI}}$  1: 850 erreicht wird. Man kann daraus schließen, daß das Tellurition in Bezug auf die Proteusarten etwa 6 mal wirksamer ist als das Telluration.

Tabelle III.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1:10 000	Tellurat- agar Te 1: 10 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	üpp. Wachst.
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus Jacoby	starkes Wachstum	üppigstes Wachstum	"
4. Proteus 280	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
5. Prodigiosus	steril	steril	"
6. B. Coli	"	"	"
7. B. subtilis	"	"	"
8. Micr. candicans	"	"	"
9. Milzbrand	"	"	"
10. Typhus	"	"	"
11. Paratyphus B.	"	"	"
12. B. Gärtner	"	"	"
13. V. Metschnikoff	"	"	"
14. Staphylokokken	"	spärliches Wachstum nach 48 Stden	"
15. Flexner	"	steril	"
16. Streptokokken	"	mäßiges Wachstum	"
17. Pyocyaneus	"	20 Kolonien	"

Bei der Konzentration von Te 1:10 000 zeigen die Proteusarten bei Tellurit mäßiges Wachstum, bei Tellurat starkes Wachstum. Die anderen Bakterien weisen das gleiche Verhalten wie bei der Konzentration 1: 5000 auf.



Tabelle IV.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 20 000	Tellurat- agar Te 1: 20 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus Jacoby	"	"	"
4. Proteus 280	"	"	"
5. Prodigiosus	"	geringes Wachstum	"
6. B. Coli	steril	mäßiges Wachstum	"
7. B. subtilis	"	ziemlich starkes Wachstum	"
8. Micr. candidans	"	geringes Wachstum	"
9. Milzbrand	"	mäßiges Wachstum	"
10. Typhus	"	geringes Wachstum	"
11. Paratyphus	"	"	"
12. B. Gärtner	"	mäßiges Wachstum	"
13. V. Metschnikoff	"	"	"
14. Staphylokokken	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
15. Streptokokken	geringes Wachstum	geringes Wachstum	"
16. Flexner	steril	ziemlich starkes Wachstum	"
17. Pyocyanus	"	mäßiges Wachstum	"

Bei der Konzentration von Te 1 : 20 000 haben wir im Vergleich zu der Konzentration 1 : 10 000 bei Staphylokokken und Streptokokken mäßiges Wachstum.

Interessant ist, daß bei dieser geringen Konzentration die mit Heu- und Milzbrandbacillen beimpften Platten steril bleiben.

Tabelle V.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 30 000	Tellurat- agar Te 1: 30 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	starkes Wachstum (bräunlich)	starkes Wachstum weiß	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus 280.	"	"	"
4. Proteus Jacoby	"	"	"
5. Prodigiosus	steril	rötliches	"
6. Micr. candidans	mäßiges Wachstum	mäßiges Wachstum	"
7. B. Coli	steril	vereinzelte Kolonien	"
8. Milzbrand	300 Kolonien	starkes Wachstum	"
9. Typhus	steril	steril	"
10. Paratyphus B.	"	10 Kolonien	"
11. B. Gärtner	"	60 Kolonien	"
12. V. Metschnikoff	"	75 Kolonien	"
13. Staphylokokken	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
14. Streptokokken	"	mäßiges Wachstum	"
15. Flexner	steril	20 Kolonien	"
16. Pyocyanus	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"

Bei der Konzentration von Te 1 : 30 000 ist bemerkenswert, daß die Bacillen der Thyphus-Coli-Gruppe (Typhus, Paratyphus B, Coli) durch Tellurit vollkommen gehemmt werden. Auch Gärtner, Flexner, V. Metschnikoff zeigen dasselbe Verhalten.

Tabelle VI.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 40 000	Tellurat- agar Te 1: 40 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	üppiges Wachstum (bräunlich)	üppiges Wachstum (weiß)	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus 280	"	"	"
4. Proteus Jacoby	"	"	"
5. Prodigiosus	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"
6. Micr. candidans	"	geringes Wachstum	"
7. B. Coli	steril	steril	"
8. Milzbrand	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"
9. Typhus	steril	steril	"
10. Paratyphus B.	"	geringes Wachstum	"
11. B. Gärtner	"	steril	"
12. Staphylokokken	starkes Wachstum	starkes Wachstum	"
13. Streptokokken	"	"	"
14. Flexner	steril	steril	"
15. Pyocyaneus	starkes Wachstum grünlich	starkes Wachstum	"

Tabelle VII.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 60 000	Tellurat- agar Te 1: 60 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	starkes Wachstum	starkes Wachstum	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus 280	"	"	"
4. Proteus Jacoby	"	"	"
5. Prodigiosus	geringes Wachstum	"	"
6. Micr. candidans	"	"	"
7. B. Coli	steril	steril	"
8. Milzbrand	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"
9. Typhus	steril	steril	"
10. Paratyphus B.	"	"	"
11. B. Gärtner	"	mäßiges Wachstum	"
12. V. Metschnikoff	745 Kolonien	620 Kolonien	"
13. Staphylokok- ken	starkes Wachstum (schwarz)	starkes Wachstum (weiß)	"
14. Streptokokken	"	"	"
15. Flexner	steril	"	"
16. Pyocyaneus	starkes Wachstum	"	"

Bei den Verdünnungen Te 1 : 30 000 bis 1 : 60 000 fällt weiter die hohe Empfindlichkeit der Typhus-Coli-Gruppe auf. Auch Tellurat ist ziemlich wirksam.

Tabelle VIII.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 100 000	Tellurit- agar Te 1: 100 000	Kontrolle
1. B. Coli	steril	steril	üpp. Wachst.
2. Milzbrand	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
3. Typhus	steril	steril	"
4. Paratyphus B.	"	mäßiges Wachstum	"
5. B. Gärtner	Spur	starkes Wachstum	"
6. Flexner	steril	mäßiges Wachstum	"

Tabelle IX.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 200 000	Tellurat- agar Te 1: 200 000	Kontrolle
1. B. Coli	steril	geringes Wachstum	üpp. Wachst.
2. Milzbrand	starkes Wachstum	starkes Wachstum	"
3. Typhus	steril	steril	"
4. Paratyphus B.	"	Spur	"
5. B. Gärtner	Spur	mäßiges Wachstum	"
6. Flexner	geringes Wachstum	"	"

Tabelle X.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 400 000	Tellurat- agar Te 1: 400 000	Kontrolle
1. B. Coli	Spur	geringes Wachstum	üpp. Wachst.
2. Typhus	steril	mäßiges Wachstum	"
3. Gärtner	geringes Wachstum	"	"
4. Paratyphus B.	steril	geringes Wachstum	"
5. Flexner	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"

Tabelle XI.

Bakterienart	Tellurit- agar Te 1: 800 000	Tellurat- agar Te 1: 800 000	Kontrolle
1. B. Coli	Spur	mäßiges Wachstum	üpp. Wachst.
2. Typhus	"	"	"
3. Paratyphus B.	"	"	"

Diese Tabellen zeigen uns weiter die starke Beeinflussung der Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe gegenüber Tellurit. Auch bei einer Konzentration von  $Te^{IV}$  1:1 000 000 ist eine sehr deutliche Hemmung des Wachstums der Typhusbacillen zu beobachten. Andere Paratyphus B.- und auch Paratyphus A.-Stämme verhielten sich ebenso. Bemerkenswert ist, daß der Mäusetyphusbacillus (*Bac. typhi murium*) gegen Tellurit die gleiche Empfindlichkeit zeigt. Daß wir es hier mit einer spezifischen Wirkung des Tellurits auf die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe zu tun haben, zeigt uns die Tatsache, daß Sublimat unter den gleichen Versuchsbedingungen bei einer Hg-Konzentration von 1:500000

das Bakterienwachstum gar nicht beeinflußt. Erst bei einer Konzentration von Hg 1:100 000 ist eine vollständige Wachstumshemmung zu beobachten. Carbonsäure übt auch bei einer Konzentration 1:100 000 keinen Einfluß aus. Es sei erwähnt, daß Schimmelpilze (*Penicillium glaucum*, *Mucor*) bei der höchsten Konzentration, die wir angewandt haben  $\text{Te}^{\text{IV}}$  1:865 und  $\text{Te}^{\text{VI}}$  1:1250 ein sehr üppiges Wachstum zeigen.

Auf die hohe Empfindlichkeit der Bacillen der Typhus-Coli-Gruppe komme ich später noch einmal zurück. Zunächst möchte ich die Versuche mit Selenit und Selenat schildern.

Tabelle XII.

Bakterienart	Selenit- agar Se 1: 5000	Selenat- agar Se 1: 5000	Kontrolle
1. X 19 Koch	geringes Wachstum rötlich	starkes Wachstum weiß	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus 280	"	"	"
4. Proteus Jacoby	"	"	"
5. Prodigiosus	geringes Wachstum	starkes Wachstum	"
6. B. Coli	steril	mäßiges Wachstum	"
7. Micr. candidans	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
8. Milzbrand	Spur	"	"
9. Typhus	steril	mäßiges Wachstum	"
10. Paratyphus B.	geringes Wachstum	"	"
11. B. Gärtner	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
12. V. Metschnikoff	"	"	"
13. Staphylokokken	"	"	"
14. Streptokokken	"	"	"
15. Flexner	steril	mäßiges Wachstum	"
16. Pyocyaneus	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"

Tabelle XIII.

Bakterienart	Selenit- agar Se 1: 10 000	Selenat- agar Se 1: 10 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	üpp. Wachst.
2. X 19 Moabit	"	"	"
3. Proteus 280.	"	"	"
4. Proteus Jacoby	"	"	"
5. Prodigiosus	"	"	"
6. B. Coli	Spur	mäßiges Wachstum	"
7. Micr. candidans	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
8. Milzbrand	(rötlich)	"	"
9. Typhus	steril	mäßiges Wachstum	"
10. Paratyphus B.	geringes Wachstum	"	"
11. B. Gärtner	mäßiges Wachstum	starkes Wachstum	"
12. V. Metschnikoff	"	"	"
13. Staphylokokken	"	"	"
14. Streptokokken	"	"	"
15. Flexner	"	mäßiges Wachstum	"

Tabelle XIV.

Bakterienart	Selenit- agar 1:20 000	Selenat- agar 1:20 000	Kontrolle
1. X 19 Koch	starkes Wachstum	starkes Wachstum	üppigstes Wachstum
2. X 19 Moabit	„	„	„
3. Proteus 280	„	„	„
4. Proteus Jacoby	„	„	„
5. Prodigiosus	mäßiges Wachstum	„	„
6. B. Coli	starkes Wachstum	„	„
7. Mic. candidans	„	„	„
8. Milzbrand	mäßiges Wachstum	„	„
9. Typhus	starkes Wachstum	„	„
10. Paratyphus B.	geringes Wachstum	„	„
11. B. Gärtner	starkes Wachstum	„	„
12. V. Metschnikoff	mäßiges Wachstum	„	„
13. Staphylokokken	„	„	„
14. Streptokokken	starkes Wachstum	„	„
15. Flexner	geringes Wachstum	„	„
16. Pyocyanus	mäßiges Wachstum	„	„

Diese Tabellen zeigen uns, daß entsprechend dem Verhalten der tellurigen Säure und Tellursäure die selenige Säure stärker wirksam ist als die Selensäure. Weiter sehen wir, daß die Selenite und die Selenate bei weitem nicht so wirksam sind wie die Tellurite und Tellurate. Bei einer Konzentration von Se 1:20 000 wird das Wachstum der Bakterien kaum beeinflusst, während die entsprechende Te-Konzentrationen (vgl. Tab. 4) die meisten unserer Bakterien stark in ihrem Wachstum hemmen. Überblicken wir diese Versuche, so sehen wir, daß unsere Vermutung, wonach entsprechend dem Verhalten der arsenigen Säure und Arsensäure die Ionen der tellurigen Säure und selenigen Säure wirksamer sind als die Ionen der Tellursäure und Selensäure, sich experimentell begründen läßt.

Diese Befunde stimmen mit den Angaben von Czapek und Weil (a. a. O. S. 451), die gefunden haben, daß an Warm- und Kaltblütern die Selenate und Tellurate schwächer wirken als die Tellurite und Selenite. Nach den Angaben dieser Forscher wirkt Natriumselenit in Mengen von 4 mg pro Kilogramm subcutan Kaninchen, Hunden, Katzen appliziert, binnen wenigen Stunden. Das selensaure Na wirkt erst in der 5fachen Menge in gleicher Weise letal. Bei Fröschen beträgt die Dosis letalis weniger als 1 mg. Beim Natriumtellurit beträgt die Dosis letalis 2 mg. Das tellursaure Na wirkt erst von 1 cg an letal. Bei Warmblütern beträgt die letale Dosis des Natriumtellurits 2 cg pro Kilogramm

Tier, des Natriumtellurats 5 cg. Die Angabe von Bokorny<sup>1)</sup>, daß 0,1 proz. Lösungen von Kaliumtellurit und -tellurat für niedere Tiere und Pflanzen unschädlich sind oder nur schwache Gifte darstellen, bezieht sich auf Infusorien und Diatomeen und entspricht unserem Befund bei den Schimmelpilzen.

Eigentümlich ist, daß die untersuchten Bakterien namentlich vom Tellurition ganz verschieden beeinflußt werden. Die Proteusarten werden bei einer Konzentration von Te 1 : 20 000 bis 1 : 30 000 in ihrer Entwicklung kaum gehemmt. Dieses Verhalten konnte ich während des Krieges im Hygienischen Institut der Universität Greifswald feststellen und habe dann gemeinsam mit E. Friedberger<sup>2)</sup> empfohlen, zur Züchtung der X 19 Bac. bei Fleckfieberkranken Agar mit Tellurzusatz anzuwenden. Ich hatte später<sup>3)</sup> Gelegenheit gehabt, gelegentlich der Fleckfieberepidemien in Pommern im Frühjahr 1918 Blut, Stuhl usw. von vielen Fleckfieberkranken, die ich an Ort und Stelle genau beobachten konnte, auf Telluragar auszustreichen. Die Platten blieben meistens steril und wir können daraus schließen, daß der X 19 Bacillus im Körper der Fleckfieberkranken selten vorkommt.

Als Erreger des Fleckfiebers kommen diese Bacillen nicht in Frage.

Viel interessanter und vielleicht auch praktisch wichtig ist das Verhalten der Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe gegenüber Tellurit. Wir haben gesehen, daß bei einer Konzentration von Te 1 : 800 000 nur ein ganz geringes Wachstum der Typhusbacillen stattfindet. Das legt den Gedanken nahe, mit Telluritverbindungen die Chemotherapie der Typhusinfektionen in Angriff zu nehmen. Zwar ist der Typhus keine lokale Darmerkrankung, vielmehr eine Bakteriämie und schon deswegen durch chemotherapeutische Mittel schwer zu beeinflussen. Leichter wird es vielleicht sein, in Anbetracht der hohen Wirksamkeit der Tellurite Typhusbacillenträger mit Telluriten zu behandeln. Auf die große Bedeutung der Bacillenträger bei der Verbreitung des Abdominaltyphus brauche ich nicht näher einzugehen. Ich erinnere nur an die Erfahrungen bei der Typhusbekämpfung im

<sup>1)</sup> Chem.-Ztg. 1893, S. 1598; 1894, S. 1739.

<sup>2)</sup> Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 30, S. 805.

<sup>3)</sup> Verhandl. d. Berl. Gesellsch. f. öffentl. Gesundheitspflege. Hygien. Rundschau 1919, Nr. 11.

Südwesten des Reichs<sup>1)</sup>. Über die Dosen, die man Bacillenträgern per os geben könnte, besitzen wir bereits einige Anhaltspunkte.

Wöhler, der sich in den fünfziger Jahren des vorigen Jahrhunderts mit der Chemie des Tellurs beschäftigt hatte, veranlaßte seinen Schüler Hansen<sup>2)</sup>, Versuche an Tieren und Menschen mit Tellurverbindungen auszuführen. Ich will nur auf die Versuche an Menschen eingehen. Hansen nahm 7 Tage lang jeden Tag 1 Stunde vor dem Mittagessen Kaliumtellurit per os. In den ersten 4 Tagen wurde je 0,04 g, in beiden folgenden Tagen je 0,05 g und am letzten Tag 0,08 g eingenommen. Die Symptome nach der Applikation waren geringfügig. Es stellte sich eine gewisse Schläfrigkeit ein. Außerdem war verstärkter Appetit zu bemerken. Nach der Einnahme von 0,08 g am 7. Tag wurden Druck in der Herzgegend, Neigung zum Erbrechen und vermehrte Speichelabsonderung beobachtet. Der Atem roch nach Knoblauch, der sich schon in den ersten Minuten nach Einnahme des Salzes einstellte, und 7 Wochen lang andauerte. Eine andere Versuchsperson nahm 0,04–0,05 g Kaliumtellurit ein, es stellte sich leichtes Aufstoßen und verstärkter Appetit ein. Auch hier roch der Atem nach Knoblauch. Wöhler selbst, der speziell mit Telluräthyl ( $C_2H_5$ )<sub>2</sub>Te gearbeitet hatte, roch ebenfalls längere Zeit nach Knoblauch. Als er infolge einer Erkältung in starke Transpiration geriet, wies auch der Schweiß denselben Geruch auf. Ein Wiener Arzt<sup>3)</sup> hat später Kaliumtellurit gegen Nachtschweiße der Phthisiker angewandt. Das Medikament wurde in Pillenform in Mengen von 0,02–0,06 g pro die verabreicht. Als einzige unangenehme Nebenwirkung wurde auch hier Knoblauchgeruch wahrgenommen. Die Kranken nehmen den unangenehmen Geruch nicht wahr<sup>4)</sup>. Eine experimentelle Grundlage für die Wirksamkeit des Tellurits gegen Nachtschweiße der Phthisiker fehlt natürlich. Der obenerwähnte Knoblauchgeruch ist, wie die Untersuchungen von Wöhler und Hansen und später von Hofmeister<sup>5)</sup> gezeigt haben, bedingt durch die Bildung von Tellur-methyl ( $CH_3$ )<sub>2</sub>Te. Mit diesem Knoblauchgeruch wird man bei der Anwendung des Tellurits gegen Typhusinfektionen zu rechnen haben. Andere toxische Wirkungen sind nach Applikation der obenerwähnten Dosen kaum zu erwarten.

Um die Wirksamkeit des Tellurits bei Typhusinfektion zu beweisen, könnte man auch in der Weise vorgehen, daß man nach

<sup>1)</sup> Vgl. P. Uhlenhuth, Abdominaltyphus; im Lehrbuch der Mikrobiologie von E. Friedberger und Pfeiffer, II. Bd., S. 593.

<sup>2)</sup> Annalen d. Chemie u. Pharmazie 86, 208. 1853.

<sup>3)</sup> E. Neusser, Wien. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 23, S. 437.

<sup>4)</sup> Dieses Verhalten kann ich bestätigen. Nach Einnahme von 0,2 g Natriumtellurit fiel bereits nach 45 Min. der Knoblauchgeruch meiner Umgebung auf, während ich den Geruch nicht wahrnehmen konnte. Auch in den nächsten Tagen war der Geruch noch deutlich. Zeitweise fehlt er vollständig. Der Urin zeigt keinen abnormen Geruch.

<sup>5)</sup> F. Hofmeister, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. 33, 199. 1894.

Uhlenhuth und Messerschmidt<sup>1)</sup> bzw. Hailer und Ungermann<sup>2)</sup> Kaninchen durch Injection von Typhusbacillen in die Gallenblase zu Bacillenträgern macht und dann die Wirksamkeit des Tellurits oder Tellurats prüft. Ich beabsichtige, derartige Versuche auszuführen und später darüber zu berichten.

Da die Typhusbacillen, bei den Bacillenträgern, sich bekanntlich in der Gallenblase und den Gallengängen aufhalten, so wäre zunächst zu prüfen, ob nicht die Galle die Wirkung des Tellurits aufhebt. Folgender Versuch soll darüber Auskunft geben:

Zu 5 cem Galle (Kayser-Conradi von E. Merk bezogen) wurden fallende Mengen von Tellurit zugesetzt, so daß Tellurkonzentration von 1:100 000 bis 1:200 000 resultierten. In die tellurhaltige Bouillon beziehungsweise Galle wurde je eine Öse einer 24 stündigen Typhuskultur gebracht. Nach 24 Stunden waren die Bouillon- beziehungsweise Galleröhrchen mit einer Konzentration von Te 1:100 000 vollkommen klar, während die Kontrollen eine starke Trübung zeigten. Bei der Tellurkonzentration 1:200 000 war die Bouillon und auch die Galle ganz leicht getrübt. Von allen Röhrchen wurde nun auf Agar eine Öse ausgestrichen, das Resultat nach 24 Stunden war folgendes: die einer Konzentration von Te 1:100 000 entsprechenden Platten blieben vollkommen steril, während die einer Konzentration von Te 1:200 000 entsprechenden Platten und die Kontrollen ein starkes Wachstum aufwiesen.

Dieser Versuch zeigt uns, daß das Tellurit auch in Gegenwart von Galle seine elektiv antiseptische Wirkung ausübt.

Die Versuche in vitro haben für die Verhältnisse in vivo nur einen bedingten Wert. Über die Resorptionsverhältnisse der Tellurverbindungen haben wir ja noch keine Erfahrungen und wir wissen nicht, ob das Tellurit an die Stellen gelangen wird, wo die Typhusbazillen sich aufhalten. Die Wirksamkeit der Tellurverbindungen für die Behandlung der Bacillenträger kann nur durch Versuche an Menschen und Tieren festgestellt werden.

### Zusammenfassung.

1. Entsprechend dem Verhalten der arsenigen Säure und Arsensäure sind die Ionen der tellurigen und selenigen Säure viel wirksamer als die Ionen der Tellur- und Selensäure.

2. Während Schimmelpilze durch Tellurite und Tellurate kaum in ihrem Wachstum beeinflußt werden, sind Bakterien ver-

<sup>1)</sup> Dtsch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 51, S. 2397.

<sup>2)</sup> Dtsch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 48, S. 2267.



hältnismäßig empfindlich. Am empfindlichsten sind die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe (Typhus, Paratyphus B, Coli). Diese werden noch in Verdünnungen von 1: 800 000 in ihrem Wachstum stark gehemmt. Es wird vorgeschlagen, die Chemotherapie der Typhusinfektionen mit Tellurverbindungen in Angriff zu nehmen und speziell Bacillenträger mit Tellurit oder Tellurat in Mengen von 0,02—0,06 g pro die in geeigneter Weise zu behandeln.

### Druckfehlerberichtigungen.

In Band 105 muß in der Arbeit von Michaelis u. Rothstein auf S. 72 die zweite Formel lauten:

$$k_n = \frac{1}{(n-1)t} [(a-x)^{1-n} - a^{1-n}].$$

Ferner muß es in der ganzen Mitteilung derselben Autoren heißen:  $0,5 \cdot k_{1,5}$  statt  $1,5 \cdot k_{1,5}$ .

In Band 105 soll es in der Abhandlung von Herzig u. Landsteiner auf S. 112 letzte und vorletzte Zeile von unten heißen:  $\text{CH}_2$  an N gebunden statt  $\text{CH}_3$  an  $\text{CH}_3$  gebunden.

## Autorenverzeichnis.

- Andree, W. und H. Wendt. Über den Einfluß einiger darmwirkender Arzneimittel auf die endogene Harnsäureausscheidung. S. 50.
- Baudisch, Oscar und Paul Mayer. Studien über die Reduktion der Nitrite und Nitrate. S. 1.
- Beck, R. s. Verzá. — — Zur Frage der Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Glucose u. Anelektrolyten. S. 246.
- von Euler, Hans u. Arvid Hedelius. Über die Stabilität der  $\alpha$ -Glucose. S. 150.
- Gad Andresen, K. L. Über die Verteilung der Reststickstoffkörper auf Plasma und Körperchen im strömenden Blute. S. 250.
- Hagedorn, H. C. Einige Bemerkungen über die Verteilung der Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma. S. 248.
- Hartwich, G. Eine neue Methode quantitativer Brom-Bestimmung. S. 202.
- Hedelius, Arvid s. von Euler.
- Henneberg, Wilhelm siehe Windisch.
- Herzfeld, E. und R. Klinger. Zur Chemie der Polysaccharide. S. 268.
- Joachimoglu, Georg. Zur Pharmakologie des Selen und Tellurs. S. 300.
- Keller, Rudolf. Die Capillarisation in der Biochemie. S. 43.
- Klinger, R. s. Herzfeld.
- Mayer, Paul s. Baudisch.
- Norgaard, A. Über die Pepsinbestimmung in achylischen Probenmahlzeiten mit besonderer Berücksichtigung der Adsorption von deren festen Teilen. S. 145.
- Salkowski, E. Über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens. S. 191.
- Schweitzer, Dr. Haben Aminosäuren schlechthin Secretincharakter? S. 256.
- Stapp, Wilhelm. Über das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen im Blute von Kranken. S. 60.
- Traube, J. Über die Bedeutung der Magen-Salzsäure und Bemerkungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in den biologischen Wissenschaften. S. 295.
- Verzá, Fritz. Zur Frage des Nachweises der Permeabilitätsänderung des Nerven bei Narkose und Erregung. S. 98.
- — und R. Beck. Die Änderung der Aussalzbareit von Bakterien der Typhusgruppe durch verschiedene Verhältnisse. S. 81.

- Wacker, Leonhard. Kohlen-  
säuredruck oder Eiweißquellung  
als Ursache d. Muskelkontraktion?  
S. 117.
- Walbum, E. L. Über die Was-  
serstoffionenkonzentration einiger  
Standardlösungen b. verschiedenen  
Temperaturen. S. 219.
- Warburg, E. J. Einige Bemerk-  
ungen über die Verteilung von  
Anionen zwischen Blutkörpern und  
Plasma. S. 252.
- Wendt, H. s. Andree.
- Weszecky, Oskar. Unter-  
suchungen über die gruppenweise  
Hämaggglutin. b. Menschen. S. 159.
- Windisch, Wilhelm, Wil-  
helm Henneberg u. Walther  
Dietrich. Über die Einwirkung  
oberflächenaktiver Nonylsäure und  
einiger oberflächenaktiver höherer  
Homologe der Alkoholreihe (Amyl-  
alkohol und Oktylalkohol) auf  
die Hefezelle und die Gärung.  
S. 172.
- Zuntz, H. Über Veränderungen  
der Eitersekretion bei peroraler  
Kochsalzzufuhr. S. 106.

---

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

---

Soeben erschien:

## Die Chirurgie der Brustorgane

Von

**Ferdinand Sauerbruch**

Zugleich zweite Auflage der **Technik der Thoraxchirurgie**  
von F. Sauerbruch und E. D. Schumacher

Erster Band:

## Die Erkrankungen der Lunge

Unter Mitarbeit von

**W. Felix, L. Spengler, L. v. Muralt †, E. Stierlin †, H. Chaoul**

Mit 637, darunter zahlreichen farbigen Abbildungen

Gebunden Preis M. 240.—

---

Soeben erschien:

## Die Erkrankungen der Milz, der Leber, der Gallenwege und des Pankreas

Bearbeitet von

**H. Eppinger, O. Groß, N. Guleke, H. Hirschfeld, E. Ranzi**

(Aus „Enzyklopädie der klinischen Medizin“)

### Die Erkrankungen der Milz

Von Dr. med. **Hans Hirschfeld**

Privatdozent und Assistent am Universitätsinstitut für Krebsforschung der Charité in Berlin

Mit 16 zum größten Teil farbigen Textabbildungen

### Die hepato-lienalen Erkrankungen

(Pathologie der Wechselbeziehungen zwischen Milz, Leber und Knochenmark)

Von Professor Dr. **Hans Eppinger**

Assistent an der I. Medizinischen Klinik in Wien

Mit einem Beitrag:

### Die Operationen an der Milz bei den hepato-lienalen Erkrankungen

Von Professor Dr. **Egon Ranzi**

Assistent an der I. Chirurgischen Klinik in Wien

Mit 90 zum größten Teil farbigen Textabbildungen

Preis M. 80.—

---

Hierzu Sortimentszuschläge

---



**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 erschienen:

## Grundriß der Hygiene

für Studierende, Ärzte, Medizinal- und Verwaltungsbeamte  
und in der sozialen Fürsorge Tätige

von

**Professor Dr. med. Oskar Spitta**

Geheimer Regierungsrat

Privatdozent der Hygiene an der Universität Berlin

Mit 197 zum Teil mehrfarbigen Textabbildungen

Preis M. 36.—; gebunden M. 42.80 (und Sortimentszuschlag)



**Otto E. Kobe, Marburg**

(Bezirk Kassel)

**Spezialfabrik für Laboratoriumsbedarf**

Lieferung schnell, preiswert und gut

**Großes Lager**

**aller Geräte für das chemische, physikalisch-chemische und Hüttenlaboratorium.**

Druck der Spammerschen Buchdruckerei in Leipzig











STACKS

141708

