



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

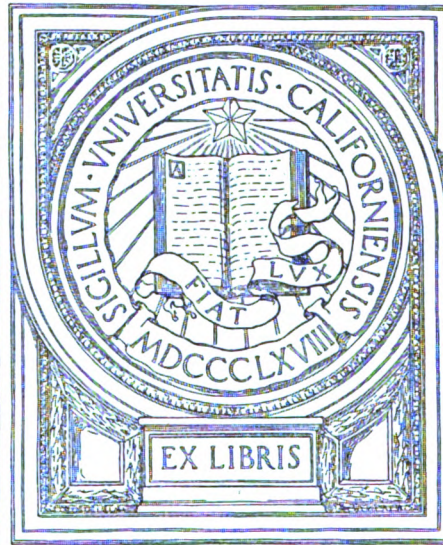
Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können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

UC-NRLF



B 3 778 046

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO



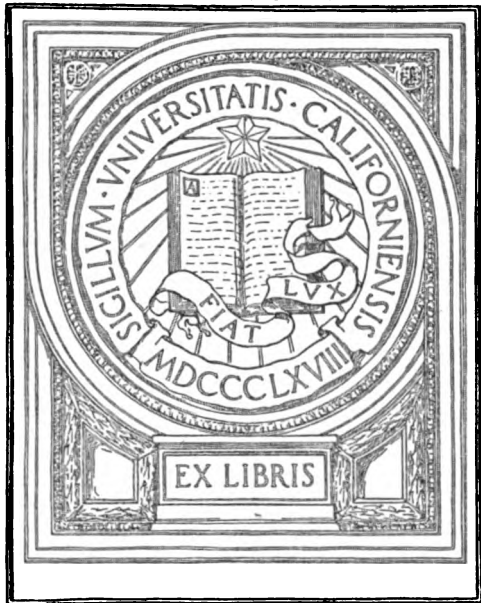
EX LIBRIS

UC-NRLF



B 3 778 046

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. 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. Härt-Budapest, E. Hägglund-Aabo, A. Haffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, B. 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. Mollisch-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, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, A. Scheunert-Berlin, N. Sieber-St. Petersburg, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler-München, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wehlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertundachter Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

Druck der Spamerschen Buchdruckerel in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Schulze, Paul. Membran und Narkose. II. Mitteilung. Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen	1
Brinkman, R. und FrI. E. van Dam. Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I	35
— — Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II	52
— — Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. III	61
— — Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönninger	74
Stosius, Karl und Karl Wiesler. Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure	75
Gerngross, Otto. Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden	82
Bechhold, H. und L. Reiner. Die Stalagmone des Harns	98
Stoklasa, Julius. Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophylllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I	109
— — Der Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II	140
— — Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III	173
Verzár, Fritz und Josef Bögel. Untersuchungen über die Wirkung von akzessorischen Nahrungssubstanzen	185
— — Weitere Untersuchungen über Stoffwechselregulierung bei Bakterien	207
Rosenthal, F. und P. Holzer. Beiträge zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitszuständen	220
Köhler, Erich. Untersuchungen über den Gang der alkoholischen Gärung der Hefe	235
Salkowski, E. Über die Konservierung von Blut mit Allylalkohol	244
Schnabel, Alfred. Über die Bestimmung zell- und keimschädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege. (I. Mitteilung: Optochin)	258
Hymans van den Bergh, P. Muller und J. Broekmeyer. Das lipochrome Pigment in Blutsærum und Organen, Xanthosis, Hyperlipochromämie	279
Schubbauer, Franz. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Die Einwirkung der Kieselsäure auf den tierischen Organismus	304
Breest, Fr. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Über die Resorption der Kieselsäure	309
Holde, D. Über Anhydride höherer Fettsäuren als synthetische Neutralfette	317
Autorenverzeichnis	324

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

JAN 2 1962

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. Durrig-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-Bahnen, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, E. Hagglund-Aabo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolt-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Löwy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Paull-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Plek-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. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappelner-München, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

San Francisco, 22

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundachter Band

Erstes bis drittes Heft

Ausgegeben am 28. August 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. 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.

108. Band.	Inhaltsverzeichnis.	1., 2. u. 3. Heft.
		Seite
Schulze, Paul.	Membran und Narkose. II. Mitteilung. Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen	1
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I	35
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II	52
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. III	61
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönniger	74
Stosius, Karl und Karl Wiesler.	Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure	75
Gerngross, Otto.	Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden	82
Bechhold, H. und L. Reiner.	Die Stalagmone des Harns	98
Stoklasa, Julius.	Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I	109
Stoklasa, Julius.	Der Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II	140
Stoklasa, Julius.	Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III	173

Membran und Narkose.

II. Mitteilung¹⁾.

Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen.

Von
Paul Schulze.

(Aus dem pharmakologischen Universitätsinstitut in Göttingen.)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Mit 24 Abbildungen im Text.

Von besonderer Wichtigkeit für eine physikalisch-chemische Theorie der Narkose sind die Schichten der Zelle, durch die hindurch der Stoffwechsel, die Aufnahme von Nahrungsstoffen und die Abgabe der Stoffwechselprodukte, der Austausch von Ionen, die Wanderung von Wasser und gelösten Stoffen, der Ausgleich von Potentialdifferenzen stattfindet. Denn es liegt seit langem nahe, an diesen Grenzschichten — und unter Grenzschichten der Zelle braucht man sich dabei [vgl. Loewe²⁾] keine differenzierten Zellmembranen vorzustellen, sondern hat hier jede Zwischenschicht zwischen einem Außen und Innen einzubegreifen — auch den Angriffspunkt der narkotisch wirksamen Substanzen zu suchen. Für Betrachtungen über den Wirkungsmechanismus der Narkotika darf man sich diese jeweils wechselnden Stätten des Zellprotoplasmas als Membran in physikalisch-chemischem Sinne vorstellen, denn ihnen kommen sicherlich die zwei Eigenschaften zu, die nach der Definition des Membranbegriffs durch Loewe²⁾ notwendig vorhanden sein müssen an Gebilden, die man als Membran bezeichnen will: 1. bestimmte Form, die gegeben ist durch die Anordnung als Grenzsystem zwischen zwei jederseits anschließenden Nachbarsystemen, und 2. Mehrphasigkeit, Mikroheterogenität in sich selbst. Ermitt-

¹⁾ I. Mitt. siehe diese Zeitschr. 57, 161. 1913.

²⁾ l. c. sub¹⁾.

lungen über Membranfunktionen und deren Änderungen unter Einwirkung äußerer Einflüsse haben also stets Bedeutung auch für die Funktion und Funktionsänderung dieser lebenden Zell-, „membranen“.

Als wesentliche Funktion dieser Membranen wird man gemäß der Definition derselben ihren Einfluß auf die Diffusion von Wasser und gelösten Substanzen durch sie hindurch ansehen dürfen.

Gerade für die physikalisch-chemische Theorie der Narkose ist es daher von großem Interesse, die Diffusionsverhältnisse in den Zellmembranen, ihre Permeabilität für Ionen und die Änderung derselben unter dem Einfluß narkotisierender Substanzen durch Versuche möglichst zu klären.

Die Versuche, die der möglichst genauen Kenntnis der Permeabilitätsänderung in der Narkose dienen, haben die Mehrzahl der Forscher zu der Annahme einer Permeabilitätsherabsetzung durch reversibel, einer Permeabilitätssteigerung durch toxisch, d. h. irreversibel wirkende Narkoticumkonzentrationen geführt und dabei im wesentlichen folgende drei Wege eingeschlagen:

1. Bei der Schwierigkeit, das eigentliche Objekt der Versuche, die isolierte, einzelne Zelle selbst zu fassen und die Permeabilität ihrer Membrangebilde zu untersuchen, beschränkt man sich auf Versuchsmodelle, die Struktur und Funktion der lebenden Zellen, soweit sie bekannt sind, möglichst naturgetreu nachahmen und die Wirkung der verschiedenen äußeren, nach der Willkür des Untersuchers zur Wirksamkeit gelangenden Einflüsse, hier also der Narkotica, sowie auch deren engeren Angriffspunkt in dem Komplex der Membranbestandteile, technisch leichter feststellen lassen. In dieser Absicht wurden von Loewe¹⁾ Messungen der Leitfähigkeitsänderung an künstlichen Lipoidmembranen unter dem Einfluß verschiedener Narkotica ausgeführt und eine Leitfähigkeitsverminderung festgestellt.

Gegen diese Versuchsanordnung ist einzuwenden, daß es sich bei ihr sicherlich um nichts weniger als eine vollkommene Nachahmung der Verhältnisse an biologischen Membranen handelt.

II. Als Versuchsobjekt dienen einzelne isolierte Zellen, soweit man sie als besonders günstige Objekte sich wirklich gut zugänglich machen kann.

So fand Lepeschkin²⁾, daß lebende Spirogyrazellen in Äthernarkose das in Äther unlösliche Methylgrün oder Methylenblau schlechter in sich aufnehmen und speichern als ohne Narkose, während ein Versuch mit in Äther löslichem Bismarckbraun unter denselben Versuchsbedingungen keinen Unterschied zwischen der Färbbarkeit der narkotisierten und der nicht narkotisierten Zellen erkennen ließ. Hierin sah er eine Bestätigung

¹⁾ l. c. S. 1.

²⁾ Lepeschkin, Ber. d. dtsh. bot. Gesellschaft 29. 1911.

seiner Ansicht, daß die Narkotica in schwacher Konzentration, die nicht durch Koagulation der in dem Dispersionsmittel der Plasmahautkolloide enthaltenen Eiweißstoffe den Dispersitätsgrad herabsetzt, die Durchgängigkeit der Plasmahaut für in Wasser gut, in den Narkoticis schlecht lösliche Farbstoffe herabsetzen.

Ebenso stellte er fest¹⁾, daß die Blattepidermiszellen von *Tradescantia discolor* unter dem Einfluß von 0,05 bis 0,12proz. Chloroformwasser oder 1—2 $\frac{1}{2}$ proz. Ätherwasser eine Verminderung der Permeabilität für Salpeter zeigen, während höhere Konzentrationen des Chloroformwassers eine Erhöhung der Permeabilität für den gleichen Elektrolyten bewirkten.

Joël²⁾ benutzte gleichfalls eine Methode, mit der die Durchlässigkeit von Membranbestandteilen der Zelle selbst geprüft werden kann: er fand eine Verzögerung des Eintritts der Hämolyse durch schwach hypotonische Rohrzuckerlösung unter der Einwirkung schwacher Narkoticumkonzentrationen, während starke selbst Hämolyse bewirkten.

Auch Mac Clendon³⁾ benutzte eine Versuchsanordnung, deren Objekt in einzelnen Zellen bestand. Er fand, daß *Fundulusei*, die für gewöhnlich für Salze und Wasser völlig undurchlässig sind, so daß sie in destilliertem Wasser sich nicht verändern, in schwach giftigen $\frac{2}{10}$ -Nitratlösungen die in ihnen enthaltenen Chloride rasch austreten lassen, daß aber Narkotica, in geeigneten, schwachen Konzentrationen zugesetzt, diese Permeabilitätssteigerung durch Nitratlösungen verringern, während höhere Narkoticumkonzentrationen für sich ebenso wirken wie die giftigen Nitratlösungen ohne Narkoticumzusatz.

Dieser zweite Weg läßt die besten Resultate erwarten, da er die einzelne Zelle, das eigentliche Versuchsobjekt, zu fassen gestattet. Trotzdem lassen sich auch gegen ihn Einwände erheben: statt des Einflusses der Narkotica auf die Diffusion normaler Stoffwechselprodukte wird ihr Einfluß auf die Diffusionsverhältnisse von gänzlich zellfremden Farbstofflösungen untersucht. Statt lebender Zellen sind abgestorbene rote Blutkörperchen das Versuchsobjekt. Statt tierischer Zellen werden einseitig differenzierte Pflanzenzellen untersucht. Gegen jede dieser Versuchsanordnungen gleichmäßig erhebt sich der Einwand, daß es sich bei keiner um die undifferenzierte Idealzelle handelt, von der aus ohne Bedenken verallgemeinert werden könnte, noch auch um die in der interessantesten Richtung differenzierten tierischen Zellen, an welchen beim höheren Tier der Angriffspunkt des wichtigsten Narkosephänomens zu suchen ist, nämlich um Nervenzellen. Gelänge es aber auch, gerade Zellen aus dem Verbands des Zellstaates des Mehrzellers isoliert zu fassen, so träfe gerade dann der weitere Einwand zu, daß die untersuchten Zellen während der ganzen Versuchsdauer aus ihrem natürlichen Zusammenhang mit anderen Zellen herausgerissen sind. Diese letzte Schwierigkeit wird bei der dritten Versuchsanordnung vermieden.

¹⁾ Lepeschkin, Ber. d. dtsch. bot. Gesellschaft 29. 1911.

²⁾ Joël, Arch. f. d. ges. Physiol. 161. 1915.

³⁾ Mac Clendon, Amer. Journ. of Physiol. 38. 1915.

III. Die Versuche werden an Zellen vorgenommen, die in natürlichem Zusammenhang mit ihren Nachbarzellen gelassen sind, also an Geweben.

Dieser Versuchsanordnung bediente sich vor allem Winterstein¹⁾. Er untersuchte die Durchgängigkeit von Muskelplatten für Salze und Wasser und ihre Veränderung unter dem Einfluß narkotisierender Substanzen und stellte gleichfalls eine Permeabilitätsverminderung durch reversibel narkotisch wirkende Konzentrationen fest.

Es ist in der Tat vollkommen einwandfrei, Versuchsergebnisse, die zunächst an komplexen Gesamtgeweben gewonnen sind, auf die Parenchymzellen, die Träger der Hauptfunktion dieser Gewebe, zu beziehen, sobald sichergestellt ist, daß der Einfluß des Bindegewebsanteiles der untersuchten Gewebstücke, des Interstitiums, auf die Versuchsergebnisse vernachlässigt werden darf. Aufgabe dieser Arbeit ist es, zu prüfen, mit welchem Rechte dies geschehen darf.

Bei Versuchen, welche die Permeabilitätsänderung in ihrer Gesamtheit, als „Membranen“ verwendeter Organstücke, etwa unter dem Einfluß eines Narkoticums, prüfen und daraus Schlüsse ziehen wollen auf die Änderung der Durchlässigkeit ihres Parenchyms, sind folgende Überlegungen anzustellen:

Ein solches Objekt ist schon in seinem mikroskopischen Bau heterogen im Gegensatz zu einem einheitlichen Membranmaterial, das erst in kolloider Größenordnung seine Mikroheterogenität aufweist. Daher ist es zweckmäßig, sich bei den Erwägungen zunächst einmal auf einen einzelnen Querschnitt der Permeationsbahn zu beschränken, um die Betrachtung nicht ins Ungemessene zu komplizieren. Das ist erlaubt, weil ja auch an dem Objekt selbst gewisse Querschnitte, freilich in häufiger Wiederholung, die Stätten besonderer Erschwerung der Permeation bedeuten. Zu einer weiteren Vereinfachung des Objektes gelangt man folgendermaßen: man stelle sich dasselbe, ohne Rücksicht auf die unendliche Vielgestaltigkeit seiner Einzelheiten, an dem ins Auge gefaßten Querschnitt nur als aus zwei Materialien zusammengesetzt vor: aus Parenchyminseln, die ihrerseits aus einem einheitlichen Material bestehen sollen, und aus ebenfalls in sich gleichmäßig gedachtem Interstitialmaterial, mit welchem jene Parenchyminseln regelmäßig abwechseln sollen. Dann ergeben sich einfach aus dem Massenverhältnis von Parenchym und Interstitium folgende drei Möglichkeiten (vgl. Abb. 1—3).

Den Stoffen, welche die Membran permeieren, bei Leitfähigkeitsmessungen also den Ionen, stehen zur Wanderung durch Muskelzellmembranen entsprechend dem anatomischen Bau derselben im wesentlichen drei Wege zur Verfügung: Entweder sie wandern direkt durch die Muskelfasern, das Parenchym; das interstitielle Gewebe kommt wegen seiner geringen Ausbildung nicht als Weg für sie in Betracht, wie in Abb. 1. Oder gerade umgekehrt: Die Mehrzahl oder sämtliche Ionen wandern durch das interstitielle Gewebe; die Parenchymzellen stehen nur als der Masse nach unbedeutende

¹⁾ Winterstein, Die Narkose, 1911 u. diese Zeitschr. 75. 1919.

Querschnittsanteile, also als sehr kleine und seltene Inseln in der Strombahn, wie in Abb. 2. In extremen Fällen, etwa bei der Aufschwemmung von AgCl in einem Elektrolyten, sind diese Inseln völlig bedeutungslos. Oder drittens: Parenchymzellen und interstitielles Gewebe sind in gleichem Massenverhältnis vorhanden, wie in Abb. 3. Ein vierter Fall, daß nämlich gerade ein Blut- oder Lymphgefäß in dem von den Ionen durchwanderten Bezirk der Muskelmembran in der Wanderungsrichtung der Ionen verläuft, ist nicht berücksichtigt, da solche Verhältnisse die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen je nach der Gestaltung der verschiedenen Bedingungen, z. B. schon je nach dem zufälligen Kontraktions- und Füllungszustand des Gefäßes, ganz atypisch beeinflussen würden. Der Einfluß endlich, den die Gewebsschichten des Peritoneums und der Gelenkkapsel- und Lymphraumauskleidung, welche bei den für diese Arbeit untersuchten Versuchsobjekten in Betracht kommen, auf die Ionenpermeabilität ausüben, kann hier vernachlässigt werden, da er in gleichem Maße die Parenchymzellen und das Interstitialgewebe, m. a. W. nicht den hier ins Auge gefaßten, speziellen Querschnitt betrifft.

Wie die Strombahnen — wir wollen uns zur weiteren Vereinfachung der Erörterung gleich auf die Betrachtung der Ionenpermeabilität, also der elektrolytischen Leitfähigkeit unseres Objektes beschränken — durch diesen Querschnitt verlaufen, hängt nun aber außer von dem in den Abb. 1—3 allein berücksichtigten Massenverhältnis zwischen Parenchymzellen und Interstitialgewebe auch von der „spezifischen Leitfähigkeit“ beider Materialien ab.

Um überhaupt zu einigermaßen fruchtbaren Überlegungen kommen zu können, müssen wir ferner noch von einer weiteren großen Zahl von Komplikationsmöglichkeiten absehen. Zunächst von den Polarisationsinflüssen, die unter der Einwirkung des Narkoticums auftreten dürften. Ferner von den etwa auftretenden Veränderungen im Verhältnis der Beteiligung beider Komponenten des Membranmaterials am Gesamtquerschnitt, wenn etwa die Narkose in der allereinfachsten Weise als Adsorptionsvorgang, also als eine Vermehrung der schlecht permeablen Anteile der Membran am Gesamtquerschnitt sich erweisen sollte. Wir wollen nur einmal den Fall betrachten, daß bei gleichbleibendem Querschnittsanteil beider Komponenten die Durchlässigkeit derselben für Ionen, also ihre spezifische Leitfähigkeit quantitativ verändert wird.

Dann können wir die über den Querschnitt verteilten Parenchyminseln in ihrer Wirkung auf die Ionenpermeabilität der Membran gleichsetzen einem zusammenhängenden, aus demselben Material gebildeten, in sich gleichartigen Querschnittsanteil. Wir können also alle drei obigen schematischen Figuren ableiten aus der folgenden einfacheren Abb. 4.

An dem Querschnitt Q herrschen dann folgende Leitfähigkeitsverhältnisse, wenn wir die Leitfähigkeit des Gesamtquerschnitts als L , die spezifischen Leitfähigkeiten als λ_p und λ_i bezeichnen, und wenn wir ferner die Länge der beiden leitenden Schichten l_p und l_i vernachlässigen, indem wir sie zunächst gleichsetzen, dann aber als konstant aus der Gleichung fortlassen.

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Schulze, Paul. Membran und Narkose. II. Mitteilung. Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen	1
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam. Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I	35
— — Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II	52
— — Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. III	61
— — Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönniger	74
Stosius, Karl und Karl Wiesler. Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure	75
Gerngross, Otto. Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden	82
Bechhold, H. und L. Reiner. Die Stalagmone des Harns	98
Stoklasa, Julius. Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I	109
— — Der Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II	140
— — Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III	173
Verzár, Fritz und Josef Bögel. Untersuchungen über die Wirkung von akzessorischen Nahrungssubstanzen	185
— — Weitere Untersuchungen über Stoffwechselregulierung bei Bakterien	207
Rosenthal, F. und P. Holzer. Beiträge zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitszuständen	220
Köhler, Erich. Untersuchungen über den Gang der alkoholischen Gärung der Hefe	235
Salkowski, E. Über die Konservierung von Blut mit Allylalkohol	244
Schnabel, Alfred. Über die Bestimmung zell- und keimschädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege. (I. Mitteilung: Optochin)	258
Hymans van den Bergh, P. Muller und J. Broekmeyer. Das lipochrome Pigment in Blutserum und Organen, Xanthosis, Hyperlipochromämie	279
Schuhbauer, Franz. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Die Einwirkung der Kieselsäure auf den tierischen Organismus	304
Breest, Fr. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Über die Resorption der Kieselsäure	309
Holde, D. Über Anhydride höherer Fettsäuren als synthetische Neutralfette	317
Autorenverzeichnis	324

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt, MEDICAL CENTER LIBRARY
E. Salkowski - Berlin, A. von Wassermann - Berlin

unter Mitwirkung von

JAN 2 1962

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, E. Hägglund-Jabo, 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. Mollath-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nerst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Paull-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-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. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundachter Band

Erstes bis drittes Heft

Ausgegeben am 28. August 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. 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 1 $\frac{1}{2}$ 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. Neuberger, 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.

108. Band.	Inhaltsverzeichnis.	1., 2. u. 3. Heft.	Seite
Schulze, Paul.	Membran und Narkose. II. Mitteilung. Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen	1	1
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I	35	35
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II	52	52
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. III	61	61
Brinkman, R. und Fr. E. van Dam.	Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönniger	74	74
Stosius, Karl und Karl Wiesler.	Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure	75	75
Gerngross, Otto.	Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden	82	82
Bechhold, H. und L. Reiner.	Die Stalagmone des Harns	98	98
Stoklasa, Julius.	Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I	109	109
Stoklasa, Julius.	Die Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II	140	140
Stoklasa, Julius.	Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III	173	173

Membran und Narkose.

II. Mitteilung¹⁾.

Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen.

Von
Paul Schulze.

(Aus dem pharmakologischen Universitätsinstitut in Göttingen.)

(Eingegangen am 6. April 1920.)

Mit 24 Abbildungen im Text.

Von besonderer Wichtigkeit für eine physikalisch-chemische Theorie der Narkose sind die Schichten der Zelle, durch die hindurch der Stoffwechsel, die Aufnahme von Nahrungsstoffen und die Abgabe der Stoffwechselprodukte, der Austausch von Ionen, die Wanderung von Wasser und gelösten Stoffen, der Ausgleich von Potentialdifferenzen stattfindet. Denn es liegt seit langem nahe, an diesen Grenzschichten — und unter Grenzschichten der Zelle braucht man sich dabei [vgl. Loewe²⁾] keine differenzierten Zellmembranen vorzustellen, sondern hat hier jede Zwischenschicht zwischen einem Außen und Innen einzubegreifen — auch den Angriffspunkt der narkotisch wirksamen Substanzen zu suchen. Für Betrachtungen über den Wirkungsmechanismus der Narkotika darf man sich diese jeweils wechselnden Stätten des Zellprotoplasmas als Membran in physikalisch-chemischem Sinne vorstellen, denn ihnen kommen sicherlich die zwei Eigenschaften zu, die nach der Definition des Membranbegriffs durch Loewe²⁾ notwendig vorhanden sein müssen an Gebilden, die man als Membran bezeichnen will: 1. bestimmte Form, die gegeben ist durch die Anordnung als Grenzsystem zwischen zwei jederseits anschließenden Nachbarsystemen, und 2. Mehrphasigkeit, Mikroheterogenität in sich selbst. Ermitt-

¹⁾ I. Mitt. siehe diese Zeitschr. 57, 161. 1913.

²⁾ I. c. sub¹⁾.

lungen über Membranfunktionen und deren Änderungen unter Einwirkung äußerer Einflüsse haben also stets Bedeutung auch für die Funktion und Funktionsänderung dieser lebenden Zell-, „membranen“.

Als wesentliche Funktion dieser Membranen wird man gemäß der Definition derselben ihren Einfluß auf die Diffusion von Wasser und gelösten Substanzen durch sie hindurch ansehen dürfen.

Gerade für die physikalisch-chemische Theorie der Narkose ist es daher von großem Interesse, die Diffusionsverhältnisse in den Zellmembranen, ihre Permeabilität für Ionen und die Änderung derselben unter dem Einfluß narkotisierender Substanzen durch Versuche möglichst zu klären.

Die Versuche, die der möglichst genauen Kenntnis der Permeabilitätsänderung in der Narkose dienen, haben die Mehrzahl der Forscher zu der Annahme einer Permeabilitätsherabsetzung durch reversibel, einer Permeabilitätssteigerung durch toxisch, d. h. irreversibel wirkende Narkoticumkonzentrationen geführt und dabei im wesentlichen folgende drei Wege eingeschlagen:

1. Bei der Schwierigkeit, das eigentliche Objekt der Versuche, die isolierte, einzelne Zelle selbst zu fassen und die Permeabilität ihrer Membrangebilde zu untersuchen, beschränkt man sich auf Versuchsmodelle, die Struktur und Funktion der lebenden Zellen, soweit sie bekannt sind, möglichst naturgetreu nachahmen und die Wirkung der verschiedenen äußeren, nach der Willkür des Untersuchers zur Wirksamkeit gelangenden Einflüsse, hier also der Narkotica, sowie auch deren engeren Angriffspunkt in dem Komplex der Membranbestandteile, technisch leichter feststellen lassen. In dieser Absicht wurden von Loewe¹⁾ Messungen der Leitfähigkeitsänderung an künstlichen Lipoidmembranen unter dem Einfluß verschiedener Narkotica ausgeführt und eine Leitfähigkeitsverminderung festgestellt.

Gegen diese Versuchsanordnung ist einzuwenden, daß es sich bei ihr sicherlich um nichts weniger als eine vollkommene Nachahmung der Verhältnisse an biologischen Membranen handelt.

II. Als Versuchsobjekt dienen einzelne isolierte Zellen, soweit man sie als besonders günstige Objekte sich wirklich gut zugänglich machen kann.

So fand Lepeschkin²⁾, daß lebende Spirogyrazellen in Äthernarkose das in Äther unlösliche Methylgrün oder Methylenblau schlechter in sich aufnehmen und speichern als ohne Narkose, während ein Versuch mit in Äther löslichem Bismarckbraun unter denselben Versuchsbedingungen keinen Unterschied zwischen der Färbbarkeit der narkotisierten und der nicht narkotisierten Zellen erkennen ließ. Hierin sah er eine Bestätigung

¹⁾ l. c. S. 1.

²⁾ Lepeschkin, Ber. d. dtsh. bot. Gesellschaft 29. 1911.

seiner Ansicht, daß die Narkotica in schwacher Konzentration, die nicht durch Koagulation der in dem Dispersionsmittel der Plasmahautkolloide enthaltenen Eiweißstoffe den Dispersitätsgrad herabsetzt, die Durchgängigkeit der Plasmahaut für in Wasser gut, in den Narkoticis schlecht lösliche Farbstoffe herabsetzen.

Ebenso stellte er fest¹⁾, daß die Blattepidermiszellen von *Tradescantia discolor* unter dem Einfluß von 0,05 bis 0,12proz. Chloroformwasser oder 1—2 $\frac{1}{2}$ proz. Ätherwasser eine Verminderung der Permeabilität für Salpeter zeigen, während höhere Konzentrationen des Chloroformwassers eine Erhöhung der Permeabilität für den gleichen Elektrolyten bewirkten.

Joël²⁾ benutzte gleichfalls eine Methode, mit der die Durchlässigkeit von Membranbestandteilen der Zelle selbst geprüft werden kann: er fand eine Verzögerung des Eintritts der Hämolyse durch schwach hypotonische Rohrzuckerlösung unter der Einwirkung schwacher Narkoticumkonzentrationen, während starke selbst Hämolyse bewirkten.

Auch Mac Clendon³⁾ benutzte eine Versuchsanordnung, deren Objekt in einzelnen Zellen bestand. Er fand, daß *Funduluseier*, die für gewöhnlich für Salze und Wasser völlig undurchlässig sind, so daß sie in destilliertem Wasser sich nicht verändern, in schwach giftigen $\frac{n}{10}$ -Nitratlösungen die in ihnen enthaltenen Chloride rasch austreten lassen, daß aber Narkotica, in geeigneten, schwachen Konzentrationen zugesetzt, diese Permeabilitätssteigerung durch Nitratlösungen verringern, während höhere Narkoticumkonzentrationen für sich ebenso wirken wie die giftigen Nitratlösungen ohne Narkoticumzusatz.

Dieser zweite Weg läßt die besten Resultate erwarten, da er die einzelne Zelle, das eigentliche Versuchsobjekt, zu fassen gestattet. Trotzdem lassen sich auch gegen ihn Einwände erheben: statt des Einflusses der Narkotica auf die Diffusion normaler Stoffwechselprodukte wird ihr Einfluß auf die Diffusionsverhältnisse von gänzlich zellfremden Farbstofflösungen untersucht. Statt lebender Zellen sind abgestorbene rote Blutkörperchen das Versuchsobjekt. Statt tierischer Zellen werden einseitig differenzierte Pflanzenzellen untersucht. Gegen jede dieser Versuchsanordnungen gleichmäßig erhebt sich der Einwand, daß es sich bei keiner um die undifferenzierte Idealzelle handelt, von der aus ohne Bedenken verallgemeinert werden könnte, noch auch um die in der interessantesten Richtung differenzierten tierischen Zellen, an welchen beim höheren Tier der Angriffspunkt des wichtigsten Narkosephänomens zu suchen ist, nämlich um Nervenzellen. Gelänge es aber auch, gerade Zellen aus dem Verbands des Zellensystems des Mehrzellers isoliert zu fassen, so träfe gerade dann der weitere Einwand zu, daß die untersuchten Zellen während der ganzen Versuchsdauer aus ihrem natürlichen Zusammenhang mit anderen Zellen herausgerissen sind. Diese letzte Schwierigkeit wird bei der dritten Versuchsanordnung vermieden.

¹⁾ Lepeschkin, Ber. d. dtsh. bot. Gesellschaft 29. 1911.

²⁾ Joël, Arch. f. d. ges. Physiol. 161. 1915.

³⁾ Mac Clendon, Amer. Journ. of Physiol. 38. 1915.

III. Die Versuche werden an Zellen vorgenommen, die in natürlichem Zusammenhang mit ihren Nachbarzellen gelassen sind, also an Geweben.

Dieser Versuchsanordnung bediente sich vor allem Winterstein¹⁾. Er untersuchte die Durchgängigkeit von Muskelplatten für Salze und Wasser und ihre Veränderung unter dem Einfluß narkotisierender Substanzen und stellte gleichfalls eine Permeabilitätsverminderung durch reversibel narkotisch wirkende Konzentrationen fest.

Es ist in der Tat vollkommen einwandfrei, Versuchsergebnisse, die zunächst an komplexen Gesamtgeweben gewonnen sind, auf die Parenchymzellen, die Träger der Hauptfunktion dieser Gewebe, zu beziehen, sobald sichergestellt ist, daß der Einfluß des Bindegewebsanteiles der untersuchten Gewebstücke, des Interstitiums, auf die Versuchsergebnisse vernachlässigt werden darf. Aufgabe dieser Arbeit ist es, zu prüfen, mit welchem Rechte dies geschehen darf.

Bei Versuchen, welche die Permeabilitätsänderung in ihrer Gesamtheit, als „Membranen“ verwendeter Organstücke, etwa unter dem Einfluß eines Narkoticums, prüfen und daraus Schlüsse ziehen wollen auf die Änderung der Durchlässigkeit ihres Parenchyms, sind folgende Überlegungen anzustellen:

Ein solches Objekt ist schon in seinem mikroskopischen Bau heterogen im Gegensatz zu einem einheitlichen Membranmaterial, das erst in kolloider Größenordnung seine Mikroheterogenität aufweist. Daher ist es zweckmäßig, sich bei den Erwägungen zunächst einmal auf einen einzelnen Querschnitt der Permeationsbahn zu beschränken, um die Betrachtung nicht ins Ungemessene zu komplizieren. Das ist erlaubt, weil ja auch an dem Objekt selbst gewisse Querschnitte, freilich in häufiger Wiederholung, die Stätten besonderer Erschwerung der Permeation bedeuten. Zu einer weiteren Vereinfachung des Objektes gelangt man folgendermaßen: man stelle sich dasselbe, ohne Rücksicht auf die unendliche Vielgestaltigkeit seiner Einzelheiten, an dem ins Auge gefaßten Querschnitt nur als aus zwei Materialien zusammengesetzt vor: aus Parenchyminseln, die ihrerseits aus einem einheitlichen Material bestehen sollen, und aus ebenfalls in sich gleichmäßig gedachtem Interstitialmaterial, mit welchem jene Parenchyminseln regelmäßig abwechseln sollen. Dann ergeben sich einfach aus dem Massenverhältnis von Parenchym und Interstitium folgende drei Möglichkeiten (vgl. Abb. 1—3).

Den Stoffen, welche die Membran permeieren, bei Leitfähigkeitsmessungen also den Ionen, stehen zur Wanderung durch Muskelzellmembranen entsprechend dem anatomischen Bau derselben im wesentlichen drei Wege zur Verfügung: Entweder sie wandern direkt durch die Muskelfasern, das Parenchym; das interstitielle Gewebe kommt wegen seiner geringen Ausbildung nicht als Weg für sie in Betracht, wie in Abb. 1. Oder gerade umgekehrt: Die Mehrzahl oder sämtliche Ionen wandern durch das interstitielle Gewebe; die Parenchymzellen stehen nur als der Masse nach unbedeutende

¹⁾ Winterstein, Die Narkose, 1911 u. diese Zeitschr. 75. 1919.

Querschnittsanteile, also als sehr kleine und seltene Inseln in der Strombahn, wie in Abb. 2. In extremen Fällen, etwa bei der Aufschwemmung von AgCl in einem Elektrolyten, sind diese Inseln völlig bedeutungslos. Oder drittens: Parenchymzellen und interstitielles Gewebe sind in gleichem Massenverhältnis vorhanden, wie in Abb. 3. Ein vierter Fall, daß nämlich gerade ein Blut- oder Lymphgefäß in dem von den Ionen durchwanderten Bezirk der Muskelmembran in der Wanderungsrichtung der Ionen verläuft, ist nicht berücksichtigt, da solche Verhältnisse die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen je nach der Gestaltung der verschiedenen Bedingungen, z. B. schon je nach dem zufälligen Kontraktions- und Füllungszustand des Gefäßes, ganz atypisch beeinflussen würden. Der Einfluß endlich, den die Gewebsschichten des Peritoneums und der Gelenkkapsel- und Lymphraumauskleidung, welche bei den für diese Arbeit untersuchten Versuchsobjekten in Betracht kommen, auf die Ionenpermeabilität ausüben, kann hier vernachlässigt werden, da er in gleichem Maße die Parenchymzellen und das Interstitialgewebe, m. a. W. nicht den hier ins Auge gefaßten, speziellen Querschnitt betrifft.

Wie die Strombahnen — wir wollen uns zur weiteren Vereinfachung der Erörterung gleich auf die Betrachtung der Ionenpermeabilität, also der elektrolytischen Leitfähigkeit unseres Objektes beschränken — durch diesen Querschnitt verlaufen, hängt nun aber außer von dem in den Abb. 1–3 allein berücksichtigten Massenverhältnis zwischen Parenchymzellen und Interstitialgewebe auch von der „spezifischen Leitfähigkeit“ beider Materialien ab.

Um überhaupt zu einigermaßen fruchtbaren Überlegungen kommen zu können, müssen wir ferner noch von einer weiteren großen Zahl von Komplikationsmöglichkeiten absehen. Zunächst von den Polarisations-einflüssen, die unter der Einwirkung des Narkoticums auftreten dürften. Ferner von den etwa auftretenden Veränderungen im Verhältnis der Beteiligung beider Komponenten des Membranmaterials am Gesamtquerschnitt, wenn etwa die Narkose in der allereinfachsten Weise als Adsorptionsvorgang, also als eine Vermehrung der schlecht permeablen Anteile der Membran am Gesamtquerschnitt sich erweisen sollte. Wir wollen nur einmal den Fall betrachten, daß bei gleichbleibendem Querschnittsanteil beider Komponenten die Durchlässigkeit derselben für Ionen, also ihre spezifische Leitfähigkeit quantitativ verändert wird.

Dann können wir die über den Querschnitt verteilten Parenchyminseln in ihrer Wirkung auf die Ionenpermeabilität der Membran gleichsetzen einem zusammenhängenden, aus demselben Material gebildeten, in sich gleichartigen Querschnittsanteil. Wir können also alle drei obigen schematischen Figuren ableiten aus der folgenden einfacheren Abb. 4.

An dem Querschnitt Q herrschen dann folgende Leitfähigkeitsverhältnisse, wenn wir die Leitfähigkeit des Gesamtquerschnitts als L , die spezifischen Leitfähigkeiten als λ_p und λ_i bezeichnen, und wenn wir ferner die Länge der beiden leitenden Schichten l_p und l_i vernachlässigen, indem wir sie zunächst gleichsetzen, dann aber als konstant aus der Gleichung fortlassen.

Neben dieser Voraussetzung

$$l_p = l_i = \text{const.}$$

soll, wie oben bereits erörtert, nicht nur

$$q_p + q_i = \text{const.};$$

sondern zunächst auch $q_p = \text{const.}$ und $q_i = \text{const.}$ gelten.

Dann gilt zunächst:

$$L = \lambda_p \cdot q_p + \lambda_i \cdot q_i. \quad (1)$$

Die unter dem Einfluß des Narkoticums zustandekommende, der Messung unter den oben erwähnten Vorbehalten und unter Berücksichtigung der oben angeführten Vereinfachungen zugängliche Veränderung von L wäre dann:

$$\Delta L = q_p \cdot \Delta \lambda_p + q_i \Delta \lambda_i. \quad (2)$$

Der Anteil, den $\Delta \lambda_p$, der Einfluß des Narkoticums auf die spezifische Leitfähigkeit des Parenchyms, d. h. also die der näheren Untersuchung unterzogene Zellnarkose, an dem Messungsergebnis hat, ist um so größer, je kleiner q_i oder auch $\Delta \lambda_i$ ist.

Nehmen wir den allgemeinsten Fall I, daß

$$\lambda_p = n \cdot \lambda_i,$$

so wird

$$\Delta L_I = \Delta \lambda_i (n \cdot q_p + q_i). \quad (1)$$

Im einfachsten Falle II, wenn nämlich

$$\lambda_p = \lambda_i,$$

ist

$$\Delta L_{II} = \Delta \lambda_i (q_p + q_i). \quad (II)$$

Beide Fälle unterscheiden sich, vorausgesetzt, daß es sich jedesmal um dasselbe Interstitialmaterial handelt, um

$$\Delta L_I - \Delta L_{II} = \Delta \lambda_i (n \cdot q_p + q_i - q_p - q_i) = (n - 1) q_p \cdot \Delta \lambda_i.$$

Bei der Voraussetzung, daß I stets aus dem gleichen Material besteht, ist auch λ_i und damit zugleich $\Delta \lambda_i$ unter dem gleichen Narkoticumeinfluß stets unveränderlich, kann also als K , als konstant in die Gleichung eingesetzt werden, so daß diese nunmehr lautet:

$$\Delta L_I - \Delta L_{II} = K \cdot q_p (n - 1). \quad (3)$$

Dies bedeutet also zunächst, daß sich jeder Fall einer besondersartigen Beteiligung des Parenchyms an dem Vorgang der Narkose des ganzen Gewebes von dem Falle II, in welchem das Parenchym keinen Unterschied gegenüber dem Interstitialgewebe hinsichtlich seiner Beeinflussung durch das Narkoticum bei der Gewebsnarkose aufweist, — denn wenn $\lambda_p = \lambda_i$, darf auch $\Delta \lambda_p = \Delta \lambda_i$ angenommen werden, — dadurch unterscheidet, daß die Querschnittsbeteiligung von P maßgeblich ist für die Größe dieses Unterschiedes.

Stellen wir die ganzen Betrachtungen für die Querschnittseinheit der Gesamtmembran an, bei der also

$$q_p + q_i = 1,$$

dann wird jede Vergrößerung des Querschnittsanteils von I über $q_i = 0$ hinaus den Einfluß von n herabsetzen gegenüber dem technisch bequemsten Fall, in dem $q_p = 1$ ist. Größer als 1 kann es ja nach der Voraussetzung

$$q_p + q_i = \text{const.}$$

nicht werden¹⁾).

Dieser günstigste Einzelfall kann, wie oben erwähnt, nie verwirklicht sein, außer wenn es gelingt, eine einzelne Zelle als Objekt zwischen die Elektroden zu bekommen. Gerade das ist aber von jedem vernachlässigt, der mit Geweben dasselbe erreichen zu können glaubt. Selbst wenn wir aber diese vereinfachende Annahme $q_i = 0$ machen, dann wird

$$\Delta L_I - \Delta L_{II} = K \cdot (n - 1),$$

es ergibt sich also dann immer noch, daß die Größe n zu beachten ist.

Diese Überlegungen bestätigen die von vornherein sicher stehende Tatsache, daß in dem denkbar uninteressantesten Versuchsfalle, in dem beide Membranen nur aus Interstitialgeweben bestehen, gleiche Beschaffenheit des Membranmaterials und gleichen Querschnitt der untersuchten Flächen vorausgesetzt, unter dem Einfluß desselben Narkoticums diese zwei Membranen dieselbe Änderung der Leitfähigkeit ergeben werden, ein Ergebnis, das auch erhalten wird, wenn man in Gleichung (3) ... $n = 1$ setzt.

Gering ist der Unterschied des Falles I gegenüber dem Falle II, wenn $n < 1$, d. h. in allen Fällen, in denen sich das Parenchym nur in geringerem Maße an der Gesamtleitfähigkeit, also auch an Änderungen derselben beteiligen kann als das Interstitialgewebe. Nur wenn $n > 1$, beginnt das Ergebnis solcher Messungen an ganzen komplexen Geweben für die Frage nach dem Narkoticumeinfluß auf die parenchymatösen, funktionell wichtigen Membrananteile interessant zu werden.

Es ergibt sich also auf dem Umwege über die vorstehenden Betrachtungen, daß die Zahl n erstens möglichst genau bekannt und zweitens größer als 1 sein muß, wenn man aus den Versuchsergebnissen an Gewebsmembranen auf die Beeinflussung ihrer parenchymatösen, cellulären Bestandteile schließen will. Diese Voraussetzung macht jeder, der Resultate, die an bindegewebsdurchsetzten Organmembranen gewonnen wurden, auf deren Parenchym bezieht. Aber er macht, wie hier gezeigt ist, damit auch einen wichtigen Anteil dessen, was erst zu beweisen wäre, zur Voraussetzung.

Aus diesen Überlegungen heraus wurde als Ziel gesetzt, Organmembranen verschiedenen Parenchymgehalts miteinander zu vergleichen und zu prüfen, inwieweit gemäß dem wechselnden Anteil des Parenchyms an der Gesamtmasse bzw. am

¹⁾ Ist umgekehrt in

$$q_p + q_i = 1$$

$$q_i = 1, \text{ also } q_p = 0,$$

dann folgt aus Gleichung (3)

$$\Delta L_I - \Delta L_{II} = K \cdot (n - 1) \cdot 0,$$

$$\Delta L_I = \Delta L_{II}.$$

Gesamtquerschnitt etwa Verschiedenheiten in der Beeinflußbarkeit solcher Gewebstücke durch Narkotica zur Beobachtung kommen.

Zwar gibt es keine geeigneten und völlig zuverlässigen Anhaltspunkte zur Feststellung der oben erörterten Größe n für die verschiedenen Gewebe des Körpers, es wurde aber nach dem Vorgang Wintersteins von der Annahme hohen Parenchymgehalts der Froschmuskeln ausgegangen und Membranen aus solchen verglichen mit Membranen aus einem Gewebe, das praktisch nur als aus Bindegewebe und elastischen Fasern bestehend angesehen werden kann. Diese Membranen wurden dem Ligamentum patellae und der in dieses übergehenden Ansatzsehne des Musculus rectus femoris des Frosches entnommen. Als Muskelmembranen, bei denen der Parenchymanteil stark überwiegen soll, wurden kleine Stückchen aus den zartesten Teilen des Musculus transversus abdominis von Temporarien oder Esculenten verwandt. Endlich wurden noch Stückchen aus dem Musculus rectus abdominis von Fröschen im Zusammenhang mit der ventralen und dorsalen Aponeurose untersucht, ein Objekt, an dessen Zusammensetzung sich Parenchym und Interstitium hintereinandergeschaltet beteiligen. Die Verteilungsverhältnisse zwischen Parenchym und Interstitium entsprechen bei dem zuerst angeführten Versuchsobjekt annähernd den Verhältnissen der Abb. 2, bei dem zweiten annähernd der Abb. 1, bei dem dritten etwa der Abb. 3.

Als Methode zur Prüfung der Permeabilitätsänderung dieser Gebilde wurde die Leitfähigkeitsmessung in der auch von Loewe benutzten Anordnung gewählt. Zur Begründung dieser Wahl sei folgendes angeführt:

Bei genauer Betrachtung wird auch in der Wintersteinschen Versuchsanordnung nicht mit ganz physiologischen und eindeutigen Verhältnissen gearbeitet. Es wird einerseits die Quellung in destilliertem Wasser, andererseits die Durchlässigkeit solcher gequollenen Membranen für Wasser und Salze untersucht. Gerade die Hineinziehung des Quellungszustandes schafft eine neue und, insoweit er durch die Versuchsbedingungen wechselt, unnötige Verwicklung. Bei allen Permeabilitätsvorgängen durch Membranen handelt es sich zunächst einmal um die Beweglichkeit des Lösungsmittels an den verschiedenen Stellen des mikroheterogenen Systems. Dieses selbst an verschiedenen Stellen verschieden bewegliche Material bildet dann die Schiene, auf der die wiederum wechselnd bewegliche Fülle der gelösten Stoffe permeiert. Bei der Frage der Beweglichkeit des Lösungsmittels einzusetzen, hat also alle Berechtigung der radikalere Problemstellung. Aber man muß dann auch mit Beweglichkeitsbedingungen arbeiten, wie sie am physiologischen Substrat vorliegen. In einem unphysiologischen Quellungszustand befindliche Membranen wählen, deren Lösungsmittel also eine abnorme Beweglichkeit besitzt, heißt, sich von der Ausgangsposition entfernen. Und darum sind die Bedenken gegenüber dieser Wahl der Versuchsanordnung nicht geringer als gegenüber einer solchen, die bewußt

nur die Beweglichkeit eines der sekundär wandernden Stoffe ins Auge faßt. Nimmt man als solchen einen Farbstoff, wie z. B. Lepeschkin, so entfernt man sich freilich mit diesen unphysiologischen Wanderungsstoffen gleichfalls unnötig von den physiologischen Verhältnissen. Aber die Ionendurchlässigkeit der Membranen zu wählen, die bei dieser Arbeit allein in Betracht gezogen wurde, erscheint nach alledem immerhin als eine angemessene Beschränkung.

Eine andere, für unsere Versuchsanordnung wichtige Frage ist von Gildemeister eingehend untersucht worden, ob nämlich mit der Kohlrauschschen Leitfähigkeitsmethode nun eigentlich der Widerstand, die Selbstinduktion oder die Polarisierung der untersuchten Membranen und deren Änderung bei Änderung der Zusammensetzung des Mediums gemessen wird¹⁾.

Die Resultate Gildemeisters sind entscheidend für die Schlüsse, die man aus dem Ausfall von solchen Leitfähigkeitsmessungen mit der bisherigen Methode auf das Wesen der Membranveränderung ziehen darf. Aber im Augenblick besteht die Aufgabe nur darin, die mit derselben Methode an drei verschiedenen Versuchsobjekten gewonnenen Resultate miteinander zu vergleichen, ganz unabhängig davon, was diese Resultate eigentlich bedeuten. Letzten Endes sind die Ergebnisse allerdings nur vergleichbar unter der Voraussetzung, daß an den drei verschiedenen Versuchsobjekten mit derselben Methode stets dieselbe Größe — nach Gildemeister die Polarisierung — gemessen wird, nicht etwa z. B. an den rein bindegewebigen Membranen die Polarisierung, an den vorzugsweise muskulären Membranen dagegen die Selbstinduktion.

Diese Voraussetzung ist nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse keineswegs erfüllt. Aber wenn man für den rein orientierenden Zweck der vorliegenden Untersuchung diesen Punkt zurückstellt, so darf man wohl ohne Rücksicht auf den prinzipiellen Einwand Gildemeisters einmal zu dem Vergleich dessen schreiten, was sich mit der Kohlrauschschen Versuchsanordnung für Membranen verschiedener Herkunft und Beschaffenheit ergibt.

Untersucht wurden Membranen des Musculus transversus und rectus abdominis und des Ligamentum patellae von Eskulenten und Temporarien, in zwei oder drei Versuchen auch die von Muskelgewebe makroskopisch ganz befreite Aponeurose des Musculus rectus abdominis.

Über die Art und Konzentration der angewandten Narkotica gibt die folgende Tabelle I eine Übersicht:

¹⁾ Gildemeister, Elektrischer Widerstand, Capacität und Polarisierung an der Haut. Arch. f. d. ges. Physiol. 171. 1919.

Tabelle I.

Narkoticum	Konzentration
Alkohol	5,0 %
„	1,25 %
Chloroform	0,1 %
Äther	3,0 %
„	1,5 %
Urethan	1,0 %
„	0,75 %
„	0,375 %
Isopral	1,0 %
„	0,5 %
„	0,25 %

Im einzelnen entspricht die Versuchsanordnung der von Loewe gegebenen Beschreibung¹⁾. Zur Unterbringung der Membranen und der sie beiderseits umspülenden Ringerlösung dienten die auch schon von ihm benutzten U-förmig gebogenen Glasröhrchen, deren Hälften mittels zweier Metallspiralen so aneinander gepreßt wurden, daß die Membranen fest zwischen ihnen saßen und die Durchbohrungen der Röhrchen möglichst genau aufeinander eingestellt waren.

Die Membranen selbst wurden derart gewonnen, daß aus einem so eben getöteten Frosch die zu prüfenden Gewebstückchen herausgeschnitten wurden; sie wurden entweder sofort in die U-Röhrchen eingespannt, die dann sogleich beiderseits mit Ringerlösung gefüllt wurden, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, daß keine Luftblasen an den Membranen oder in dem horizontal verlaufenden Teil der U-Röhrchen haften blieben; oder die Gewebstückchen wurden für kurze Zeit in Ringerlösung eingelegt und erst dann zu Messungen eingespannt. Nachdem so von demselben Tier je ein Stückchen aus dem Musculus rectus und Transversus abdominis und dem Ligamentum patellae eingespannt und die Röhrchen mit Ringerlösung gefüllt worden waren, wurde zunächst der Widerstand dieser drei Membranen in Ringerlösung bestimmt, und zwar durch zwei oder drei durchschnittlich 15—20 Minuten auseinanderliegende Messungsreihen, die aus je drei nacheinander, aber völlig getrennt voneinander vorgenommenen Ablesungen bestanden. Hierauf wurde die Ringerlösung entfernt und ersetzt durch Ringerlösung, die eins der oben angeführten Narcotica in der dort angegebenen Konzentration enthielt. In der Regel wurde in einer Versuchsreihe dasselbe Narkoticum gleichzeitig an den drei verschiedenen Membranarten untersucht. Nach verschieden langer Einwirkungsdauer wurde die narkoticumhaltige Ringerlösung durch narkoticumfreie ersetzt und zunächst wieder der Widerstand der Membran in Ringerlösung mehrfach bestimmt, worauf eine zweite, sehr selten noch eine dritte Narkose folgte.

¹⁾ Vgl. S. 8 bzw. 1.

Nach Möglichkeit wurde die Einwirkungsdauer des Narkoticums so lang gewählt, bis Gleichgewicht eingetreten war. Die Kurven zeigen aber, daß dieser Zustand in annehmbaren Zeiträumen meist nur annäherungsweise zu erreichen war.

Als Fehlerquellen für die beobachteten Leitfähigkeitsänderungen der Membranen kommen in Betracht Temperatureinflüsse. Einflüsse des Narkoticums auf die membranlosen Anteile des Systems, also auf Ringerlösung allein, und interkurrierende Absterbeerscheinungen an den Membranen.

Die Sicherung der Temperaturkonstanz durch Verwendung eines Thermostaten war durch die Konstruktion der Membrangefäße unmöglich gemacht. Die Thermostatenflüssigkeit hätte die Ränder der eingespannten Gewebemembranen umspült und so unübersehbare Störungen geschaffen. Abdichtung der Membranränder gegen diese Schädigung ist umständlich, unsicher und zeitraubend; daher schien es ein geringerer Fehler, sich gegen Temperatureinflüsse auf andere Weise zu sichern. Die Messungen wurden in einem möglichst gleichmäßig temperierten Raum vorgenommen, alle Lösungen zuvor auf die Temperatur dieses Raumes gebracht und alle Objekte gegen Wärmestrahlen geschützt. Außerdem wurde die Temperatur möglichst oft während der Versuche abgelesen. Demgemäß kommen Temperaturschwankungen innerhalb der einzelnen Versuchsreihen, wie aus den Kurven zu ersehen ist, kaum jemals vor. Gleichwohl wurde unter Zugrundelegung der bei verschiedenen Temperaturen vorgenommenen Widerstandsmessungen der reinen Ringerlösung in einer ersten Reihe von Vorversuchen der Temperaturkoeffizient ihrer Leitfähigkeit berechnet nach der von Kohlrausch und Holborn¹⁾ angegebenen Formel

$$c = \frac{1}{w_1} \cdot \frac{w_0 - w_1}{t_1 - t_0},$$

wobei w_0 den Ausgangswiderstand bei der Temperatur t_0 , w_1 den Endwiderstand bei der Temperatur t_1 bezeichnet, die höher ist als t_0 . Die Werte von w und t , mit deren Hilfe c berechnet wurde, sind in der folgenden Tabelle II angegeben.

Tabelle II.

t	w
6°	4917 Ohm
7°	4820 „
18,2°	3740 „

Aus diesen Zahlen ergibt sich für c der Wert 0,022975.

Während sich in breiteren Temperaturbereichen die c -Kurve nicht mehr als linear darstellt, kann c für das kleine Temperatur-

¹⁾ Siehe Kohlrausch und Holborn, Die Leitfähigkeit der Elektrolyte.

intervall, um das es sich bei den vorliegenden Messungen handelt, als konstant angesehen werden.

Dem entspricht, daß die graphisch ermittelte Temperaturkurve, die sich in Abb. 5 (S. 28) eingezeichnet findet, von den ermittelten Einzelwerten nur geringe Abweichungen — höchstens 5% — zeigt. Diese Kurve konnte daher bezugsweise zugrunde gelegt werden.

Die Widerstandswerte, von denen bei Zeichnung dieser Kurve ausgegangen wurde, wurden so ermittelt, daß die Mittelwerte zahlreicher Messungen um die beiden Grenztemperaturen 7 und 19° C herum rechnerisch bestimmt, in ein Koordinatensystem eingetragen und dann durch eine Gerade verbunden wurden.

Der Einfluß der Narkotica auf die Leitfähigkeit von membranlosen Ringerlösungen wurde in einer zweiten Reihe von Vorversuchen ermittelt. Das Ergebnis wird durch die graphische Darstellung (Abb. 6 u. 7, S. 28) veranschaulicht. Bei konstanter Temperatur wurde abwechselnd der Widerstand einer reinen Ringerlösung bestimmt und die Widerstandsänderung, die eintrat, wenn sie ersetzt wurde durch eine Ringerlösung mit Narkoticum bestimmter Konzentration. Die Maximal- und Mipimalwerte der einzelnen Messungen liefern die beiden eingezeichneten Kurven.

Auf der Grundlage dieser Vorversuche über die Wirkung des Narkoticums auf Ringerlösung allein, die alle übereinstimmend zu dem Ergebnis einer Leitfähigkeitsverminderung durch jedes der geprüften Narkotica in jeder geprüften Konzentration geführt hatten, war nun eine Korrektur an den Ergebnissen der Hauptversuche erforderlich:

Auf den Kurven dieser Versuche ist dem Einfluß der Konzentration des Narkoticums auf die Widerstandsänderung auf folgende Art Rechnung getragen.

Es seien in den anschließenden Ausführungen als Abkürzung gestattet

- für ein System mit Ringerlösung L ,
- für ein System mit Ringerlösung und Narkoticum L_N ,
- für ein System mit Membran in Ringer M ,
- für ein System mit Membran in Ringer und Narkoticum M_N .

Ferner seien die Widerstandswerte für die reine Ringerlösung vor und nach der Prüfung mit Narkoticum mit W_L , die Widerstände der Systeme L_N mit W_{L_N} bezeichnet.

$$\frac{W_{L_N} - W_L}{W_L} \cdot 100$$

bedeutet demnach die prozentische Widerstandserhöhung reiner Ringerlösung.

Unter Berücksichtigung der höchsten und der Durchschnittswerte von je drei Ablesungen einer Messungsreihe wurden jeweils ein Maximal- und ein Durchschnittswert dieser Prozentualangabe berechnet; diese Prozentwerte sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

$$\frac{W_{L_N} - W_L}{W_L} \cdot 100.$$

Narkoticum	Konzentration	Maximum	Mittel
Äther	1,5	5,15	3,75
„	1,0	2,94	2,31
„	0,5	2,73	2,09
Chloroform	0,1	3,25	1,99
Alkohol	10	40,75	37,60
„	5	16,40	14,82
„	2,5	12,56	11,62
„	1,25	6,90	5,495
Urethan.	3,0	8,36	7,04
„	1,5	3,16	2,045
„	1,0	2,318	1,675
„	0,75	2,526	1,786
„	0,50	1,904	1,108
„	0,375	1,585	0,792
Isopral	1,0	3,780	2,940
„	0,5	2,310	1,045
„	0,25	3,075	1,940

Wie man sieht, handelt es sich schon bei diesen Werten um Approximativzahlen: die im allgemeinen hinreichend gleichmäßig abfallenden Reihen für die verschiedenen Konzentrationen des gleichen Narkoticums zeigen nur bei Urethan — 1,0% und 0,75% — und Isopral — 0,5% und 0,25% — eine Unstimmigkeit. Eine feste gesetzmäßige Beziehung zwischen Abnahme der Konzentration und Abnahme der Leitfähigkeitsverminderung läßt sich aus den gewonnenen Resultaten nicht ableiten.

Unter Zugrundelegung der Zahlen dieser Tabelle erhielt man die Widerstandswerte, die im Laufe der Membranversuche gemessen worden wären, wenn die Widerstandserhöhung nach Zufügen des Narkoticums allein auf dessen Einfluß auf die Ringerlösung zurückzuführen wäre. Diese Werte sind als Kreise in die Kurven 8—21 eingetragen und durch die kurz gestrichelten, bzw. die kurz-lang gestrichelten Linien verbunden (vgl. auch Tab. IV). Die ersteren begrenzen den ungünstigsten Maximalbereich dieses Einflusses des Narkoticums auf Ringerlösung allein, der unter Zugrundelegung der höchsten der drei Ablesungen in dem System *M* und des Maximalwertes der Tabelle III berechnet ist. Die letzteren geben den Durchschnittswert an, der sich als Mittel ergibt, wenn einmal die höchste, einmal die niedrigste Ablesung in dem System *M* mit dem Durchschnittsprozentualwert der Tabelle III multipliziert wird.

Von Wichtigkeit für die Beurteilung der Versuchsergebnisse sind endlich noch die Absterbeerscheinungen, soweit sie in den vorliegenden Leitfähigkeitsmessungen zum Ausdruck kommen.

Sie ließen sich am deutlichsten beobachten, wenn unmittelbar nach der Tötung des die Versuchsobjekte liefernden Tieres die zu untersuchenden

Membranen, hier also ein Stückchen des *Musculus transversus* und des *Ligamentum patellae* dem Frosch entnommen, sofort eingespannt und namentlich anfangs während der nächsten 6—8 Stunden möglichst häufig gemessen wurden (Kurven 22 u. 23, S. 33).

Ein Vergleich der beiden Kurven zeigt folgendes: der *Musculus transversus* weist zunächst eine nicht unbedeutende Steigerung des Widerstandes auf. In etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden ist das Maximum der bei dem Versuch festgestellten Widerstandszunahme erreicht mit einer Widerstandssteigerung um 8,19% des zuerst gemessenen Widerstandswertes. Da der Frosch bis kurz vor seiner Tötung in einem geheizten Zimmer stand, die Messung aber in Ringerlösung und bei einer Zimmertemperatur von nur 6° C stattfand, könnte an eine Erhöhung des Widerstandes durch die Abnahme der Temperatur gedacht werden. Dem entspräche, daß eine solche Anfangssteigerung des Widerstandes für gewöhnlich nicht zur Beobachtung kam.

Im weiteren Verlauf zeigt sich dann eine bis zur 9. Stunde sehr steil, später flacher verlaufende Abnahme des Widerstandes. In acht Stunden 40 Minuten beträgt sie 9,75% des vorherigen Maximums. Das Minimum ist nach $1\frac{1}{2}$ Tagen mit ca. 17% Abnahme erreicht. Diese Absterbeerscheinung läßt sich auch an vielen Beispielen der Kurven 8—21 verfolgen, wo die Widerstandsmessungen der rein muskulären Membranen in reiner Ringerlösung mit der Zeit ständig absinkende Widerstandswerte ergeben, obwohl sie zuvor mit sicher reversibel, nicht toxisch wirkenden Narkotikumkonzentrationen behandelt wurden. Diese Leitfähigkeitsvermehrung ist wohl auf eine Permeabilitätssteigerung durch Zustandsänderung der Plasmakolloide zurückzuführen.

Die nachträgliche Widerstandserhöhung am dritten und vierten Tag ist von geringerem Interesse, weil sie geringeren Umfang besitzt und weil um diese Zeit die Membran meist nicht mehr zu Narkoseversuchen verwendet wurde. Zu ihrer Erklärung wird wohl in erster Reihe an bakterielle Prozesse — Bildung permeabilitätsvermindernder und porenverschließender Rasen — zu denken sein.

Im Vergleich hiermit ergibt die Kurve des *Ligamentum patellae* folgendes:

Gleichfalls nach etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden ist das Maximum der bei dem Versuch beobachteten Widerstandszunahme erreicht bei einer Steigerung des Widerstandes um 2,38% des Anfangswertes.

Dieser anfängliche Anstieg des Widerstandes liegt beim *Lig. pat.* weniger steil als beim Muskel. Nach 10 Minuten z. B. hat der Widerstand des *Ligamentum patellae* um 0,198% des Anfangswertes zugenommen, der des *Musculus transversus* bereits um 3,34% des Anfangswiderstandes. In 8 Stunden 40 Minuten beträgt die daran sich anschließende Widerstandsabnahme 2,325% des vorherigen Maximalwertes; das Minimum ist ebenfalls nach $1\frac{1}{2}$ Tagen mit ca. 11% erreicht.

Die Kurve des *Lig. pat.* unterscheidet sich also von der des Muskels durch eine wesentlich schwächere und sich langsamer ausbildende anfängliche Widerstandszunahme und durch eine wesentlich geringere und erst bedeutend später einsetzende Widerstandsabnahme im Verlauf der zwei ersten Tage.

Nähme man, wie eben bei den Muskelmembranen erörtert, die Abkühlung des Organstückes des zuvor im geheizten Zimmer befindlichen Frosches zur Erklärung für den anfänglichen Anstieg, so bliebe der Unterschied des Lig. pat. gegenüber der höheren Steigerung des Anfangswiderstandes des Muskels sehr auffällig. Übrigens ist auch bei den Ligamenta patellae diese Steigerung in analogen Versuchen nicht beobachtet worden.

Das deutlich stärkere und frühere Einsetzen dieser anfänglichen und durch den Einfluß der Temperatur allein kaum zu erklärenden Widerstandssteigerung bei der parenchymreichen, bindegewebsarmen Membranart ladet dazu ein, die Erklärung hierfür zu suchen in dem wesentlichen Unterschied dieser Membranart gegenüber der parenchymarmen: in ihrem großen Parenchymreichtum.

Ob die beobachtete Erscheinung bei der Muskelmembran identisch ist mit der Totenstarre des Muskels, bzw. der Lösung derselben, kann und soll hier nicht erörtert werden. Vielleicht liegt aber die Erklärung für das stärkere und frühere Auftreten der Anfangswiderstandserhöhung an der muskelreichen Membran in der beim Absterben steigenden H-Ionen-Konzentration, die sich bei der muskelreichen Membranart wesentlich stärker bemerkbar machen dürfte als bei der bindegewebsreichen, parenchymarmen.

Damit ist aber wieder die Frage aufgerollt, wie man sich den Einfluß starker und schwacher H-Ionen-Konzentrationen auf die Permeabilität tierischer Membranen zu denken habe.

Schwächere H-Ionen-Konzentrationen dürften eine Quellung des Parenchyms und damit eine gesteigerte Leitfähigkeit, eine Verminderung des Widerstandes bewirken. Höhere H-Ionen-Konzentrationen müßten, wenn man ihren Angriffspunkt gleichfalls in die Parenchymbestandteile allein verlegt, durch Schrumpfung derselben eine Vergrößerung des von Bindegewebe ausgefüllten, gut leitenden Interstitiums ergeben, also eine Leitfähigkeitserhöhung. Ist aber das Interstitium allein der Angriffspunkt, werden in ihm durch Fällung von bisher gelösten Eiweißsubstanzen Flockenbildung und daher Verstopfung der bisher zur Leitung benutzten Strombahn bewirkt, muß eine Leitfähigkeitsherabsetzung die Folge sein. Wirkt das Narkoticum auf das Parenchym allein und kommt dieses allein für die Permeabilität des Gewebes in Betracht, während das Interstitium schlecht oder gar nicht permeabel ist, müssen starke H-Ionen-Konzentrationen durch Verstopfung der Strombahn durch Gerinnung Leitfähigkeitsverminderung bewirken. Sind schließlich Parenchym und Interstitium dem Einfluß der H-Ionen in gleicher Weise ausgesetzt, und werden sie beide zur Gerinnung gebracht, würde gleichfalls eine Leitfähigkeitsherabsetzung hieraus folgen.

Die allgemein herrschende Ansicht über die Wirkung der H-Ionen-Konzentrationen auf Gele, — bei schwachen Konzentrationen Quellung, Leitfähigkeitserhöhung und Widerstandsabnahme, bei starken Gerinnung, Leitfähigkeitsherabsetzung und Widerstandszunahme — läßt eine Erklärung der oben beobachteten anfänglichen Widerstandssteigerung nur dann zu, wenn man annimmt, daß für die Permeation von Ionen durch aus Parenchym und Interstitium zusammengesetzte Membranen nur das Interstitium

in Betracht kommt, das Parenchym vielleicht nur als Hindernis wirkt. Denn dann würde eine am Parenchym angreifende Quellung durch schwache H-Ionen-Konzentrationen eine Leitfähigkeitsverminderung durch Verkleinerung des Strombahnquerschnittes bewirken, eine am selben Ort angreifende Gerinnung durch hohe H-Ionen-Konzentrationen durch Vergrößerung des Strombahnquerschnittes eine Leitfähigkeitssteigerung zur Folge haben.

Das Ergebnis dieses Versuches weist also erneut darauf hin, wie überhaupt mannigfaltig die Erscheinungen an überlebenden tierischen Membranen sind, eine Mannigfaltigkeit, welche die Auffindung irgendwelcher, allgemein gültiger Gesetzmäßigkeiten für die Verhältnisse an diesen Membranen außerordentlich erschwert.

Diese beiden Absterbekurven zeigen anschaulich, wie die Absterbeerscheinungen nicht nur während eines Versuches die Resultate der Messungen beeinflussen können, sondern auch für die Verwendbarkeit überlebender Membranen überhaupt von großer Bedeutung sind: mit steigendem Alter nimmt ihre Brauchbarkeit ständig ab und man entfernt sich mit jeder Stunde zusehends von den Verhältnissen *intra vitam*. Man kann geradezu das Paradoxum aussprechen, daß die Leitfähigkeitsmessung bei allen ihren Schwächen einen feineren Gradmesser für den Lebendigkeitsgrad der Gewebe abgibt als die Prüfung der Funktion selber, die ja zum mindesten qualitativ noch viel länger intakt gefunden wird.

Auch dieser Nachweis des Überlebens durch die Funktion wurde für die hier untersuchten Objekte, wenigstens die muskulären, versucht. Es wurde geprüft, ob sich die Reizschwelle für elektrische Reizung vor und nach der Narkose feststellen ließe. Gerade der Umstand, daß es nicht gelang, eindeutige Ergebnisse bei diesen Funktionsprüfungen vor und nach Gebrauch der Membranen zur Narkose zu finden, bestätigt vielleicht den vorausgeschickten Satz. Übrigens kann auf den Nachweis der Reversibilität der mit den angewandten Narkoticumkonzentrationen auf die Membranen ausgeübten Einflüsse auf diesem Wege verzichtet werden. Daß sie sich aus unseren Kurven als reversibel erweisen, kann für die hier verfolgten Zwecke genügen. Dazu kommt, daß Narkoticumkonzentrationen angewandt wurden, die nach den Erfahrungen früherer Untersucher von vornherein als reversibel wirksam anzusehen sind.

Was ergibt sich nun, wenn unter Berücksichtigung dieser Momente die Kurven 8—21 und die Tabellen IV und V betrachtet werden, aus diesen 1. für die Frage der allgemeinen Brauchbarkeit der hier angewandten Methode, und 2. für die Beantwortung der Frage, ob an Geweben gewonnene Resultate ohne weiteres auf Zellen übertragbar sind?

Praktisch gut verwendbar wäre die angewandte Methode dann, wenn in jedem Versuch die Ergebnisse außerhalb der größten Fehlerbreite lägen, d. h. wenn auch die Minimalablesung zur Zeit der Höchsteinwirkung des Narkoticums auf das System M_y oberhalb des Maximalwertes läge, den der Widerstand in einem

Fortsetzung auf S. 18.

Tabelle IV.

Narko- ticum	Kon- zentra- tion	Tem- pera- tur	Art der Membran	HD ¹⁾	HD	HM	HM
	in %	in °C			in %		in %
Alkohol	5	17,75	Muskel mit viel B.G.	+ 320	+ 6,78	+140	+2,92
"	5	17,75	" " wenig "	+ 380	+ 9,54	+220	+5,365
"	1,25	17	" " viel "	+ 400	+ 4,64	- 20	-2,22
"	1,25	17	" " " "	+ 560	+ 6,2	+120	+1,285
"	1,25	17	" " wenig "	+ 230	+ 4,16	+ 10	+0,176
"	1,25	17	" " " "	+ 300	+ 5,82	+ 90	+1,69
"	1,25	17	" " " "	- 35	- 0,938	-150	-3,94
"	1,25	17	" " viel "	+ 65	+ 1,39	- 75	-1,568
"	1,25	12,2	" " wenig "	+ 1	+ 0,159	-155	-2,42
"	1,25	12,2	" " viel "	- 55	- 0,842	-255	-3,81
"	1,25	12,2	Ligamentum patellae	- 10	- 0,203	-185	-3,64
Chlorof.	0,1	17	Muskel mit wenig B.G.	+ 105	+ 2,5	- 20	-0,46
"	0,1	17	" " viel "	+ 80	+ 1,95	- 70	-1,65
"	0,1	12,2	" " " "	+ 25	+ 0,412	-160	-2,64
"	0,1	12,2	" " wenig "	- 30	- 0,497	-210	-3,41
"	0,1	12,2	Ligamentum patellae	+ 195	+ 4,1	+ 30	+0,6175
Äther	3	17	Muskel mit viel B.G.	+ 260	+ 5,65	+110	+2,33
"	3	17	" " wenig "	+ 170	+ 4,64	+ 35	+0,938
"	3	12,5	" " viel "	+ 710	+ 8,6	+325	+3,62
"	3	12,5	" " wenig "	+ 440	+ 5,71	+ 20	+0,249
"	3	12,5	Ligamentum patellae	+ 280	+ 5,76	- 90	-1,785
"	1,5	12,2	Muskel mit viel B.G.	+ 90	+ 1,62	-130	-2,28
"	1,5	12,2	" " wenig "	+5550	+11,7	+256	+5,3
"	1,5	12,2	Ligamentum patellae	+ 65	+ 1,42	- 85	-1,81

1) Zur Erklärung der Ausdrücke *HD*, *HD* %, *HM* und *HM* % ist folgendes auszuführen (vgl. S. 12 und 13). In den Versuchsprotokollen bezeichnen die ausgezogenen Linien (l_1) Maximum und Minimum des Widerstandes in dem System *Mn*, wie sie bei den einzelnen Ablesungen festgestellt wurden; die kurz gestrichelten Linien (l_2) verbinden die rechnerisch (vgl. Tab. III) gefundenen Maxima des Widerstandes in den Systemen *Ln*, wie sie unter Einhaltung derselben Versuchsbedingungen gefunden worden wären, die kurz-lang gestrichelten Linien (l_3) die graphisch gefundenen Mittel der aus dem Maximum und Minimum der Meßresultate in dem System *Mn* für die gleichen Versuchsbedingungen berechneten Werte in dem System *Ln*.

HD bedeutet die Differenz zwischen dem Mittel der durch l_1 dargestellten Widerstandswerte und dem entsprechenden durch l_3 dargestellten Wert.

HD % diese Differenz ausgedrückt in Prozenten des entsprechenden, durch l_3 gegebenen Widerstandswertes.

HM und *HM* % haben entsprechende Bedeutung für die Differenzen zwischen den einander entsprechenden Werten, die gegeben sind durch die untere der beiden ausgezogenen Linien (l_1) und die kurz gestrichelte (l_2).

Ein + Zeichen bedeutet, daß eine Zunahme, ein - Zeichen, daß eine Abnahme des Widerstandes vorliegt.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Narko- ticum	Kon- zen- tra- tion	Tem- pera- tur	Art der Membran	<i>HD</i>	<i>HD</i>	<i>HM</i>	<i>HM</i>
	in %	in °C			in %		in %
Urethan	1,0	18,0	Muskel mit viel B.G.	+ 270	+ 6,1	+ 180	+ 4,02
	0,75	17,0	" " " "	+1920	+25,95	+1280	+16,4
	1,0	18	" " wenig "	+ 340	+ 8,27	+ 210	+ 4,98
	0,75	17	" " " "	+ 450	+10,39	+ 320	+ 7,25
	0,75	17	" " " "	+ 60	+ 1,42	- 120	- 2,78
	0,75	17	" " " "	+ 50	+ 1,17	- 65	- 1,49
	0,75	17	" " viel "	+ 60	+ 1,42	- 65	- 1,5
	0,75	12,2	" " " "	+ 105	+ 1,97	- 80	- 1,47
	0,75	12,2	" " wenig "	+ 135	+ 2,15	- 15	- 0,299
	0,75	12,2	Ligamentum patellae	+ 65	+ 1,39	- 60	- 1,26
	0,375	10,2	" " " "	+ 154	+ 3,5	+ 60	+ 1,33
	0,75	10,2	Aponeurose	+ 195	+ 3,48	+ 5	+ 0,087
	0,75	10,2	Muskel mit wenig B.G.	+ 160	+ 2,96	- 10	- 0,181
	0,375	10,2	" " " "	+ 165	+ 3,12	+ 25	+ 0,461
Isopral	1,0	17,0	Muskel mit viel B.G.	+1420	+16,5	+ 720	+ 8,06
	1,0	17,0	" " wenig "	+ 560	+11,6	+ 340	+ 6,62
	0,5	17,0	" " viel "	- 35	- 0,768	- 180	- 3,86
	0,5	17,5	" " " "	+ 85	+ 2,04	- 60	- 1,41
	0,5	17	" " wenig "	+ 80	+ 2,26	- 35	- 0,965
	0,5	17,5	" " " "	+ 20	+ 0,56	- 85	- 2,355
	0,5	12,2	" " viel "	+ 125	+ 2,36	- 35	- 0,645
	0,5	12,2	" " wenig "	+ 120	+ 2,48	- 65	- 1,32
	0,5	12,2	Ligamentum patellae	+ 55	+ 1,22	- 105	- 2,26
	0,5	10,2	Aponeurose	+ 145	+ 2,65	- 5	- 0,089
	0,25	10,2	" " " "	+ 205	+ 3,018	+ 40	+ 0,723
	0,5	10,2	Muskel mit wenig B.G.	+ 125	+ 2,31	- 25	- 0,45
	0,25	10,2	" " " "	+ 115	+ 2,14	- 10	- 0,182

analogen, aber membranlosen System L_N aufwiese, — wie das z. B. in Abb. 17 u. 21 angedeutet ist — wenn kurz gesagt die diesen Unterschied zum Ausdruck bringenden Werte HM bzw. $HM\%$ in den Tabellen positiv wären und damit eine zweifellose Widerstands z u n a h m e des membranhaltigen Systems unter dem Einfluß der Narkotica ausdrückten, die dann mit Sicherheit auf den Einfluß des Narkoticums auf die Membran selbst zurückzuführen wäre. Die so gefundene Permeabilitätsveränderung müßte dann in der Tat als Membranfunktion unter dem Einfluß der Narkotica gedeutet werden.

Dies Ergebnis ist aber sehr selten. In der Regel findet sich ein negativer Wert, der aber — 4% niemals überschreitet, während unter den positiven Ergebnissen Zahlen bis zu 16% vorkommen.

Erkennt man dagegen auch diejenigen Ergebnisse als beweisend an, wo die Zuführung der Narkotica zu dem System M eine Widerstandszunahme des Mittelwertes der Ablesungen über den

berechneten Durchschnittswert des membranlosen Systems bewirkt, so gewinnen die Resultate bedeutend an Brauchbarkeit. Denn in den Spalten *HD* und *HD%* der Tabelle IV, in denen diese Durchschnittsdifferenzen aufgeführt sind, finden sich nur 5 negative Werte, und diese können eher durch zufällige Fehler während der Ausführung der Versuche, z. B. unbemerkt gebliebene Verschiebung der beiden U-Röhrchen gegeneinander, erklärt werden.

Im folgenden werden die Ergebnisse unter Zugrundelegung dieser Durchschnittswerte beurteilt.

Einen Überblick über die Ergebnisse geben am besten die graphische Darstellung der Resultate in Abb. 24 (S. 34), die Tabelle IV und am einfachsten die folgende Tabelle V.

Tabelle V.

Narkoticum	Musc. transv.	Musc. rectus.	Lig. patellae.
Alkohol	+ 6,17%	+ 4,75%	+ 0,1%
Chloroform	+ 1,0%	+ 1,20%	+ 2,00%
Äther	+ 7,30%	+ 5,30%	+ 3,6%
Urethan	+ 4,20%	+ 8,80%	+ 2,70%
Isopral	+ 3,6%	+ 6,8%	+ 0,61%

Diese Tabelle wurde auf folgende Art gewonnen: ohne Rücksicht auf Konzentration und Temperatur wurde aus allen jeweils einem einzelnen Narkoticum und einer Membranart entsprechenden Werten der Spalten *HD%* der Tabelle IV der Durchschnitt errechnet, der also jeweils der Widerstandserhöhung vom Muskel mit viel bzw. mit wenig Bindegewebe bzw. vom Lig. pat. durch Narkoticumzusatz entspricht.

Ein Vergleich dieser Mittelzahlen ergibt, daß für Chloroform, Urethan und Isopral die Werte der Spalte 2 größer sind als die der Spalte 1, dagegen nicht für Alkohol und Äther. Dies bedeutet also, daß außer bei Alkohol und Äther bei den angewandten Narkoticumarten und -konzentrationen die Widerstandserhöhung, die durch Zustandsänderung der Membran selbst, durch Herabsetzung ihrer Permeabilität für Ionen bedingt ist, bei bindegewebsreichen Membranarten größer ist als bei bindegewebsarmen, parenchymreichen.

Aus allen diesen Beobachtungen, die zum größeren Teil im Vorausgehenden übersichtlich zusammengestellt sind, lassen sich die Fragen, die wir uns eingangs vorgelegt haben, folgendermaßen beantworten:

Die erste Frage betrifft die Brauchbarkeit der Leitfähigkeitsmessung von Membranen als Methode zur Prüfung von Permeabilitätsänderungen, wie sie sich nach den Ergebnissen der hier wiedergegebenen Versuche darstellen.

Die Abweichungen der einzelnen Ablesungen sind, wie sich aus der Breite der mit ausgezogenen Linien umsäumten Ableungstreifen unserer zahlreichen Kurven ergibt, nicht ganz unbeträchtlich. Aber die Methode reicht doch vollkommen aus, um Veränderungen, die sich nach willkürlicher Variation der Bedingungen des Mediums einstellen, deutlich erkennen zu lassen. Die Änderungen der Kurvenrichtung unter dem Einfluß eines jeglichen Narkoticumzusatzes sind augenfällig. Wenn man sich fragt, inwieweit alle diese augenfälligen Kurvenaus schläge auf Veränderungen der Membrangebilde selbst unter dem Einfluß der Narkotica zurückzuführen sind, so darf man dabei freilich eine wichtige Nebenbeobachtung, die sich aus unseren Vorversuchen ergibt, nicht vernachlässigen.

Alle von uns geprüften Narkotica beeinflussen nach unseren Vorversuchen bereits die Leitfähigkeit eines einphasigen, aus einer echten Lösung (Ringerlösung) bestehenden Systems. Und zwar erfolgt dieser Einfluß regelmäßig im Sinne einer Leitfähigkeitsverminderung dieses membranlosen Systems. Bei der Vernachlässigung, die wir im Rahmen dieser Untersuchung von vornherein der prinzipiellen Frage angedeihen lassen wollten, inwieweit der gemessene Vorgang wirklich eine Widerstandsänderung, inwieweit er Polarisation ist, soll auch hier die Frage nicht erörtert werden, ob nicht vielleicht die scheinbare Widerstandserhöhung der Ringerlösung durch unsere Narkoticumzusätze in Wirklichkeit ein Polarisationsvorgang (etwa an unseren Elektroden) ist. Sieht man von dieser Frage ab, so hat man die Feststellung, daß Narkotica auf Salzlösungen leitfähigkeitsvermindernd einwirken, in den Vordergrund der Betrachtung zu stellen. In der Literatur sind uns Feststellungen über dieses allerprimitivste Modell einer Narkose, die „Narkose von Salzlösungen“, nicht begegnet. Auch Loewe hat bei seinen Versuchen an künstlichen Membranen diese Frage vernachlässigt, weil er glaubte, seine Schlüsse auf eine Leitfähigkeitsverminderung der Membranen auch ohnedies ziehen zu dürfen einfach aus dem Umstande heraus, daß seine Leitfähigkeitskurven unter dem Einfluß eines Narkoticumzusatzes nicht einen

plötzlichen Anstieg zu einem veränderten, aber konstant bleibenden, also horizontalen Verlauf und bei der Wegnahme des Narkoticums einen entsprechenden plötzlichen Abfall erfuhren, sondern in einem meist bogenförmigen Anstieg den Narkoticumeinfluß auf die Membran zu erkennen gaben. Es ist naheliegend, aus diesem unerwarteten Verlauf der Änderung in der Kurvenrichtung auf Vorgänge zu schließen, die sich erst allmählich mit einer im Versuch verfolgbaren Reaktionsgeschwindigkeit an den Membranen abspielen.

Dieses Argument ist in der Tat auch für unsere vorliegenden Messungen wichtig. Es treten auch bei unseren Kurven die Veränderungen nach dem Narkoticumzusatz nicht sofort und dann konstant bleibend in die Erscheinung, sondern alle unsere Narkoseabschnitte im Verlauf der Kurven streben während einer sehr beträchtlichen Zeit der Narkoticumeinwirkung (20 Minuten bis 1 Stunde) einem Maximum zu, das bei sorgfältiger Betrachtung der Kurven während der Messungszeit eigentlich niemals erreicht wird. Diese Argumentation kann aber einem Einwand begegnen. Auch wenn, was man durch die vorausgehenden Überlegungen widerlegt glaubt, der Einfluß des Narkoticums sich nur an dem Elektrolytmedium abspielt, also an demselben Objekt, das auch bei unseren Vorversuchen an membranlosen Lösungssystemen einer in diesen vereinfachten Fällen plötzlich und ohne allmählichen Anstieg zustande kommenden Leitfähigkeitsverminderung unterliegt, so kann doch, sobald eine Membran in dieses Lösungssystem eintritt, der Einfluß auch auf die Lösungsbestandteile der Membran allein das Gleichgewicht langsamer vielleicht deswegen erreichen, weil zwar nicht die Membran selbst einem besondersartigen Einfluß des Narkoticums mit langsamerer Reaktionsgeschwindigkeit unterliegt, ihre disperse Phase aber den Einfluß des Narkoticums auf die in ihr enthaltenen Teile der freien Lösung einfach durch Behinderung der freien Diffusion verlangsamt. Dieser Einwand kann nur dadurch widerlegt werden, daß der Einfluß des Narkoticums auf ein membranhaltiges System deutlich größer wird als auf ein membranloses. Darum dürfen wir uns bei der Bewertung der Narkosezacken unserer Kurven nicht auf ihr augenfälliges Vorhandensein und die Langsamkeit, mit der sie einem Maximum zustreben, beschränken, sondern wir müssen jedesmal prüfen, ob das erreichte Maximum auch höher liegt als dasjenige, welches ein sonst

analoges Lösungssystem ohne Membran unter dem Einfluß des Narkoticums erreicht hätte. Dieser Überschuß darf mit gutem Gewissen verwendet werden. Denn selbst wenn der ganze Einfluß der Membran auf der Enge und Verzweigttheit der Strombahn, also auf der Vermehrung der Wandbestandteile beruht, so sind doch Veränderungen in der Leitfähigkeit, die auch nur auf diesen Verhältnissen beruhen, mit Recht bereits als Membranfunktionen zu buchen.

Durch das Erfordernis, den Einfluß des Narkoticums auf das gleiche System abzüglich der Membran zu ermitteln, leidet aber naturgemäß die Genauigkeit der Methode. Denn dieser Subtrahend kann nur rechnerisch ermittelt werden, und wenn wir auch die für uns ungünstigsten Rechnungsergebnisse nicht scheuen, so müssen wir die rein experimentell bereits eintretenden Ablesefehler durch Multiplikation noch merklich vermehren, d. h. also die Fehlerbreite merklich vergrößern. Wenn wir hierin bis zum äußersten Maße ungünstiger Gestaltung der Verhältnisse gehen, wie wir das in unseren Kurven durch Einzeichnung des maximal errechenbaren Einflusses des Narkoticums auf das membranlose System getan haben, so sehen wir tatsächlich alle Membraneinflüsse oft genug in die Fehlerbreite der Methode hineinfallen. Arbeitet man also unter so ungünstigen Verhältnissen der Berechnungsmethode, so ist das Leitfähigkeitsverfahren in der Tat für unsere Zwecke kaum brauchbar. Begnügen wir uns aber, wie bereits weiter oben ausgeführt, mit einem Vergleich der Durchschnittswerte der Membrannarkose und der Lösungsnarkose, so gelangt man auch rechnerisch zu dem Ergebnis, daß die Anwesenheit einer Membran doch nicht ohne Einfluß auf die Leitfähigkeit des narkotisierten Systems ist. Ein Ergebnis, welches ja auch bereits aus dem Kurvenverlauf, wie oben ausgeführt, abgeleitet werden darf.

Es erscheint also bei aller Ungenauigkeit der Methode, einer Ungenauigkeit im übrigen, die auch die Messung der Salz- und Wasserpermeabilität nach Winterstein bei genauerer Betrachtung aufweisen dürfte, doch nicht aussichtslos, auch eine Beantwortung der zweiten Frage mit ihr zu versuchen. Diese zweite Frage sucht, wie eingangs erörtert, Aufschluß darüber, ob bei einer aus mindestens zwei verschiedenen Komponenten (z. B. Parenchym und Interstitialgewebe) zusammengesetzten Membran die Beteiligung einer jeden dieser beiden Komponenten an der „Membrannarkose“, somit das gegenseitige

Verhältnis $n^1)$ ihrer Beteiligung, ermittelt bzw. mit welchem Recht Ergebnisse an der Gesamtmembran auf eine dieser beiden Komponenten (hier das Parenchym) bezogen werden dürfen.

Bei besonders günstiger Sachlage kann ein Aufschluß über die Größe n einfach aus einem unmittelbaren Vergleich der Größen erhofft werden, welche sich einmal bei der Membrannarkose von vorwiegend parenchymatösen, ein andermal bei denjenigen von vorwiegend interstitiellen Geweben ergeben. Erfordernis hierfür ist aber, daß die zu vergleichenden Gewebsmembranen gleichen Querschnitt und gleiche Dicke aufweisen. Das ist nun schwer zu erreichen. Man müßte dazu stets gleichmäßig dicke Platten aus den beiden Gewebsarten herausschneiden können, und man müßte, was bei unserer Versuchsanordnung noch wesentlich mehr erschwert war, stets in einem und demselben Widerstandsgefäß messen, wobei nicht nur der Elektrodenabstand jedesmal der gleiche sein müßte, sondern vor allem der Querschnitt desjenigen Teils des Meßgefäßes, in welchem sich die Membran ausgespannt findet. Dies zu erreichen ist bei den benutzten Widerstandsgefäßen unmöglich, und dementsprechend besagen auch die Zahlen, die für die Ermittlung des Verhältnisses der spezifischen Leitfähigkeiten unserer Gewebsarten gewonnen wurden, nicht viel. Sie seien im folgenden zusammengestellt:

Aus einer größeren Zahl von Messungen der Leitfähigkeit eines unserer Meßröhrchen, mit Ringerlösung allein gefüllt, ergeben sich Widerstandswerte von 4500—4825 Ohm bei Temperaturänderung von 10—18°. Verschiedene Ligamenta patellaria, in verschiedenen Widerstandsgefäßen gemessen, ergaben Werte zwischen 4250 und 4860 Ohm. Der Widerstand dieser Gewebsart scheint also nicht groß zu sein. Muskelgewebe mit wenig Bindegewebe weist demgegenüber Widerstandswerte von 4020—8960 Ohm auf, Muskelgewebe mit viel Bindegewebe Werte von 3530—7050 Ohm. Vernachlässigt man die Variationsmöglichkeiten des Querschnitts unserer verschiedenen Meßgefäße, so kann man diese Schwankungen am einfachsten auf die verschiedene Dicke unserer Membranen beziehen. Dagegen kann nur vorgebracht werden, daß die Musculi transversi im allgemeinen ebenso wie die Ligamenta patellaria wesentlich dünner waren als die Membranen aus dem Musculus rectus, der Muskelart mit viel Bindegewebe.

¹⁾ Vgl. S. 6 ff.

Alles in allem läßt also die Betrachtung dieser Werte allein keine allzu weittragenden Schlüsse zu. Sie zeigt nur, daß der absolute Widerstand von Membranen unter den von uns gehandhabten Bedingungen, also bei wechselnder Dicke und bei wechselndem Querschnitt, großen Schwankungen unterliegen kann.

Demnach müssen die Betrachtungen sich hauptsächlich auf die Ergebnisse der Narkose dieser Membranen richten. Betrachten wir die graphische Übersicht in Abb. 24, welche die Prozentualwerte der maximalen Membrannarkose für die verschiedenen Membrangebilde nebeneinander stellt, so zeigt sich, daß die Ergebnisse wenig Gleichmäßigkeit erkennen lassen, daß der Membraneinfluß auf die Leitfähigkeitsverminderung des Gesamtsystems bei Anwesenheit der verschiedenen Narkotica ein sehr verschiedener, manchmal ein kaum mit Sicherheit feststellbarer, manchmal ein recht hoher, bis zu 12%, sein kann. Im einzelnen wird man also nicht viel Aufschluß erwarten können. In dem Gesamtüberblick über diese zusammengefaßten Resultate wird aber eines sehr augenfällig: Irgendein eindeutiger Unterschied zwischen bindegewebsreichen und parenchymreichen Membranen läßt sich nirgends feststellen. Bald tritt der Einfluß an der einen, bald an der anderen Gewebsart besonders stark hervor. Will man hieraus Schlüsse auf die Größe von n ziehen, so läßt sich der Wert von n kaum anders als mit der Zahl 1 definieren. Das heißt mit andern Worten, bindegewebsreiche und parenchymreiche Organe werden, wenn man sie in ihrer Gesamtheit als Membran benutzt und dem Einfluß eines Narkoticums aussetzt, von den Ergebnissen der Leitfähigkeitsveränderung aus betrachtet, wie dies ja sehr augenfällig auch schon ein Vergleich der Narkosozacken unserer verschiedenen einzelnen Kurven dartut, nicht in merklich unterschiedlicher Weise beeinflußt. Das würde zu dem Ergebnis führen, daß ein Narkoticum die Permeabilitätsverhältnisse grundsätzlich in gleicher Weise beeinflußt, einerlei ob es auf Interstitien oder auf Zellen einwirkt, und das wäre in gewissem Sinne eine Bestätigung der Vorstellung, die man sich aus mancherlei Ergebnissen der letzten Jahre zu machen hat. Schon ein Vergleich der Verteilung von Narkoticum auf solche Gebilde, an denen leicht funktionelle Narkoseveränderungen feststellbar sind, z. B. Gehirngewebe, und auf andere Gewebe, die keine funktionelle Veränderung durch die Narkose augenfällig werden lassen, hat

dazu geführt, zu zeigen, daß quantitativ das Narkoticum sich auf alle diese Gewebsarten annähernd gleichmäßig verteilt. Und wenn von anderer Seite herkommend gezeigt worden ist, daß ein Narkoticum an allen möglichen biologischen und nichtbiologischen, einfachen und komplizierten Gebilden, vom metallischen Katalysator angefangen bis zur komplizierten Nervenzelle, einen Angriffspunkt findet, so bedeutet dies das gleiche. Man könnte allmählich zu der These von einem geradezu ubiquitären Angriffspunkt der Narkotica gelangen, wobei dann allerdings die Vorstellung von der hohen Adsorbierbarkeit der Narkotica das Gemeinsame aller dieser Angriffspunkte in adsorptionsfähigen Oberflächen zu suchen Anlaß wäre. Und dann würde der verschiedene Narkoseeffekt nicht in der verschiedenen quantitativen oder qualitativen Ausbildung dieser Angriffsflächen des Narkoticums zu suchen sein, sondern auf der physiologischen Seite des Narkosevorgangs, in dem verschiedenen Grad der funktionellen Empfindlichkeit des narkotisierten Gebildes, also in dem verschiedenen Grade, in welchem bei verschieden bedeutungsvollen und an verschieden wichtigem Posten stehenden physiologischen Gebilden sich ein im Grunde gleichartiger Einfluß äußern muß.

Alle diese Betrachtungen sind allerdings solange noch recht wenig verbindlich, als sie nur mit der von uns benutzten, recht begrenzt brauchbaren Methode der Leitfähigkeitsmessung erhoben worden sind. Sie bedürften noch der Bestätigung durch Heranziehung feinerer und zuverlässigerer Methoden.

Diese Betrachtungen entfernen sich aber auch bereits von der viel einfacheren und engeren Frage, die wir zur Grundlage und zum Ausgangspunkt unserer Versuche genommen haben. Und diese Frage läßt sich auf jeden Fall eindeutig beantworten: es muß als verfrüht bezeichnet werden, wenn man aus Beobachtungen an einem so komplizierten Objekt wie einer Gewebsmembran, also einem aus Parenchym und Interstitium gemischten Membrangebilde, Schlüsse auf Veränderungen zieht, die sich an der einen Komponente desselben, dem Parenchym, abspielen. Genau wie unsere Versuche führen daher diejenigen Wintersteins wohl zu dem sehr interessanten Ergebnis, daß auch derartige Gewebsmembranen, ebenso wie die Lipoidmembranen Loewes, in ihrer Permeabilität durch die Anwesenheit von Narkoticis in physiologischen Konzentrationen eindeutig beein-

trächtig werden. Das gilt nach Wintersteins Versuchen von der Salz- und noch mehr von der Wasserpermeabilität, nach unseren Versuchen von der Ionenpermeabilität oder, wofern die Leitfähigkeitsmethode in ihrer Deutung durch die Gildemeisterschen Untersuchungen eine grundsätzliche Revision erfahren muß, im umgekehrten Sinne von der Polarisierbarkeit. Aber ob es sich bei allen diesen Befunden um eine Veränderung handelt, die in ganz unspezifischer Weise alle Gebilde von Membrancharakter, im speziellen alle biologischen Membranen betrifft, oder um eine solche Veränderung, die sich wirklich nur abspielt an den für die generellste Lebensfunktion wichtigen Membranen, also den Membrangebilden innerhalb der Zellstruktur, das bleibt bei allen derartigen Messungen, bei denen nicht ausschließlich die von der eigentlichen Fragestellung ins Auge gefaßte Zellmembran allein geprüft wird*), nach wie vor offen.

Literatur.

- 1) Loewe, Membran und Narkose. Diese Zeitschr. 57. 1913. —
 2) Bernstein, Elektrobiologie. Braunschweig 1912. — 3) Lepeschkin, Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Plasmamembran. Ber. d. dtsh. bot. Gesellsch. 29. 1911. — 4) Lepeschkin, Über die Einwirkung anästhesierender Stoffe auf die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran. Ber. d. dtsh. botan. Gesellsch. 29. 1911. — 5) Joël, Über die Einwirkung einiger indifferenten Narkotica auf die Permeabilität roter Blutkörperchen. Arch. f. d. ges. Physiol. 161. 1915. — 6) Mac Clendon, The action of anaesthetics in preventing increase of cell permeability. Amer. Journ. of Physiol. 38. 1915. — 7) Winterstein, Osmotische und kolloide Eigenschaften des Muskels, und Narkose und Permeabilität. Diese Zeitschr. 75. 1916. — 8) Winterstein, Die Narkose. Berlin 1919. — 9) Gildemeister, Elektrischer Widerstand, Kapazität und Polarisation der Haut. Arch. f. d. ges. Physiol. 171. 1919. — 10) Verworn, Die Narkose. Jena 1912. — 11) Traube, Über die Theorie der Narkose. Arch. f. d. ges. Physiol. 171. 1919.

*) Nach Abschluß der Drucklegung erfuhren wir durch freundliche persönliche Mitteilung von Herrn Professor Winterstein, daß bei seinen hier mehrfach erwähnten Versuchen Vergleiche mit Interstitialmembranen angestellt worden sind, wodurch unseren Überlegungen, soweit sie sich im speziellen gegen seine Arbeiten richten, jeder Boden entzogen wäre. Es sei auch gleichzeitig erwähnt, daß die vorstehende Untersuchung durch weitere, inzwischen im hiesigen Institut ausgeführte Versuche gleichfalls in mancher Hinsicht überholt worden ist. Trotzdem möchten wir die Wiedergabe der Gedankengänge dieser Veröffentlichung nicht für überflüssig halten.

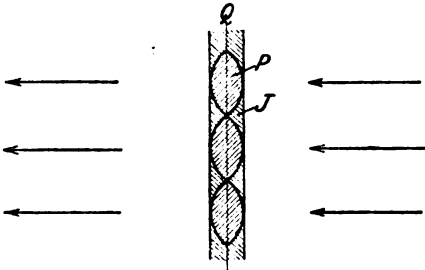


Abb. 1. P = Parenchym, z. B. Muskelfasern, Q = Querschnitt, J = Interstitium z. B. Bindegewebe.

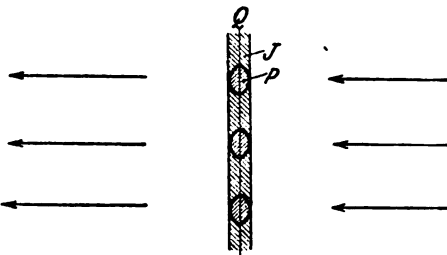


Abb. 2. P = Parenchym, Q = Querschnitt, J = Interstitium.

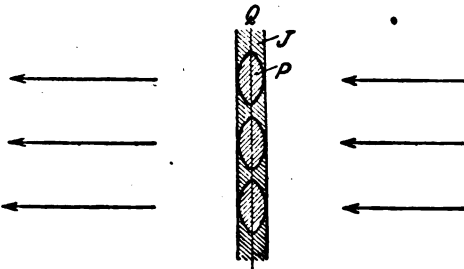


Abb. 3. P = Parenchym, Q = Querschnitt, J = Interstitium.

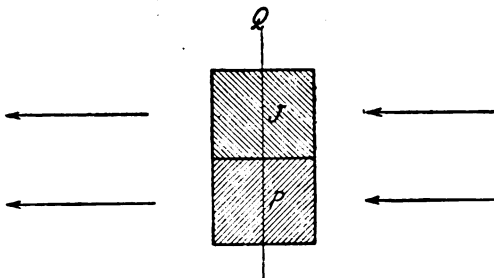


Abb. 4. P = Parenchym, J = Interstitium, Q = Querschnitt.

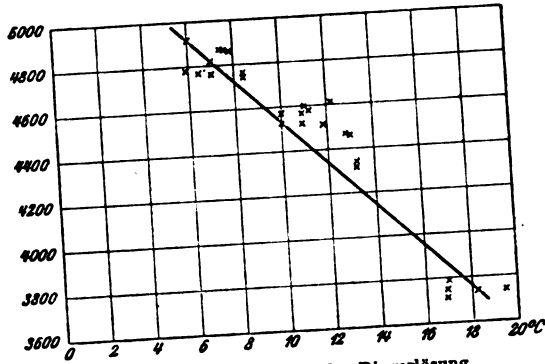


Abb. 5. Temperaturkurve der Ringerlösung.

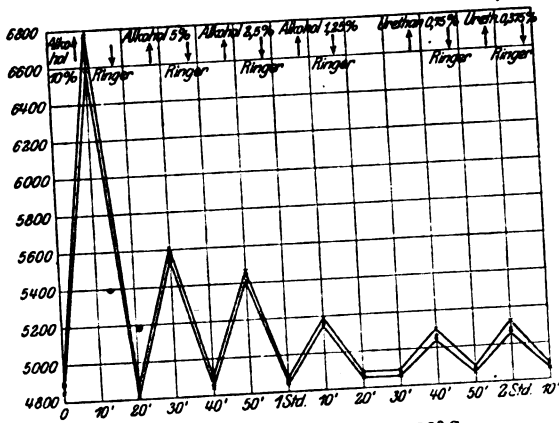
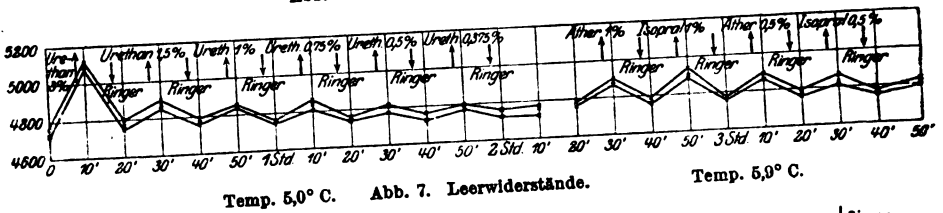


Abb. 6. Leerwiderstände. Temp. 7,8° C.



Temp. 5,0° C. Abb. 7. Leerwiderstände.

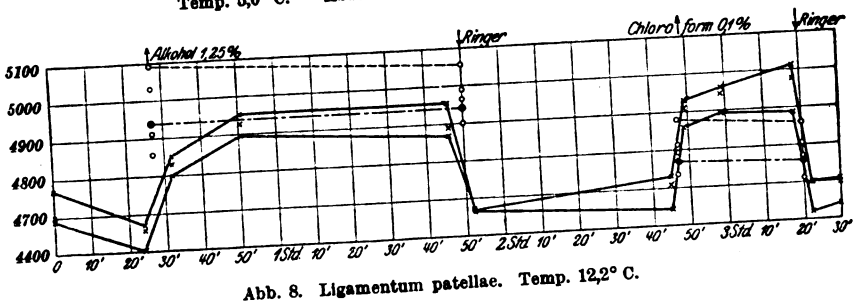


Abb. 8. Ligamentum patellae. Temp. 12,2° C.

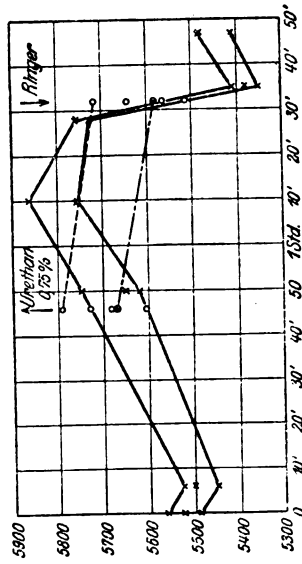
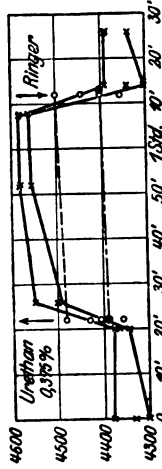
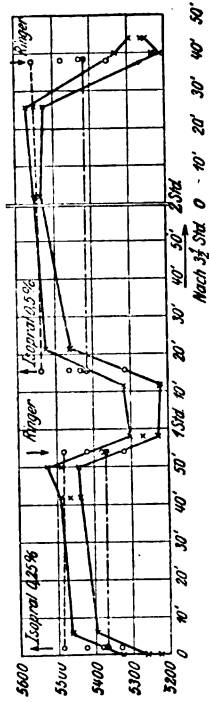
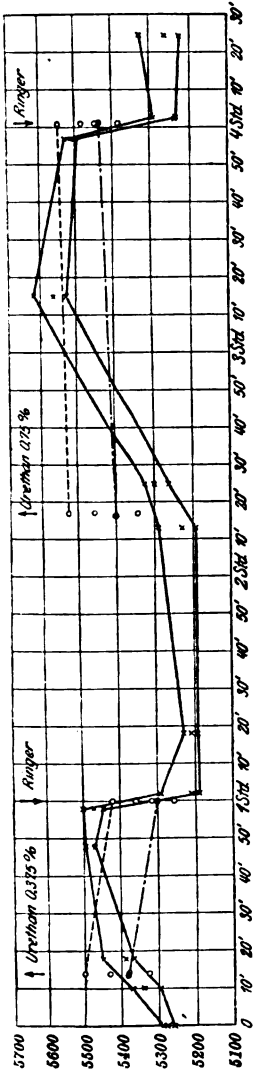


Abb. 11. Ligamentum patellae. Temp. 10.2° C.

Abb. 12.

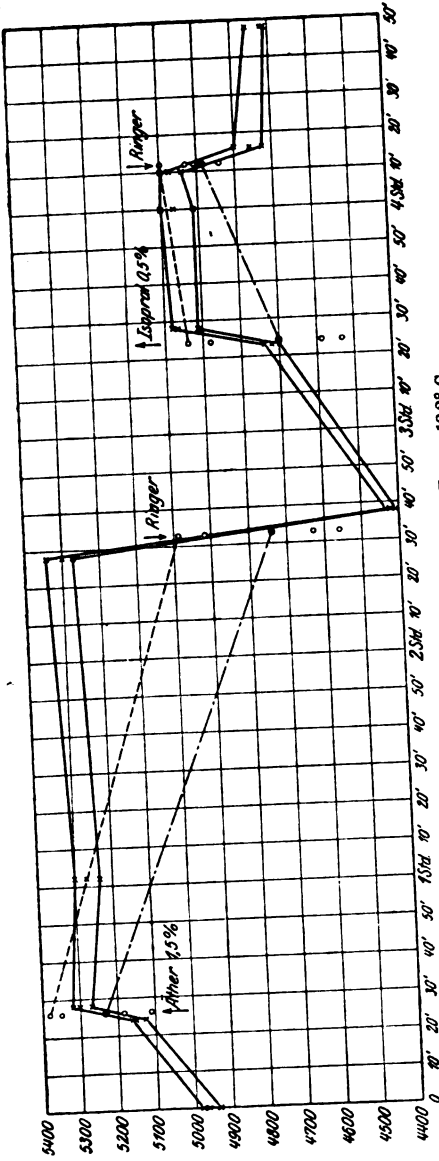


Abb. 14. Musc. transv. abdom. Temp. 12.2° C.

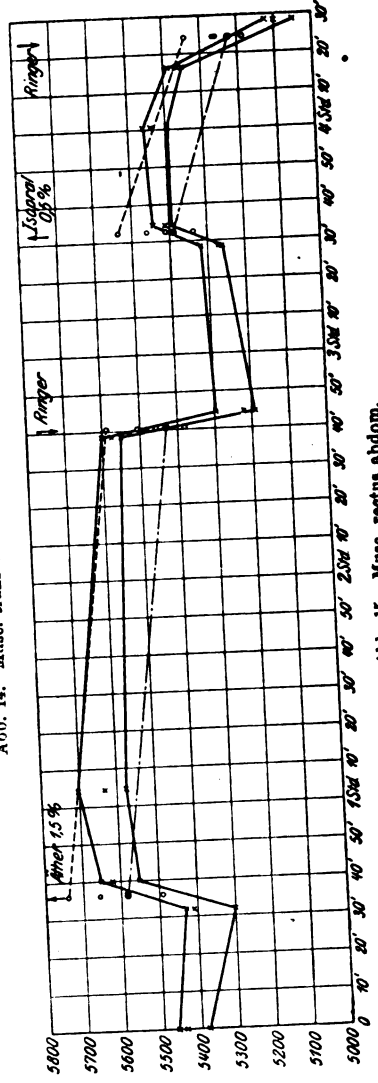


Abb. 15. Musc. rectus abdom.

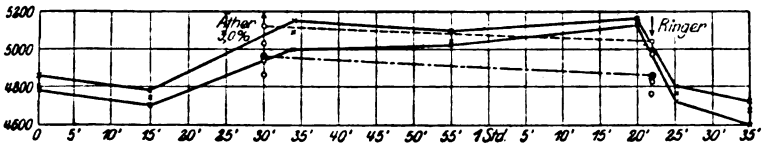


Abb. 16. Ligamentum patellae. Temp. 12,5°.

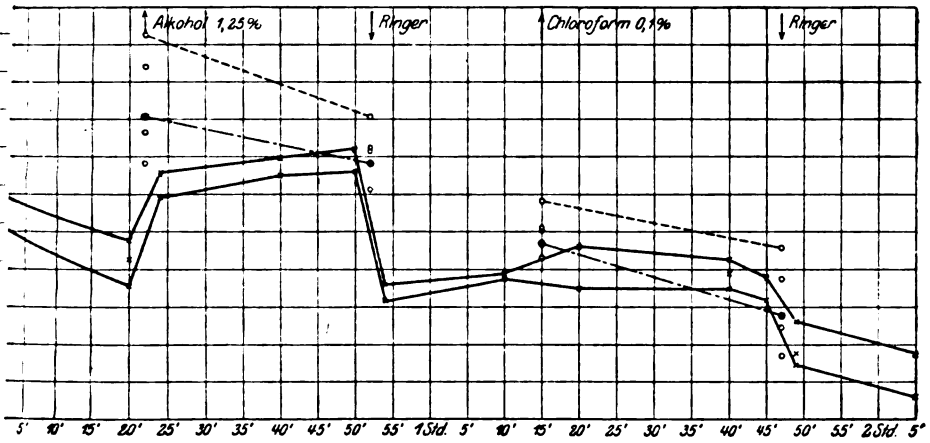


Abb. 17. Musc. transv. abdom. Temp. 12,2° C.

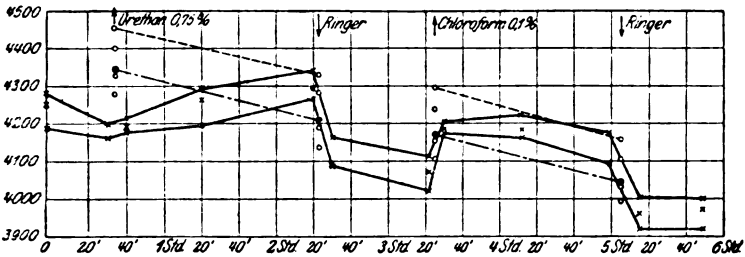


Abb. 18. Musc. rectus abdom. Temp. 17,0° C.

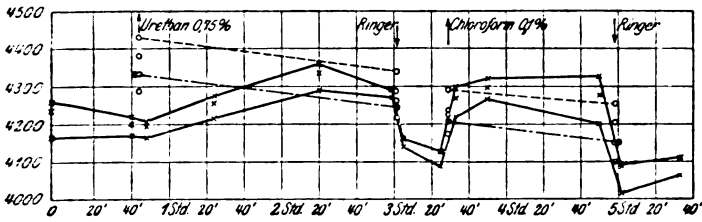


Abb. 19. Musc. transv. abdom. Temp. 17,0° C.

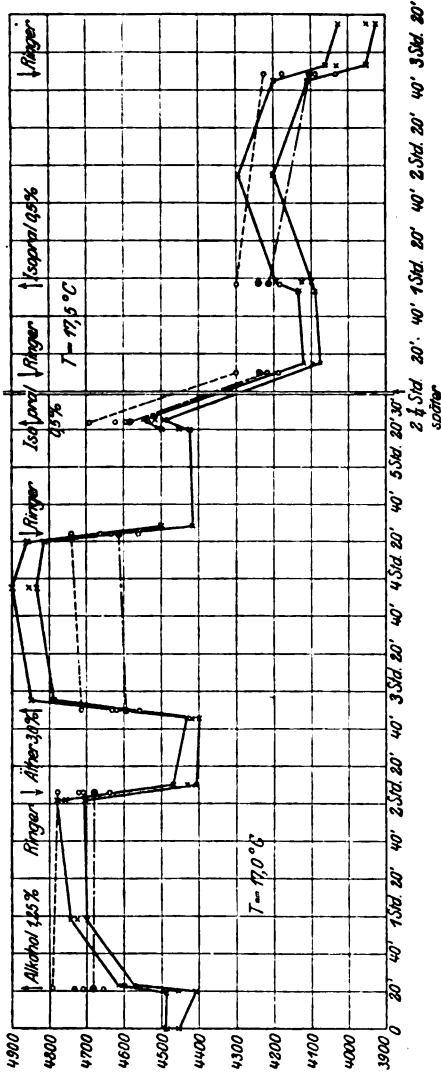


Abb. 20. Musc. rectus abdom. Temp. 17,0° C.

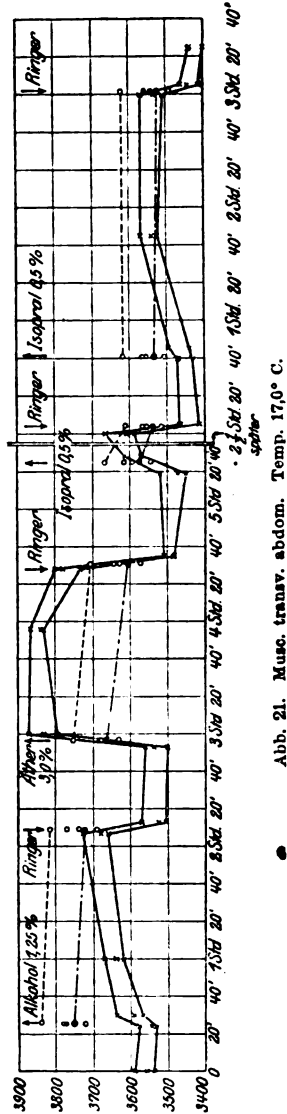


Abb. 21. Musc. transv. abdom. Temp. 17,0° C.

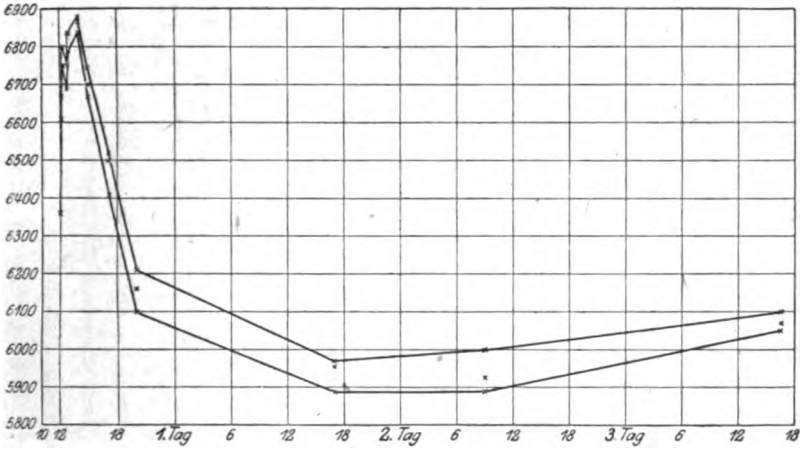


Abb. 22. Absterbekurve. Musc. transv. abdom.

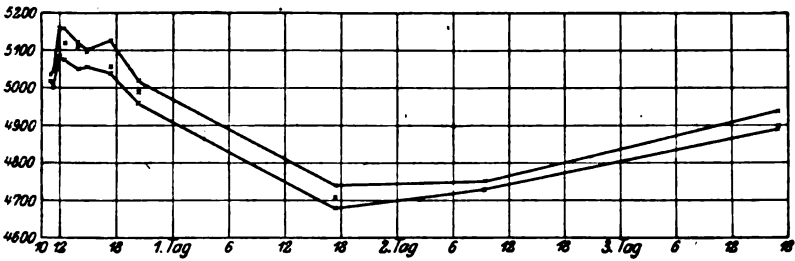


Abb. 23. Absterbekurve. Ligamentum patellae.

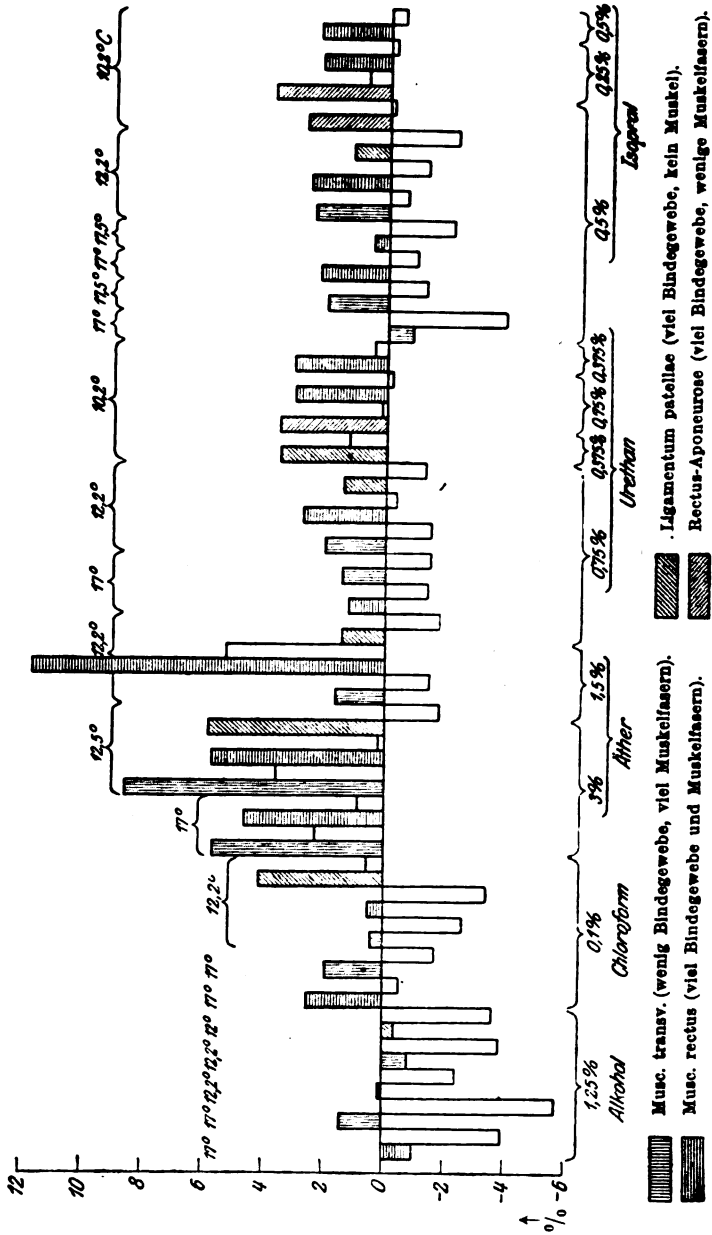


Abb. 24. Zusammenfassung der Messresultate von Membrannarkosen.

Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I.

Von
R. Brinkman und Fr. E. van Dam.

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen
[Holland].)

(Eingegangen am 11. Mai 1920.)

Einleitung.

Die dynamische Biochemie der Phosphatide und Sterine befindet sich noch in den ersten Stadien ihrer Entwicklung. Man hat die Überzeugung bekommen, daß diese Gruppen von hervorragender Bedeutung für das Zellenleben sind und als echte Zellbausteine aufgefaßt werden müssen. Die deskriptive biochemische Forschung hat die allseitige Anwesenheit dieser Substanzen dargelegt, und ihre Unentbehrlichkeit in der Nahrung für das Wachstum, bzw. für das Leben ist von Stepp¹⁾, Mac Collum²⁾, Osborne und Mendel³⁾, Heubner⁴⁾, Röhl⁵⁾ u. a. festgestellt worden. In der Serologie spielen sie eine große Rolle und die pathologische Untersuchung hat eine ganze Reihe interessanter Änderungen der normalen Cholesterin- und Lecithin-Konzentrationen aufgedeckt.

Wenn man aber nach der speziellen Bedeutung dieser Substanzen zu fragen anfängt, so läßt sich davon ebensowenig eine genauere Analyse geben wie von ihrem speziellen Stoffwechsel. Die Anzahl der den Phosphatiden und Sterinen zugeschriebenen Einzelfunktionen wird bereits größer, ihre allgemeine Bedeutung für die Zelle ist aber noch nicht erkannt worden⁶⁾.

¹⁾ Stepp, Zeitschr. f. Biol. **57**, 136; **59**, 366; **62**, 405.

²⁾ Mac Collum, Journ. of Biolog. Chem. **15**, 167; **19**, 245; **20**, 641; **21**, 179.

³⁾ Osborne and Mendel, Journ. of Biolog. Chem. **17**, 40; **20**, 379.

⁴⁾ Heubner, Münch. med. Wochenschr. 1911, S. 2543.

⁵⁾ Röhl, Verhand. d. Kongr. f. Inn. Med., Wiesbaden 1912, S. 607.

⁶⁾ Zusammenfassung S. J. Bang, Chemie und Biochemie der Lipide. Wiesbaden 1911.

Die Ursache dieser Unsicherheit ist in erster Linie darin zu suchen, daß die chemische Konstitution dieser Verbindungen noch nicht genügend erkannt ist und daß die Phosphatide sehr leicht zersetzlich sind, so daß ihr Schicksal im Körper schwer zu verfolgen ist¹⁾.

Neben der chemischen Konstitution und dem chemischen Einfluß dieser Substanzen hat man in letzter Zeit vornehmlich auch ihre physikalischen Eigenschaften studiert; die Kolloidchemie der Phosphatide und Sterine muß ein fundamentales Problem der Kolloidforschung werden und es scheint, daß die physikalisch-chemische Untersuchung dieser Probleme mehr Einsicht zu geben verspricht als die rein chemische.

Wenn man nun die dynamische Bedeutung dieser Stoffe näher untersuchen wird, so kann man natürlich auf sehr verschiedener Weise vorgehen. Man kann ihre Konzentration und Konzentrationsänderungen im Plasma und in der Zelle studieren oder aus den Folgen der experimentellen Konzentrationsänderungen auf die normale Funktion schließen; man kann auch den intermediären Stoffwechsel der Phosphatide usw. zu verfolgen suchen, was bei den jetzigen Kenntnissen der chemischen Konstitution der betreffenden Substanzen wohl möglich sein wird. Allein die Deutung der so gewonnenen Resultate wird sehr schwierig sein bei solchen den Gesamtorganismus betreffenden Versuchen.

Zu eindeutigen Schlüssen wird man kommen, wenn man den Effekt der genannten Verbindungen auf einzelnen Zellen, z. B. auf Blutkörperchen, untersuchen kann. Hier kann man das Suspensionsmedium so wählen, daß seine Zusammensetzung bekannt und möglichst physiologisch ist, und in diesem Medium kann man den Effekt der einzelnen Phosphatide und Sterine auf die Körperchen genau studieren. Die so gewonnenen Resultate werden dann natürlich mit den nötigen Kautelen auf vitale Verhältnisse übertragen werden müssen.

Wir werden hier über Versuche berichten, in welchen der Einfluß einzelner Phosphatide und Sterine in ihren gegenseitigen Verhältnissen auf Blutkörperchen untersucht wurde. Aus diesen

¹⁾ Für die neuere Forschung der Phosphatidchemie siehe Levine's zahlreiche Arbeiten. Reprints Rockefeller Institution.

Versuchen werden wir dann zu mehr allgemeinen Schlüssen über die Bedeutung der studierten Substanzen für die Zelle kommen können.

Erste Mitteilung.

Die Bedeutung des „Lezithins“ für die normale Resistenz der Blutkörperchen und für die normale und pathologische Hämolyse.

In einer zunächst in dieser Zeitschrift erscheinenden Arbeit haben wir festgestellt, daß die osmotische Resistenz menschlicher und tierischer Blutkörperchen durch Waschen der Körperchen mit physiologisch äquilibrierter Salzlösung beträchtlich zunimmt. Im Gegensatz zu früheren Arbeiten, wo das Waschen der Körperchen mit reiner NaCl-Lösung immer Resistenzabnahme zur Folge hatte¹⁾, findet man bei Behandlung mit physiologisch äquilibrierter Salzlösung konstant eine erhebliche Resistenzzunahme. Da auch beim Waschen der Körperchen im Ultrafiltrat des entsprechenden Serums diese Resistenzzunahme stattfindet, können wir diese Erscheinung schwerlich als die Folge eines unphysiologischen Eingriffs deuten, sondern müssen im Gegenteil diese Resistenzhöhung für mehr „physiologisch“ halten als die Resistenzabnahme in reiner NaCl-Lösung.

Es liegt auf der Hand, vorläufig die Hypothese aufzustellen, daß durch das Waschen Agenzien beseitigt werden, die normalerweise die Blutkörperchenresistenz erniedrigen. Ob diese Resistenzabnahme durch bestimmte Substanzen verursacht wird oder mehr durch allgemeine kolloid-chemische Änderungen, können wir jetzt noch nicht sagen.

Wenn die Resistenzzunahme durch ein Ausspülen eines im normalen Blute vorkommenden hämolytischen Komplexes entsteht, so kann es möglich sein, daß die resistenten Körperchen ihre ursprüngliche Resistenz zurückbekommen, wenn man die (gewaschenen) Körperchen wieder in ihr eigenes Serum zurückbringt.

Wir haben deshalb folgende Versuche mit Kaninchen- und mit Menschenblut angestellt. Von jeder der Versuchsserien werden wir einen Versuch als Modell beschreiben; die analogen Versuche gaben immer dasselbe Resultat.

¹⁾ Snapper, diese Zeitschr. 43, 266. 1912.

1. Direkt zu der hypotonischen Lösung gefügt, zeigt das Kaninchenblut eine beträchtliche Hämolyse (35%) bei NaCl 0,34% (NaHCO₃ 0,17%, KCl 0,02%, CaCl₂ · 6 aq. 0,02%, [H⁺] = 0,45 · 10⁻⁷, [Ca²⁺] = ± 30 mg pro Liter)¹).

Blutkörperchen desselben Blutes, die zweimal mit isotonischer Lösung (NaCl 0,7% usw.) gewaschen wurden, zeigen bei NaCl 0,30% usw. noch keine Spur von Hämolyse.

Körperchen, welche zweimal in isotonischer Lösung gewaschen sind, werden wieder im Serum suspendiert und bei 37° aufbewahrt. Nach 1/2 Stunde zeigen diese Körperchen bereits leichte Hämolyse in NaCl 0,34% usw.; nach einer Stunde ist die Hämolyse in NaCl 0,34% usw. wieder 35%, wie vor der Waschung.

Auch bei Zimmertemperatur kehrt im Serum die normale Resistenz der gewaschenen Körperchen zurück.

Serum, das eine Stunde auf 56° gestellt wurde, hatte noch dieselben Eigenschaften; das hämolytische Komplex hat also eine gewisse Thermostabilität.

Aus diesen Versuchen können wir also folgern:

Indem man die gewaschenen resistenten Körperchen des Kaninchens wieder während ungefähr einer Stunde in ihr eigenes Serum zurückbringt, kehrt die ursprüngliche Resistenz wieder. Einstündige Erwärmung des Serums auf 56° hat keinen Einfluß auf diesen Prozeß.

Für das Menschenblut kann man dieselben Verhältnisse in dieser Weise nicht demonstrieren. Bringt man hier gewaschene Körperchen in ihr Serum zurück, so kehrt die ursprüngliche Resistenz nicht wieder. Wir werden später diese Erscheinung zu erklären suchen, wollen aber erst die Ergebnisse am Kaninchenblut weiter mitteilen.

2. Nach der Feststellung, daß die Resistenzzunahme ein reversibler Prozeß ist, haben wir zu untersuchen, ob die beschriebene Wirkung des Serums eine allgemein physikochemische ist (Viscosität usw.), oder ob wir bestimmte Substanzen nachweisen können, welche die Träger der resistenzerniedrigenden Eigenschaften sind.

In einer Serumalbumin- oder Gelatine-Salzlösung von derselben Viscosität wie das Blutserum haben wir keine Resistenzerniedrigung der gewaschenen Körperchen konstatieren können;

¹) Für die Bestimmung des [Ca²⁺] s. Brinkman und van Dam, Kon. Akad. v. Wetenschappen. DL XXVIII.

wir suchten deshalb nach mehr speziellen Substanzen für die Erklärung dieser Erscheinung.

In erster Linie haben wir dabei an das „Lecithin“ und die Serumseifen gedacht, weil von diesen Substanzen eine mehr oder weniger hämolytische Funktion bekannt ist.

Es lag nun auf der Hand zu prüfen, ob die resistenzerniedrigende Wirkung des Serums in den Alkohol- oder Ätherextrakt überging, und es war leicht festzustellen, daß dieses wirklich der Fall war.

Wenn man nämlich 1 ccm frisches Kaninchenserum in Papierstückchen nach Bang aufsaugt und diese 3 Stunden mit Alkohol oder mit Äther extrahiert, den Extrakt abdampft und den Rückstand in physiologische Salzlösung aufnimmt, so hat jetzt diese Salzlösung eine erhebliche resistenzerniedrigende Wirkung auf gewaschene Körperchen, welche der Serumwirkung überlegen ist, offenbar, da die hämolytischen Substanzen mehr konzentriert worden sind.

Wenn man mit Kaninchen im normalen Ernährungszustande arbeitet, bekommt man immer dieses Resultat.

Wir können also im allgemeinen sagen:

Die resistenzerniedrigende Wirkung des Kaninchenserums ist an Substanzen gebunden, die mit Alkohol und mit Äther extrahierbar sind.

3. Wenn also die Resistenzhöhung durch Auswaschen dadurch entsteht, daß alkohollösliche hämolytische Substanzen ausgespült werden, so müssen wir diese Substanzen auch in der Waschflüssigkeit auffinden können.

Wir konnten dieses folgenderweise zeigen.

0,2 ccm Kaninchenblut wurde in 4 ccm isotonischer äquilibrirter Salzlösung suspendiert und abzentrifugiert. Die Waschflüssigkeit wurde im Vakuum-Exsiccator eingetrocknet und der Rückstand in Alkohol gelöst. Der Trockenrest des Alkoholextraktes wurde in $\frac{1}{2}$ ccm isotonische Salzlösung aufgenommen; diese Lösung zeigte in starkem Maße die resistenzerniedrigende Wirkung des Serums.

Die Konklusion ist also:

Die Waschflüssigkeit des Kaninchenblutes enthält alkohollösliche Substanzen, welche resistenzerniedrigend sind.

4. Wir haben gezeigt, daß Kaninchenserum und auch die Waschflüssigkeit der Körperchen alkohollösliche Substanzen ent-

halten mit hämolytischen Eigenschaften. Wenn wir jetzt versuchen wollen zu analysieren, welche die betreffenden Substanzen sind, so haben wir wieder in erster Linie an „Lecithin“ zu denken (die Seifen kommen nur in sehr kleiner Konzentration vor). Wir haben deshalb untersucht, ob in dem Serum und Körperchenextrakt und in der Waschflüssigkeit Lecithin mit Hilfe der Reaktion nach Hamburger¹⁾ aufzufinden ist. Die genauere quantitative Analyse werden wir später nach der Bangschen Methode²⁾ ausführen.

Die Hamburgersche Reaktion gestaltet sich folgenderweise: In alkoholischer Lösung präzipitiert $\frac{1}{2}$ Volum konz. Salzsäure das Lecithin in der Kälte; durch Erhitzen der Flüssigkeit verschwindet die Lecithintrübung wieder völlig. Wir fanden, daß Cholesterin in alkoholischer Lösung ebenfalls von $\frac{1}{2}$ Volum HCl aufgeflockt wird, daß aber Cholesterin durch Erwärmen nicht wieder in (kolloidale?) Lösung geht.

Wir fanden nun folgendes:

1 cem Kaninchenserum in Bangschen Papierstückchen aufgesaugt, wird 10 Minuten mit Äther und dann 1 Stunde mit Alkohol extrahiert. Das Ätherextrakt gibt eine leichte Cholesterinreaktion (Liebermann), das Alkoholextrakt eine starke Lecithinreaktion.

Waschflüssigkeit von 0,5 cem Kaninchenblut wird eingedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen. Diese Lösung gibt eine starke Lecithinreaktion und eine schwache Cholesterinreaktion.

Dieselben Extrakte von Blutkörperchen geben eine viel schwächere Lecithinreaktion.

Das für unsere Untersuchungen wichtige Resultat ist also:

Die Waschflüssigkeit des Kaninchenblutes enthält „Lecithin“; daneben ist etwas Cholesterin anwesend. Der Serumextrakt enthält mehr Lecithin als der Körperchenextrakt.

5. Wir müssen jetzt untersuchen, wie diese Erscheinungen sich beim Menschenblut gestalten. Es wurde bereits angegeben, daß wir im Menschenserum nicht die resistenzerniedrigende Wirkung auffinden konnten, welche wir im Kaninchenserum fanden.

Wenn man z. B. Menschenblut zweimal in isotonischer äquilibrer Salzlösung wäscht, wird die Resistenz der Körperchen beträchtlich erhöht; bringt man dann diese Körperchen in

¹⁾ Hamburger, Arch. Néer. d. Physiol. 3, 361. 1919.

²⁾ Bang, diese Zeitschr. 91, 235. 1910.

Menschen Serum zurück (eine Stunde auf 37°), so ist die Resistenz noch dieselbe geblieben. Wir suchten diesen Unterschied folgenderweise zu erklären:

Wenn ein hämolytischer Komplex im Plasma auf die Körperchen einen Einfluß hat, so muß es mindestens zum Teil an diesen Körperchen gebunden sein. Wir machten nun die Annahme, daß, während das hämolytische Komplex im Kaninchenblut an den Körperchen gebunden und daneben auch frei im Plasma vorkommt, es im Menschenblut fast ausschließlich an den Körperchen gebunden ist. Wir prüften diese Annahme durch folgende Versuche:

Defibriertes Menschenblut wurde zentrifugiert, 1 ccm des Serums und 1 ccm der Körperchen in Bangschen Papierstückchen aufgesaugt und 2 Stunden mit Alkohol extrahiert, die Extrakte abdestilliert und die Rückstände in isotonische Salzlösung aufgenommen. Das Extrakt der Körperchen enthielt viel Lecithin und zeigte eine stark resistenzerniedrigende Wirkung; das Serumextrakt aber zeigte nur eine sehr leichte Lecithinreaktion und hatte fast keinen resistenzerniedrigenden Effekt.

Wir müssen hieraus schließen, daß im Menschen Serum nur wenig freies Lecithin vorkommt und daß fast alles Lecithin an den Körperchen gebunden ist.

Die Untersuchung der Waschflüssigkeit zeigte auch hier, daß beim Auswaschen aus den Körperchen eine beträchtliche Menge hämolytischer Komplex ausgespült wird, und daß ebenfalls eine Menge Lecithin aus den Körperchen tritt.

0,4 ccm Menschenblut wurde in NaCl 0,7% usw. ausgewaschen; die Waschflüssigkeit im Vakuum eingetrocknet, der Rückstand mit Alkohol extrahiert und das Alkoholextrakt abdestilliert; der Trockenrest wurde wieder in NaCl 0,7% usw. emulgiert. Diese Lösung hatte eine so stark hämolytische Wirkung, daß Körperchen, die 1 Stunde in dieser isotonischen Lösung auf 37° gestellt worden waren, fast völlig hämolytisch waren. Das Alkoholextrakt der Waschflüssigkeit zeigte dabei eine starke Lecithinreaktion.

Beim Menschenblut müssen wir also zu folgenden Schlüssen kommen:

Die Waschflüssigkeit von Menschenblut enthält einen hämolytischen Komplex; sie zeigt auch eine starke Lecithinreaktion. Das Extrakt menschlicher Körperchen enthält Lecithin und wirkt hämolytisch; der Extrakt von Menschen Serum enthält sehr wenig Lecithin und wirkt fast nicht hämolytisch. Menschen-

serum, das nicht konzentriert worden ist, hat keinen merkbaren resistenzerniedrigenden Einfluß.

Der genannte Unterschied von Menschen- und Kaninchenblut ist hiermit erklärt:

Beim Kaninchenblut werden durch das Auswaschen hämolytische Komplexe aus den Körperchen entfernt und ihre Resistenz wird dadurch größer; bringen wir nun diese resistenten Körperchen in Serum, das ja auch noch hämolytische Stoffe enthält, so nehmen sie diese Substanzen wieder auf und die Resistenz wird kleiner.

Beim Menschenblut verlieren die Körperchen ebenfalls ihre hämolytischen Komplexe und werden resistenter durch das Waschen. Im Menschenserum ist aber kein freier hämolytischer Komplex mehr vorhanden, der wieder absorbiert werden kann, und so kann sich hier die Resistenz der im Serum zurückgebrachten Körperchen nicht wieder verringern.

Übereinstimmend mit dieser Auffassung zeigte auch Calmette¹⁾ mit seiner Kobragift-Methode, daß Menschenserum kein freies Lecithin enthält.

6. Die in Nr. 1—5 mitgeteilten Versuche zeigen mit Sicherheit, daß das Blut einen normalen resistenzerniedrigenden Komplex enthält, der in physiologisch äquilibrierter Salzlösung ganz oder teilweise ausgespült wird.

Die Intensitäten der hämolytischen Wirkungen von Serum oder Waschflüssigkeit gehen parallel mit ihren Lecithinkonzentrationen. Besonders beweisend sind in dieser Hinsicht die Versuche zur Vergleichung von Menschen- und Kaninchenblut (vgl. sub 5).

Wir können also mit großer Wahrscheinlichkeit vermuten, daß die Resistenzzunahme der Körperchen durch Ausspülen von Lecithin aus der Körperoberfläche entsteht. Wir wollen nicht behaupten, daß das Lecithin die einzige Komponente des hämolytischen Komplexes darstellt, aber jedenfalls war die Intensität der normalen resistenzerniedrigenden Wirkung von der Lecithinkonzentration abhängig.

¹⁾ Calmette, Les venins, les animaux vénimeux et la sérothérapie. Masson, Paris 1909.

Es war also für unsere Untersuchungen von großer Wichtigkeit, die Eigenschaften der Lecithinhämolyse näher kennenzulernen, da wir dadurch zu gleicher Zeit die normale hämolytische Funktion des Serums studieren konnten.

Die folgenden Versuche haben einige der wichtigsten Tatsachen festgestellt.

Eine Lecithinemulsion wurde aus Mercks Lecithin puriss. ex ovo bereitet. Wir sind uns bewußt, daß dieses „Lecithin“ kein reines Produkt ist und nicht mit dem Blutphosphatid identisch zu sein braucht. Ein besseres Präparat konnten wir aber nicht bekommen, und die Resultate mit diesem Produkt können uns doch ein Bild des Phosphatideinflusses geben. Von diesem Lecithin wurde eine Emulsion in NaCl 0,28% usw. bereitet, welche 50 mg pro 10 ccm enthielt. 0,005 ccm dieser Emulsion genügt, um resistente gewaschene Körperchen, die in NaCl 0,30% usw. noch keine Spur von Hämolyse zeigen, innerhalb einer halben Stunde in NaCl 0,30% usw. komplett zu hämolyzieren.

Die Intensität der Resistenzerniedrigung ist proportional der Lecithinkonzentration, wie aus untenstehenden Versuchen mit Menschenblut hervorgeht.

0,02 ccm Blut, direkt in NaCl 0,32% gebracht, zeigt starke Hämolyse (80%); wenn diese Körperchen zweimal in NaCl 0,7% usw. gewaschen werden, ist nachher in NaCl 0,30% usw. noch keine Hämolyse zu sehen.

Fügt man aber zu 2 ccm der in NaCl 0,7% usw. suspendierten gewaschenen Körperchen 0,02 ccm der obengenannten Lecithinemulsion, dann zeigen diese Körperchen, wenn sie nach 5 Minuten untersucht werden, bei NaCl 0,32% eine Hämolyse von 30—40%; nach viertelstündigem Verweilen in dem lecithinhaltigen NaCl 0,7% usw. ist die Resistenzerniedrigung viel größer geworden, und wenn die Körperchen eine halbe Stunde in der Lecithinlösung bleiben, kommt es in NaCl 0,32% usw. zur kompletten Hämolyse.

Wenn zu der Körperchensuspension 0,01 ccm der Lecithinemulsion statt 0,02 ccm gefügt wird, sehen wir dieselben Erscheinungen; allein ist die Resistenzerniedrigung nicht so stark und führt erst in längerer Zeit zur kompletten Hämolyse in NaCl 0,32% usw. Werden nun 0,002 ccm der Lecithinemulsion genommen, so wird die Hämolyse in NaCl 0,32% ebenso stark, wie wenn das Blut direkt zu dieser Lösung gefügt worden war, also 80%. Längeres Verweilen in der isotonischen Lösung, die 0,002 ccm Emulsion auf 2 ccm Lösung, also 0,0005% Lecithin enthält, hat keinen weiteren erniedrigenden Einfluß auf die Resistenz mehr.

Wir können diese Ergebnisse also folgenderweise zusammenfassen:

Durch Hinzufügen einer sehr geringen Lecithinmenge zu der isotonischen äquilibrierten Salzlösung bewirkt man, daß die Resistenz der Körperchen in dieser Lösung nicht mehr zunimmt, sondern abnimmt. Die Intensität dieser hämolytischen Wirkung

ist von der Einwirkungszeit und von der Lecithinkonzentration abhängig. 0,0005% Lecithin bewirkt, daß die Hämolyse ungefähr ebenso stark wird wie bei direkter Zufügung des Blutes zu der hypotonischen Lösung.

Durch diese Versuche ist es noch deutlicher geworden, daß die normale resistenzerniedrigende Wirkung des Serums eine Lecithinwirkung ist. Einerseits zeigten wir sowohl beim Serum wie bei der reinen Lecithinemulsion, daß die Stärke der hämolytischen Wirkung immer der Lecithinkonzentration proportional ist, andererseits haben wir jetzt gefunden, daß eine sehr geringe Menge Lecithin (ex ovo) dieselbe Resistenzerniedrigung gibt wie das Serum.

7. Wir müssen noch eine interessante Eigenschaft der Lecithinhämolyse angeben, die wir noch nicht näher untersucht haben, aber die uns wichtig genug zu sein scheint, um sie schon jetzt zu vermelden. Bei den oben beschriebenen Versuchen studierten wir nämlich immer den Lecithineinfluß in isotonischen Salzlösungen und fanden eine Resistenzerniedrigung. Emulgiert man aber das Lecithin in hypotonischer Salzlösung, so verringert das Phosphatid nicht die Resistenz, sondern erhöht sie sogar ein wenig. Für die hämolytische Wirkung des Lecithins ist also bestimmt eine isotonische Ionenkonzentration notwendig.

Folgende Versuche geben eine Übersicht dieser Verhältnisse:

0,02 ccm Menschenblut in 2 ccm NaCl 0,7% usw., dann in 2 ccm NaCl 0,30% usw.	Hämolyse 40%
0,02 ccm Menschenblut in 2 ccm NaCl 0,7% usw., dann in 2 ccm NaCl 0,30% usw. + 0,01 ccm Lecithinemulsion	keine Hämolyse
0,02 ccm Menschenblut in 2 ccm NaCl 0,70% usw. + 0,01 ccm Lecithinemulsion, dann in 2 ccm NaCl 0,30% usw. + 0,01 ccm Lecithinemulsion	Hämolyse 50%
0,02 ccm Menschenblut in 2 ccm NaCl 0,7% usw. + 0,01 ccm Lecithinemulsion, dann in NaCl 0,30% usw.	komplette Hämolyse

Man wird sich noch denken können, daß nicht die Isotonie, sondern die Koincidenz von Serum und Lecithin das für die Hämolyse bestimmende Moment sei. Man kann aber das Serum erst völlig auswaschen und danach doch eine ebenso intensive Lecithinwirkung in isotonischer Lösung beobachten. Folgende Versuche geben ein Beispiel:

0,02 ccm Menschenblut in 2 ccm NaCl 0,7% usw., abzentrifugieren und wieder in NaCl 0,7% usw.; dasselbe noch einmal und dann in NaCl 0,30% usw. Hämolyse 20%

Derselbe Versuch, aber jetzt zu der NaCl 0,30% usw. 0,005 ccm Lecithin-
emulsion gefügt keine Hämolyse

Derselbe Versuch, aber jetzt nach 3 maligem Auswaschen die Körperchen in 2 ccm NaCl 0,7% usw. + 0,005 ccm Lecithinemulsion suspendiert, während 5 Minuten; jetzt kommt in NaCl 0,30% usw. Hämolyse 90%

Man kann auch für den ganzen Versuch eine und dieselbe Portion Körperchen verwenden:

0,02 ccm Blut in NaCl 0,7% usw.; 2 mal mit NaCl 0,7% usw. auswaschen und dann in NaCl 0,28% usw. — keine Hämolyse; dann in NaCl 0,28% usw. + 0,01 ccm Lecithinemulsion — keine Hämolyse. Dann in NaCl 0,7% + 0,01 ccm Lecithinemulsion und dann 80% Hämolyse in NaCl 0,28% usw.

Es findet sich also, daß nicht die Koincidenz von Serum und Lecithin für die Hämolyse bestimmend ist, sondern nur die Anwesenheit einer isotonischen Salzlösung.

Endlich haben wir auch zeigen können, daß die beschriebene Lecithinwirkung durch kleine Konzentrationen Cholesterin absolut aufgehoben wird. Wir werden in der dritten Mitteilung weiteres über diesen interessanten Antagonismus angeben können.

8. Bei Gelegenheit anderer Untersuchungen hatten wir bemerkt, daß Blutkörperchen des Kaninchens nach einmaligem Auswaschen mit isotonischer Rohrzuckerlösung eine erhebliche Resistenzabnahme erlitten und sogar in isotonischer Rohrzuckerlösung hämolysierten. Wir haben deshalb auf die oben angegebene Weise den Einfluß des Auswaschens in Rohrzucker auf die Körperchen untersucht.

Kaninchenblut wurde in Rohrzuckerlösung 8% gewaschen; die Waschflüssigkeit in vacuo eingedampft und der Rückstand mit Alkohol extrahiert; das Extrakt gibt keine Lecithinreaktion und eine schwache Cholesterinreaktion.

Ein in dieser Weise angefertigter Alkoholextrakt der Rohrzuckerwaschflüssigkeit wurde wieder eingedampft und der Trockenrest wieder in Rohrzuckerlösung aufgenommen. In diese Lösung wurden jetzt Blutkörperchen gebracht, die einmal in isotonischer Rohrzuckerlösung gewaschen waren; nach einer Stunde auf 37° war keine Hämolyse aufgetreten.

In einem Kontrollröhrchen, worin einmal mit Rohrzucker gewaschene Körperchen wieder in frische isotonische Rohrzuckerlösung gebracht wurden, war nach einer Stunde auf 37° 70% Hämolyse aufgetreten.

0,1 ccm Menschenblut wurde in 5 ccm Rohrzuckerlösung 8% gewaschen; die eingedampfte Rohrzuckerlösung, mit Alkohol extrahiert, gab eine schwache Cholesterinreaktion und keine Lecithinreaktion. Dieselben in isotonischer Rohrzucker gewaschenen Körperchen wurden jetzt in NaCl 0,7% usw. suspendiert und nach 5 Minuten abzentrifugiert. Die Salzlösung enthielt jetzt viel Lecithin und hatte eine erhebliche resistenzerniedrigende Wirkung.

Aus diesen Versuchen gehen die folgenden Resultate hervor:

In isotonischer Rohrzuckerlösung wird das Lecithin nicht ausgespült, wohl wird Cholesterin ausgewaschen.

Durch diese Ergebnisse ist es deutlich geworden, weshalb das einmal in Rohrzucker gewaschene Kaninchenblut in der isotonischen Rohrzuckerlösung hämolysieren kann. Das Lecithin wird ja nicht ausgespült, aber wohl der funktionelle Antagonist Cholesterin; dadurch verschwindet die normale Hemmung der Lecithinfunktion.

Man wird einsehen, daß diese Ergebnisse für die experimentelle Hämolysenforschung nicht ohne Interesse sind; wir wissen jetzt, daß die Körperchen in Salzlösung sich ganz anders verhalten wie in Zuckerlösungen. Auf die Bedeutung dieser Tatsachen für die serologische Forschung werden wir später zurückkommen.

Fassen wir jetzt noch einmal die in 1—9 gewonnenen Resultate kurz zusammen, so können wir das in folgenden Sätzen schreiben:

1. Die osmotische Resistenz der Blutkörperchen wird durch Waschen in physiologisch äquilibrirter Salzlösung erhöht.

2. Die Ursache dieser Resistenzerrhöhung ist das Auswaschen von Lecithin aus den Körperchen.

3. Das Lecithin hat einen resistenzerniedrigenden Einfluß auf die Körperchen, aber nur in isotonischer Salzlösung; es wird vom Cholesterin antagonistisch beeinflußt.

4. In isotonischer Rohrzuckerlösung wird das Lecithin nicht ausgespült.

Diese Resultate können in mehreren Weisen praktisch physiologisch und serologisch verwendet werden. Wir werden in dieser Mitteilung nicht detailliert darauf eingehen und nur einige allgemeine Verwendungen besprechen.

In erster Linie haben wir auf diesen Ergebnissen eine Blutuntersuchungsmethode fundiert, die eine tiefergehende Analyse des roten Blutbildes zu geben vermag als die bisherigen Methoden.

Bei der rationellen Bestimmung der osmotischen Resistenzkurve¹⁾ können wir auf 2 Weisen vorgehen. Wir können das Blut direkt zu den hypotonischen Lösungen fügen, wir können aber auch die Körperchen erst bis zur maximalen Resistenz auswaschen und dann die Resistenzkurve bestimmen. Mit diesen beiden Methoden untersucht man zwei prinzipiell ganz verschiedene Zustände der Körperchen, wie wir in folgender Überlegung zeigen werden.

In welcher Weise man sich die Struktur der Körperchen auch zu denken hat, man wird zugeben müssen, daß die Körperchenoberfläche eine lokale Konzentration von capillar-aktiven Substanzen darstellen muß, welche in den Körperchen und im Suspensionsmedium gelöst sind. Wird das Adsorptionsgleichgewicht zerstört durch wiederholtes Auswaschen in Salzlösung, so wird das capillar-aktive Lecithin (und Cholesterin?), welches die Körperchen aus dem lecithinhaltigen Plasma adsorbiert hatten, wieder ausgespült. Und da das Lecithin eine beträchtliche resistenzerniedrigende Wirkung hat, so erhöht sich dadurch die Resistenz.

Wenn wir aber die Körperchen direkt in die hypotonische Lösung bringen, so tritt die Hämolyse so schnell auf, daß nur sehr wenig Lecithin ausgespült sein kann. Wir untersuchen also in diesem Falle Körperchen unter dem Einfluß ihres betreffenden Plasmas.

Wenn wir aber die osmotische Resistenzkurve von Körperchen bestimmen, die bis zur maximalen Resistenz gewaschen sind, dann untersuchen wir Zellen, welche von ihrem Plasma-Lecithin so gut wie möglich befreit worden sind, welche also dichter bei den Zellen stehen, welche noch nicht im Plasma aufgenommen sind. Es ist gewissermaßen, als ob wir in hämolytischer Hinsicht durch die erste Methode Plasmaplasmakörperchen, durch die zweite Knochenmarkkörperchen untersuchen. Wir wollen dann auch die Kurve im Blut, welches direkt zur hypotonischen Lösung hinzugefügt worden ist, die sekundäre, und

¹⁾ Brinkman, diese Zeitschr. 108, 66. 1920.

die Kurve der gewaschenen Körperchen die primäre Resistenzkurve nennen.

Die hier entwickelte Anschauung wird erheblich gestützt durch die Tatsache, daß die essentiell primäre Blutänderung, die Regeneration der Körperchen, nur in der primären Kurve deutlich anzutreffen ist. Wir werden die diesbetreffenden Versuche in einer demnächst in dieser Zeitschrift erscheinenden Mitteilung veröffentlichen.

Die sekundären Blutkörperchenänderungen, wie wir sie z. B. durch Blutgifte und abnorme Ernährung erzeugen können, sind in erster Linie nur in der sekundären Kurve zu sehen; nur wenn diese Einflüsse zur erhöhten Regeneration oder zur Hemmung der Regeneration Anlaß geben, erfolgt eine Änderung der primären Kurve.

Durch diese Methode hoffen wir eine rationelle Analyse der primären und sekundären Blutänderungen geben zu können.

Mit Sicherheit ist aus unseren bisherigen Versuchen der hämolytische Einfluß des Plasmalecithins auf die Körperchen hervorgegangen. Dieser Einfluß ist normalerweise nicht so stark, daß er zur Hämolyse führt, aber eine erhebliche Resistenzabnahme kann immer gefunden werden. Zwischen Hämolyse und Resistenzabnahme ist der Unterschied nur graduell; die Wirkung eines hämolytischen Agens kann in kleineren Konzentrationen schon durch Resistenzerniedrigung aufgedeckt werden. So zeigt z. B. Frieda Ottiker¹⁾, daß Verankerung eines Hämolytins an die Körperchen in einer Menge, die an sich noch keine Hämolyse bewirkt, an der Herabsetzung der osmotischen Resistenz zu erkennen ist, und daß dies auch für die im Körper vorkommenden, Autolyse bewirkenden Substanzen gilt. Auch in der Serologie der Hämolyse findet man sehr viele Tatsachen, die auf die Bedeutung des Lecithins für die normale und pathologische Hämolyse hinweisen.

Grundlegend sind die bekannten Landsteinerschen Versuche mit Kieselsäure und Lecithin²⁾. Die hämolytische Wirkung der Kieselsäure kann nur beträchtlichen Effekt haben, wenn durch Lecithin die Kieselsäure zu einem Lecithin-Organosol wird

¹⁾ Ottiker, Inaug.-Diss. Zürich 1914.

²⁾ Landsteiner und Hagie, Wien. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 3.

und in diesem Zustand mit den Körperchenkolloiden reagieren kann.

Auch das hämolytische Kobragift bedarf bekanntlich Lecithin zu seiner Wirkung, wie in einer großen Reihe von Untersuchungen festgestellt worden ist; zur Erklärung hat man die Existenz von Kobragiftlecithiden, also von chemischen Einflüssen zu beweisen gesucht; es bleibt aber eine Frage, ob auch hier nicht die kolloidchemische Erklärung wie bei der Kieselsäurehämolyse genügen wird¹⁾.

Für die hämolytische Wirkung des Saponins ist die große Bedeutung des Lecithins ebenfalls dargestellt; die Widerstandsfähigkeit der Körperchen gegen Saponin nimmt zu mit dem Quotient Cholesterin: Lecithin²⁾, die Membrane von Pascucci wurden am leichtesten von Saponin angegriffen, wenn sie viel Lecithin und wenig Cholesterin enthielten³⁾.

Auch für die parasitären Hämolysine (Skorpiongift, Bienengift, Würmergift) ist ein stark aktivierender Einfluß des Lecithins bekannt.

Man sieht also, daß das Lecithin auch bei der serologischen Hämolyse eine sehr wichtige Rolle spielt. Es erinnert in seinem Verhalten durchaus an die natürliche komplementäre Funktion des Serums; zwar können wir nicht sagen, daß eine direkte Identität von Serumkomplement mit Lecithin besteht, aber beide Stoffe haben doch zuviel analoge Eigenschaften, als daß wir nicht eine innigere Beziehung zwischen ihnen annehmen müssen.

Wir werden später ausführlicher auf diesen Gegenstand zurückkommen müssen, wollen aber hier noch einige Tatsachen mitteilen, die den Zusammenhang von „Lecithin und Komplement“ noch näher charakterisieren.

Seit den Untersuchungen von Buchner, Ferrata, Sachs und Teruchi, Brand, Hecker usw.⁴⁾ ist es bekannt, daß das Komplement in salzfreier isotonischer Lösung nicht imstande ist, hämolytische Amboceptoren zu aktivieren. In Übereinstimmung hiermit fanden wir die hämolytische Lecithinwirkung nur in isotonischer Salzlösung; in hypotonischer Lösung erfolgt sogar

¹⁾ Siehe bei Landsteiner im Handbuch der Biochemie II, 1, 395.

²⁾ K. Meyer, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 357. 1908.

³⁾ Pascucci, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 552. 1905.

⁴⁾ Siehe bei Landsteiner, l. c.

eine Hemmung der Hämolyse, wie sie auch beim Komplement unter besonderen Umständen beobachtet worden ist. Die genannte Erscheinung der Komplementinaktivierung ist noch viel eingehender analysiert worden und hat zu der Spaltung des Komplementes in Mittelstück (Globulinfraktion) und Endstück (Albuminfraktion) geleitet.

In einer ausführlichen Arbeit hat nun Guggenheimer¹⁾ festgestellt, daß Körperchen, welche in Rohrzuckerlösung gewaschen sind, schon mit dem Mittelstück beladen und dadurch persensibilisiert sind, d. h. durch Endstück und Amboceptor hämolysieren.

Andererseits haben wir (sub N. 8) gefunden, daß Körperchen, welche in Rohrzuckerlösung gewaschen werden, ihre Lecithinhülle behalten und nicht, wie bei der Auswaschung in Salzlösung, verlieren.

Aus dieser Vergleichung erhellt also ein weitgehender Parallelismus vom Komplementmittelstück und Lecithin, welchen wir noch durch die chemische Untersuchung von Globulin- und Albuminfraktion des dialysierten Serums vervollständigen müssen.

Auch bei der Kobragifthämolyse ist es bekannt, daß nur in Rohrzuckerlösung keine Lecithinaktivierung mehr notwendig ist. Bang²⁾ hat aus diesem differenten Verhalten der Kobragifthämolyse in Salzlösung und in Zuckerlösung eine Reihe von Annahmen gemacht; wir wissen jetzt aber, daß die Körperchen in Zuckerlösung noch ihre Lecithinhülle besitzen, und daß das Kobragift also auch hier von Lecithin aktiviert werden kann.

Wenn wir aus allen diesen Tatsachen den Zusammenhang zwischen Lecithin und Serumkomplement ersehen, so ist es auch nicht gewagt, den von uns gefundenen normalen Lecithineinfluß dem natürlichen Autolysineinflusse parallel zu setzen. Ob das natürlich autolytische Komplex einzig und allein aus Lecithin besteht, oder daß Lecithin nur wie eine Art Mittelstückkomplement wirkt, bleibt noch eine offene Frage. Jedenfalls wissen wir, daß auch für die natürliche Hämolyse das Lecithin eine wichtige Rolle spielt.

¹⁾ Guggenheimer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 8, 295. 1911.

²⁾ S. Bang, Ergebn. physiol. 8, 463. 1909.

Zusammenfassung.

Es wurde nachgewiesen, daß die von uns beobachtete Resistenzserhöhung roter Blutkörperchen durch Waschen mit physiologisch äquilibrirter Salzlösung seine Ursache in dem Ausspülen von Lecithin aus der Körperchenoberfläche findet.

Das Lecithin des normalen Plasmas ist also an der Körperchenoberfläche adsorbiert und erniedrigt physiologischerweise die Resistenz; es wird dabei von Cholesterin antagonistisch beeinflusst.

Ausgehend von diesen Tatsachen wurde eine Methode zur Resistenzbestimmung angegeben, welche gestattet, die Körperchen in zweierlei Weise zu untersuchen, nämlich unter dem Einfluß ihres Plasmas und nativ, wie sie vom Knochenmarke kommen.

Es wurde weiter auf die Analogie der Eigenschaften des Plasmalecithins und des normalen Komplementes hingewiesen und neue Beziehungen zwischen dem Phosphatid und dem Mittelstück des Komplementes festgestellt.

Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II.

Von

B. Brinkman und Frl. E. van Dam.

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen, Holland.)

(Eingegangen am 11. Mai 1920.)

Die Bedeutung des Cholesterins für die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Zelloberfläche.

In seinem „Osmotischen Druck und Ionenlehre¹⁾“ wird von Hamburger die Aufmerksamkeit auf die von ihm und später auch von anderen beobachtete Tatsache gelenkt, daß die bikonkave oder Glockenform der normalen Erythrocyten in anderen Flüssigkeiten als im Plasma der Kugelform zustrebt. Er sagt nämlich: „In welche Lösungen man die Blutkörperchen auch bringt, es mögen isotonische, hyperisotonische oder hypisotonische Salz- oder Zuckerlösungen sein, es mögen mit Wasser verdünntes Serum, normale oder pathologische Lymphe sein, stets verlieren die roten Blutzellen die bikonkave Gestalt und erfahren eine Verkleinerung des größeren Durchmessers. Bleibend sind diese Veränderungen nicht, denn wenn man die Blutkörperchen wieder in ihr eigenes Serum zurückbringt, so bekommen sie auch wieder ihre bikonkave Gestalt.“ Und weiter: „Vielleicht handelt es sich hier um eine Veränderung der Oberflächenspannung, die sich bei jeder Veränderung der chemischen Zusammensetzung des Mediums entsprechend modifizieren muß.“

Unseres Wissens ist eine Erklärung der von Hamburger beschriebenen Erscheinung nicht gegeben worden. Das Ziel folgender Versuche ist in erster Linie eine Analyse dieses Phänomens und eine Erklärung der Formänderung. Zu gleicher Zeit können wir in diesen Versuchen einen Beitrag zu den Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine erblicken.

¹⁾ Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre I, S. 199—200; Arch. f. d. ges. Physiol. 141, 230. 1895.

I. Das Verhalten der Körperchen in reiner NaCl-Lösung und in physiologisch equilibrierter Salzlösung.

Für die folgenden Versuche benutzten wir immer das Blut des Kaninchens. Mit Körperchen meinen wir also die Körperchen des Kaninchens. In späteren Versuchen haben wir gesehen, daß mit den Körperchen des Menschen dieselben Resultate gewonnen werden.

Fügt man 0,02 ccm Blut zu 2 ccm einer 0,9proz. NaCl-Lösung, welche mittels einer Spur NaHCO_3 neutralisiert worden ist, und bringt man ein wenig dieser Suspension in die sorgfältig gereinigten und getrockneten Zählkammer eines Thoma-Zeiss-Apparates, legt ein Deckgläschen auf und untersucht sofort, dann sieht man folgendes.

Die im Anfang bikonkaven Körperchen nehmen fast unmittelbar eine unregelmäßige Rosetten- oder Sternform an und werden kleiner. Wartet man, bis die Körperchen auf den Boden gesunken sind, so sieht man, daß sie noch etwas mehr kugelförmig geworden sind, mit zahllosen kleinen Spitzen. Weitere Formänderung erleiden sie in dieser Lösung nicht; das Endstadium ist also die sogenannte „Stechapfelform“.

Eine reine Kugelform sieht man aus dieser Stechapfelform entstehen, wenn man die Körperchen in eine mehr physiologische Salzlösung suspendiert. Dafür benutzten wir die bereits früher von uns beschriebene physiologisch equilibrierte Salzlösung: NaCl 0,7%, NaHCO_3 0,18%, KCl 0,02%, $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,02%, $[\text{H}^+] = 0,45 \cdot 10^{-7}$ und $[\text{Ca}^{++}] = \pm 30 \text{ mgr pro Liter}^1$). In dieser Suspensionslösung zeigen die Körperchen in der trocken geriebenen Zählkammer die folgenden Formänderungen: In dem Augenblick, da sie in die Zählkammer gebracht werden, sind sie noch bikonkav; sofort werden sie dann unregelmäßig, rosettenförmig; dann bekommen sie die Stechapfelform, schließlich werden sie kugelförmig mit sehr feinen Ausläufern, um in Kügelchen zu enden. Die ganze Formänderung währt nur 1–2 Minuten, nur das Verschwinden der letzten Spitzchen auf den Kügelchen dauert etwas länger.

¹⁾ R. Brinkman, Einige Bemerkungen über die Bedeutung des Blutkalks. Diese Zeitschr. 95, 101. 1919.

II. Die Ursache des Entstehens der Kugelform.

Wir hatten also gesehen, daß die Kugelform nicht in der Salzlösung entstand, sondern erst wenn die Suspension in die Zählkammer gebracht wurde. Die Formänderung kann also erst hier ihre Ursache finden. Weiter ersahen wir, daß die Kugelform nicht unmittelbar aus der bikonkaven Form entstand, sondern über Rosetten- und Stechapfelform. Der ganze Verlauf erinnert direkt an die von Rollett beschriebene Formänderung, wenn das Blut von Funken aus einer Leidener Flasche getroffen wurde; hier entstanden vor der finalen Hämolyse genau dieselben Formen.

Die Versuche von Rollett¹⁾ führten uns zu der Annahme, ob auch nicht in unserem Fall die Entstehung der Kugelform abhängig sein würde von einer elektrischen Ladung der Körperchen. Wir wußten bereits, daß die Kugelform erst auf dem Objektträger entstand, und es war doch sehr wohl möglich, daß dieser Objektträger geladen war, weil er immer mit einem Stückchen Leinwand trocken gerieben wurde.

Unsere Annahme erwies sich als richtig. Wenn wir Objektträger und Deckgläschen sorgfältig in der Flamme entladen hatten, sahen wir sowohl in NaCl-Lösung wie in physiologisch-equilibrierter Salzlösung nur die normale bikonkave Form. Die Ursache des Entstehens der Kugelform ist also der Einfluß einer elektrischen Ladung auf die Körperchen.

Im Serum behalten die Körperchen ihre normale Form, auch wenn der Objektträger geladen ist. Hier muß man eine sehr große Ladung einer Leidener Flasche anwenden, um die Blutkörperchen kugelförmig zu machen; von der geringen Ladung eines Objektträgers spüren wir keinen Einfluß.

III. Eine genauere Analyse des Einflusses einer geringen elektrischen Ladung auf Blutkörperchen in Serum und in Salzlösung.

Bringt man in der Zählkammer eines geriebenen Thoma-Zeiss-Apparates eine Salzlösung, so wird diese geladen werden; schweben Blutkörperchen in dieser Salzlösung, so haben wir den Fall, daß sich kleine Körperchen im Innern eines geladenen Leiters befinden. Im Innern dieses Leiters kann kein elektrisches Feld bestehen; solange also die Körperchen nicht mit der Ober-

¹⁾ Rollett, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. 46. 1862.

fläche der Lösung in Berührung sind, werden sie nicht geladen werden können. Erst wenn sie auf dem Boden der Zählkammer gesunken sind, können die Körperchen geladen werden.

Stellt man sich nun das Körperchen als einen kleinen bikonkaven Leiter vor, dann ist es unseres Einsehens nach wohl deutlich, daß eine elektrostatische Ladung dieser elastischen Körperchen zu der Kugelform führen wird. An den stark gekrümmten Rändern des Körperchens wird die Ladungsdichte viel größer sein als in der Mitte des Scheibchens; an den Rändern werden also viel stärkere elektrische Kräfte herrschen, welche durch ihre anziehende Wirkung auf die Moleküle der Stoffe das elastische Körperchen umformen werden, bis die Krümmung überall gleich groß geworden ist, d. h. bis die Kugelform erreicht ist.

In diesem Gedankengang ist aber vorausgesetzt, daß der leitende Blutkörpercheninhalt in einer leitenden Verbindung mit der Flüssigkeitsoberfläche steht, und dies ist im Plasma (Serum) nicht der Fall. Wissen wir doch, daß Körperchen im Serum den Strom fast nicht leiten, weil normalerweise in der Zellmembran nur sehr wenig Ionenbewegung unter diesen Umständen möglich ist. Im Serum wird das Körperchen immer noch von einer isolierenden Zellmembran von der Ladungsoberfläche getrennt sein, und es wird also nicht geladen werden können. Hierin muß der Grund gelegen sein, weshalb Körperchen in Serum ihre normale Form bewahren, wenn sie mit einer geladenen Oberfläche in Berührung kommen; nur kräftige Entladungen können die Isolation überwinden, wie auch eine starke Entladung eine Glasplatte durchbohren kann.

In Salzlösungen ist der Zustand aber anders. In der ersten Mitteilung dieser Serie¹⁾ zeigten wir, daß die Blutkörperchen in Salzlösungen ihre Kondensationsmembrane größtenteils verlieren, weil Lecithin und Cholesterin aus der Blutkörperchenoberfläche gehen und in der Salzlösung aufzufinden sind, dies infolge einer Störung des Adsorptionsgleichgewichts. Durch diese Emulgierung der Zelloberfläche entsteht eine Permeabilitäts- und Resistenzänderung, und dies ist auch die Erklärung der Tatsache, daß in Salzlösungen die normale Isolation der Blutkörperchen verschwunden ist, weil ja die isolierenden Stoffe nicht mehr an der Oberfläche kondensiert sind. In Salzlösung wird also

¹⁾ Diese Zeitschr. 108, 35. 1920.

der gut leitende Blutkörpercheninhalt in einer leitenden Verbindung mit der Ladungsoberfläche stehen, mit andern Worten jetzt werden die Blutkörperchen geladen werden.

Der Unterschied zwischen dem Zustand der Blutkörperchen im Serum und in physiologischer Salzlösung soll also der sein, daß im Serum die Körperchen von einer isolierenden Zellmembran umgeben sind (welche entstanden ist durch die Oberflächenkondensation isolierender Stoffe), während diese Membran in Salzlösungen ganz oder teilweise verschwunden ist.

IV. Welche Substanz ist verantwortlich zu machen für die normale Isolation der Blutkörperchen?

Wenn man untersuchen will, welche der konstituierenden Bestandteile der Zellmembran als isolierende Substanz würde dienen können, so kommen hauptsächlich Eiweißstoffe, Lecithin und Cholesterin in Betracht. Die Eiweißstoffe mit ihrem ausgesprochenen Elektrolytcharakter können wir wohl ausschließen, und auch die Phosphatide haben noch eine größere Anzahl Elektrolyt-Eigenschaften als die Sterine. Letztere sind praktisch ganz Anelektrolyt. Für einen stark isolierenden Stoff kommt also in erster Linie das Cholesterin in Betracht.

Es fällt uns in der Tat leicht, zu zeigen, daß nur Cholesterin die normale Isolation der Körperchen aufrecht erhalten kann. Bringt man Blutkörperchen, die zweimal mit physiologischer Salzlösung gewaschen sind, in eine Salzlösung auf ein geriebenes Objektglas, so nehmen sie sehr bald unter dem Einfluß der elektrischen Ladung die Kugelform an. Bringt man diese Körperchen aber in einen Tropfen Serum, so behauptet sich die bikonkave Form, wie schon oben erwähnt wurde.

Aber auch wenn die Blutkörperchen in einer 0,1 proz. Cholesterinsuspension in Salzlösung untersucht werden, ergibt es sich, daß die bikonkave Form behalten wird¹⁾. Wir müssen also annehmen,

¹⁾ Die Suspension wurde in folgender Weise bereitet: 100 mg Cholesterin wurde in ungefähr 10 ccm Aceton gelöst und diese Lösung in einem Male zu einer physiologischen Salzlösung gefügt, worin 0,5% reiner Serumalbumin (Merck) gelöst worden war. Die also erhaltene Suspension wurde von Aceton befreit durch das Durchleiten von Luft bei einer Temperatur von ungefähr 30°. Als der Acetongeruch ganz verschwunden war, wurde die Lösung zum ursprünglichen Volum mit destilliertem Wasser aufgefüllt;

daß sich in dieser Suspension wieder eine isolierende Membran an der Blutkörperchenoberfläche kondensiert hat, wodurch die Blutkörperchen ungeladen bleiben.

In einer 0,1 proz. Lecithinemulsion in Salzlösung oder in einer 0,5 proz. Serumalbuminlösung in Salzlösung findet gar keine Isolation der Blutkörperchen statt; sie verhalten sich einem elektrischen Einfluß gegenüber genau wie in einer reinen Salzlösung.

Die normale Isolation der Blutkörperchen im Plasma kann also nur das Cholesterin besorgen; ob die Cholesterinester auch ein isolierendes Vermögen haben, ist nicht von uns untersucht worden.

V. Die Bedeutung des Cholesterins für die Zelloberfläche.

Die Tatsache, daß neben den Phosphatiden immer Cholesterin in den tierischen Zellen und Flüssigkeiten vorkommt, weist auf eine allgemeine Bedeutung dieser Substanz hin. Es ist wohl eigentümlich, daß die physikalisch und chemisch doch so verschiedenen Gruppen der Phosphatide und Sterine im Organismus so konstant nebeneinander vorkommen, daß man sie unter einem allgemeinen Namen zusammenfaßte. Die Funktionen dieser Substanzen sind erst in der letzten Zeit etwas mehr bekannt geworden; man sucht ihre Bedeutung jetzt hauptsächlich in physikalisch-chemischer Richtung.

Es ist deutlich geworden, daß diese Lipoide einen wichtigen Bestandteil der Zelloberfläche bilden, und daß ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften die Zellenpermeabilität stark beeinflussen.

Für das stark capillär-aktive Lecithin ist diese Oberflächen-Kondensation nach dem Gibbs-Thomson'schen Prinzip¹⁾ sehr verständlich. Weil das Phosphatid die Oberflächenspannung Blutkörperchenplasma erniedrigt, so soll es an dieser Phasengrenze kondensiert sein. Die Dispersitätsänderungen, die diese dünne Schicht unter dem Einfluß adsorbativer und elektrochemischer Kräfte erfahren kann, sind von fundamentaler Wichtig-

dann wurde CO₂ durchgeleitet bis $H = 0,45 \cdot 10^{-7}$. Die in dieser Weise bereitete Suspension ist nicht lange haltbar; nach 24 Stunden oder schon früher ist fast alles Cholesterin niedergeschlagen.

¹⁾ Berczeller, diese Zeitschr. 84, 59. 1917.

keit für die Zellpermeabilität¹⁾. Die kolloidchemischen Eigenschaften des Lecithins werden also viele Permeabilitätserscheinungen näher erklären können.

Ganz verschieden ist der Zustand beim Cholesterin und im allgemeinen bei den Sterinen. Diese Substanzen haben wenig oder gar keinen Effekt auf die Oberflächenspannung des Wassers, ihre wässerige Lösung hat die Eigenschaften eines stark hydrophoben Kolloides²⁾. Loewe³⁾ nennt die gelösten Sterine Semi-Kolloide, weil ihr Dispersitätsgrad von der Konzentration abhängig ist und sie wenig adsorptive Eigenschaften haben. Die Sterine können dann auch nur an der Zelloberfläche kondensiert sein, weil das Lecithin in starkem Maße als Schutzkolloid fungiert. Zu einer funktionellen Bedeutung des Cholesterins für die Zelloberfläche können wir aus seinen bis jetzt bekannten kolloidchemischen Eigenschaften nicht schließen.

Aus den oben erwähnten Versuchen können wir nun eine allgemeine Funktion des Cholesterins der Zellmembran ableiten; das Cholesterin ist nämlich die Ursache der normalen Isolation der Blutkörperchen, also wahrscheinlich aller tierischen Zellen. Unsere Versuche beweisen dies sehr deutlich, denn während es bei vielen Fällen von Membranuntersuchung schließlich sehr schwer ist, einen Unterschied zu machen zwischen elektrischen und molekularen Kräften, können wir hier die molekularen Kräfte außer Betracht lassen, weil wir hier ausschließlich ein elektrostatisches Kraftfeld benutzten.

Bei den modernen Permeabilitätsstudien drängen sich immer mehr die bioelektrischen Membranpotentialen in den Vordergrund⁴⁾; speziell natürlich für die Ionenpermeabilität sollte man neben den osmotischen auch die elektroosmotischen Erscheinungen⁵⁾ studieren. Für diese Ionenbewegungen wird die Anwesenheit einer schlecht leitenden Schicht um die Zelle von großer Wichtigkeit sein, weil die Ionenbewegungen von dieser Schicht gehemmt werden müssen.

¹⁾ Porges und Neubauer, diese Zeitschr. 7, 152 — Vernon, diese Zeitschr. 51, 1. 1913.

²⁾ Berczeller, l. c. — Porges und Neubauer, l. c.

³⁾ Loewe, diese Zeitschr. 42, 150—218; Kolloidzeitschr. 11, 179.

⁴⁾ Bernstein, Elektrobiologie. Braunschweig 1912.

⁵⁾ Perrin, Journ. de chim. physique 2, 601. — Höber, Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe 1914, S. 234, 241, 568. — Loeb, Journ. chem. physiol. 1, 717.

Ohne nun weiter auf die Bedeutung und das Wesen dieser Isolation einzugehen, müssen wir nun doch schon feststellen, daß man aus Versuchen, wobei die dünne Cholesterinschicht um die Körperchen nicht mehr anwesend ist, keine Schlüsse betreffs der physiologischen Ionenpermeabilität ziehen darf. Wenn also die Blutkörperchen nicht in ihrem Serum, sondern in einer Salzlösung untersucht werden, wie es in den meisten Fällen geschah, so ist ihre Ionenpermeabilität abnorm geworden.

Rohonyi¹⁾ z. B. schließt aus seinen zahlreichen Experimenten mit öfters in Salzlösung gewaschenen Blutkörperchen, daß die Körperchenoberfläche hauptsächlich aus Hämoglobin bestehen solle, und daß von einer differenzierten Membran gar nicht die Rede sein soll. Die Ionenaufnahme würde von demselben Typus sein wie die Elektrolytaufnahme von Suspensionen.

Es ist nun aber klar, daß diese und dergleichen Schlußfolgerungen nicht den physiologischen Zustand wiedergeben, weil durch das Waschen in Salzlösung die isolierende Blutkörperchenoberfläche entfernt worden ist.

Bei den neueren Untersuchungen Hamburgers²⁾ mit Hilfe der Ultrafiltration sind die Blutkörperchen immer in ihrem eigenen Serum untersucht worden; die hier gefundenen Ionenverschiebungen können also mit physiologisch vorkommenden analog sein.

Im allgemeinen wird man bei Suspensionen von Zellen in Salzlösungen, oder bei Durchströmung von überlebenden Organen mit Salzlösung der Tatsache Rechnung tragen müssen, daß die isolierenden Schichten der Zelloberflächen ausgespült werden können, und daß dadurch die Ionenpermeabilitätseinflüsse gänzlich anders werden können.

Zusammenfassung.

Als Ursache der von Hamburger und später auch von anderen beschriebenen Tatsache, daß rote Blutkörperchen in Salzlösungen die Kugelform annehmen, haben wir eine elektrische Ladung der roten Blutkörperchen gefunden.

Diese Ladung, die die schon bestehende schwach negative Ladung verstärkt, rührt von dem mittels Reibung geladenen Objektglas her.

¹⁾ Rohonyi, Kolloidchem. Beihefte 8, 337. 1916.

²⁾ Hamburger, diese Zeitschr. 86, 309. S. auch S. de Boer, Journ. Physiol. 51, 211. — Hamburger, Wiener med. Wochenschr. 1916, Nr. 14/15 (siehe die Literatur).

In der Salzlösung selber sind die Körperchen normal geformt; sobald sie aber mit einer elektrisch geladenen Oberfläche in der Zählkammer eines Thoma-Zeiss-Apparates in Berührung kommen, entstehen Formänderungen, die nach kurzer Zeit über Rosetten-Stechapfelform zur Kugelform führen.

Im Serum erleidet das Blutkörperchen von dieser elektrischen Ladung keinen Einfluß. Die Ursache dieses Unterschiedes liegt darin, daß die Blutkörperchen im Plasma von einer isolierenden Schicht umgeben sind, welche Schicht in einer Salzlösung verschwindet.

Die Substanz, die dieser absorbierten Schicht ihre Eigenschaften gibt, ist das Cholesterin, das von dem an der Blutkörperchenoberfläche adsorbierten Lecithin in kolloidaler Lösung gehalten wird.

Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. III.

Von

R. Brinkman und Frl. E. van Dam.

(Ausdem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen, Holland.)

(Eingegangen am 11. Mai 1920.)

Über die Bedeutung des funktionellen Antagonismus von Phosphatiden und Cholesterin.

Die Tatsache, daß chemisch so sehr verschiedene Körper wie Phosphatide und Cholesterin im tierischen Organismus immer nebeneinander vorkommen; muß eine biologische Bedeutung haben.

In der Nahrung sind sie nicht in beständigem Verhältnis anwesend; der tierische Körper aber scheint bestrebt zu sein, das gegenseitige Konzentrationsverhältnis physiologisch konstant zu erhalten¹⁾. Auch die Konzentration der totalen Fettsäuremenge, welche man nicht immer von der Lecithinkonzentration hat trennen können, steht in bestimmtem Verhältnis zur Cholesterinmenge, so daß der Quotient Cholesterin : totale Fettsäure eine konstante Größe darstellt, welche von Mayer und Schaeffer²⁾ studiert worden ist (coefficient lipocytyque).

Wacker und Hueck³⁾ haben an Kaninchen gezeigt, daß die künstliche Anreicherung des Cholesterins durch die Nahrung nicht nur zu einer Cholesterinämie führt, sondern auch gleichzeitig einen Anstieg der fettsäurehaltigen Phosphatide bewirkt, so daß auch hier der Körper bestrebt ist, eine Erhöhung des Plasmacholesterins durch eine analoge Erhöhung der Phosphatide folgen zu lassen. Umgekehrt kann auch der Cholesterinspiegel durch reichlich Fett und Phosphatide zu füttern, in die Höhe getrieben werden⁴⁾.

¹⁾ Bloor, Journ. of Biolog. Chem. **25**, 577. 1916. — Wacker und Hueck, diese Zeitschr. **100**, 84. 1919. — Mayer et Schaeffer, Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. **16**, 1 et 23. 1914. — Terroine, ibid. **16**, 386. — Lindemann, Zeitschr. f. Geburtshilfe u. Gyn. **74**, 814. 1913.

²⁾ L. c.

³⁾ L. c.

⁴⁾ Reicher, Verhandl. d. 28. Kongr. f. innere Med., Wiesbaden 1911, S. 327. — Röhl, Verhandl. d. 29. Kongr. f. innere Med., Wiesbaden 1912, S. 607.

Die allgemeine Bedeutung der Konstanz dieses Quotienten finden wir in dem funktionellen Antagonismus, welcher zwischen „Lecithin“ und Cholesterin von mehreren Autoren aufgedeckt worden ist. Besonders bei der serologischen Hämolyse gibt es zahlreiche Beispiele dieses Antagonismus¹⁾.

Wir²⁾ fanden eine erhebliche Resistenzerniedrigung durch physiologische Lecithinkonzentrationen; diese wird aufgehoben durch eine geringe Cholesterinmenge.

Auch sahen wir mikroskopisch, daß in einer 0,5 proz. Lecithinemulsion in physiologischer Salzlösung die Körperchen schnell ihren Farbstoff verlieren und zu „og. „Schatten“ wurden. Dieses Phänomen wird ebenfalls von Cholesterin aufgehoben.

Die Widerstandsfähigkeit der Körperchen gegen Saponin geht parallel mit dem Quotienten Cholesterin : Lecithin³⁾, genau wie bei den bekannten Pascucci-Membranen⁴⁾.

Mehrere bakterielle und parasitäre Hämotoxine, welche von Lecithin aktiviert werden, werden von Cholesterin in ihrer Wirkung gehemmt, wie besonders bei der Kobragift-Hämolyse festgestellt wurde⁵⁾. Gegen die hämolytische Wirkung der hereditären Hämolytine verteidigt sich der Organismus durch eine Hypercholesterinämie⁶⁾. Es ist bekannt, daß im allgemeinen die Hypercholesterinämie mehrerer Krankheiten eine Resistenz-erhöhung zur Folge hat⁷⁾.

Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß während Lecithin viele Eigenschaften mit dem sog. Komplementmittelstück gemein hat⁸⁾, das Cholesterin gerade inaktivierende Eigenschaften zeigt. Auch die Verhältnisse bei der Wassermannschen Reaktion sowie bei der Reaktion nach Sachs - Georgi sprechen für den funktionellen Antagonismus in hämolytischer Hinsicht⁹⁾.

Bei der Phagocytose ist der Antagonismus von Stuber¹⁰⁾, bei Wachstumserscheinungen von T. B. Robertson¹¹⁾ beobachtet worden. Über den antagonistischen Einfluß dieser Substanzen auf Gewebe und Organe sehe man bei A. W. Robertson¹²⁾.

¹⁾ Siehe bei Landsteiner im Handb. d. Biochemie II, 1, 395.

²⁾ Brinkman u. van Dam, diese Zeitschr., 108, 35. 1920. 1. Mitteilung.

³⁾ K. Meyer, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 357. 1908.

⁴⁾ Pascucci, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 552. 1905.

⁵⁾ Siehe bei Landsteiner, Handb. d. Biochemie II, 1, S. 444 ff.

⁶⁾ Froisier et Hubert, Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. 16, 483. 1914.

⁷⁾ Zusammenfassend bei Byline et Khosroev, Le médecin russe 13, 579, 681, 722. 1914.

⁸⁾ Brinkman und van Dam, l. c., 1. Mitteilung.

⁹⁾ Zusammenfassend bei Sachs, Kolloid-Zeitschr. 24, 113. 1919.

¹⁰⁾ Stuber, diese Zeitschr. 51, 211.

¹¹⁾ Robertson, Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 10, 59.

¹²⁾ A. White Robertson, Studies in Electropathology. London, Rontledge and Sons, 1918.

Die allgemeine Bedeutung dieses Quotienten für Ionenpermeabilitätsverhältnisse wollen wir neben die von Hamburger u. a. aufgestellte Theorie der Ionenpermeabilitätsregelung durch die Kohlensäure stellen¹⁾. Während man für die Regelung dieser Permeabilität in erster Linie stets an den elektrischen Einfluß von Wasserstoff- und anderen Ionen gedacht hat²⁾, wollen wir hier die Aufmerksamkeit auf die Dielektrizitätskonstante der Zelloberfläche lenken. Wir haben in der zweiten Mitteilung dieser Serie³⁾ angegeben, daß die normale elektrische Isolation der Körperchen von der Anwesenheit von Cholesterin in der Zelloberfläche herrührt. Wenn kein Cholesterin in dieser Oberfläche anwesend ist, verhält sich diese wie eine gutleitende Membran; mit Cholesterin aber ist der Inhalt der Körperchen elektrisch fast isoliert. Es genügen nun ganz geringe Lecithinkonzentrationen in der Suspensionsflüssigkeit, um die isolierende Wirkung des Cholesterins gänzlich aufzuheben. Auch wenn man Lecithin zum Serum fügt, sieht man diese Erscheinung; in diesem Falle ist Zufügung einer Konzentration von $\pm 0,03\%$ Lecithin genügend, um die normale elektrische Isolation der Körperchen zu beseitigen. Nicht alle Körperchen verlieren zu gleicher Zeit ihre Isolation, sondern die Zahl der ihrer Isolation beraubten Körperchen wächst mit der Lecithinkonzentration und mit der Zeit.

Wir sehen also, daß die normale elektrische Isolation der Körperchen eine Funktion des Quotienten Cholesterin : Lecithin ist; das quantitative Verhältnis muß noch festgestellt werden. Für die Ionenbewegung zwischen Zelle und Medium wird also dieser Quotient eine Bedeutung haben müssen, weil in einer Oberfläche mit sehr geringer Leitfähigkeit nur wenig Ionenbewegung möglich sein wird.

Sehr interessant sind in dieser Hinsicht die Untersuchungen von Mayer und Schaeffer⁴⁾ über die cellulären Konstanten. Nach diesen Autoren ist der Wassergehalt der Gewebe abhängig von dem sog. „Coefficient lipocytyque“, womit sie den Quotient Cholesterin : totale Fettsäuremenge bezeichnen. Die Koeffizienten verschiedener Gewebe ändern sich alle in gleicher Weise, so daß z. B. der Quotient im Blut einen Indicator darstellt für den gesamten Organismus. Ausgehend von diesen Versuchen haben

¹⁾ Hamburger, diese Zeitschr. **86**, 309. 1918; siehe auch S. de Boer, Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. **51**, 211. 1918 und Hamburger, Wien. med. Wochenschr. 1916, Nr. 14 u. 15. — van Slyke, Journ. of Biol. Chem. **30**.

²⁾ Zusammenfassend bei Loeb, Journ. general Physiol. **1**, 717. 1919. — Höber, Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe, Kap. 6, 8, 10, 11, 12. — Bernstein, Elektrobiologie. Braunschweig 1912. — Bayliss, Principles of. Gen. Physiol., Ch. 5, 6, 7.

³⁾ Diese Zeitschr. **108**, 52. 1920.

⁴⁾ Mayer und Schaeffer, l. c.

dann Achard, Ribot et Leblanc¹⁾ zeigen können, daß bei ödematösen Zuständen durch Niereninsuffizienz der Koeffizient ausnahmslos erhöht ist. Sie sehen in dieser Prävalenz des Cholesterins die Ursache der Wasserretention.

Andererseits sind wir zu der Auffassung gelangt, daß ein Vorherrschen des Cholesterins die Ionendiffusion hemmen muß, und eine Behinderung der Ionenbewegung wird eine Wasserretention zur Folge haben. Wir sehen also, daß durch diese Auffassung des lipocytischen Koeffizienten der Zusammenhang von Salzretention und Verschiebung des Quotienten Cholesterin: Lecithin deutlich wird. Die Wasserretention bei erhöhtem lipocytischen Koeffizienten muß die Folge einer Ionenretention sein; die Ursache der Ionenretention ist die verringerte Leitfähigkeit der Zelloberfläche.

Bei urämischen und eklampthischen²⁾ Zuständen ist eine exzessive Erhöhung des Cholesterinspiegels festgestellt worden; man könnte sich vorstellen, daß die Salzretention von der Erhöhung des lipocytischen Koeffizienten abhängig sein würde. Therapeutisch würde man dann solche Zustände mit Lecithininjektionen behandeln können.

Wenn wir also sehen, daß der Körper auch in pathologischen Umständen immer bestrebt ist, das normale Verhältnis $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Lecithin}}$ oder $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{totale Fettsäuremenge}}$ aufrechtzuerhalten, so können wir das begreifen, wenn wir an die oben beschriebenen allgemeinen cellulären Einflüsse dieser Quotienten denken. Es ist nun klinisch von großer Bedeutung, daß die Konzentrationen der betreffenden Substanzen teilweise von ihren Konzentrationen in der Nahrung abhängig sind. Unsere Kenntnisse über den Zusammenhang von Nahrungslipoiden und Blutlipoiden sind noch sehr lückenhaft; allgemein erkannt wird die Fähigkeit des Säugetierorganismus zur Lecithinsynthese³⁾, ob aber auch das Cholesterin im Säugetierorganismus synthetisch aufgebaut werden kann, ist sehr fraglich.

Jedenfalls sind normalerweise die Blutsterine, die überhaupt nur pflanzliche Produkte darstellen, von der Konzentration in

¹⁾ Achard, Ribot et Leblanc, Compt. rend. de la soc. de biol. 82, 339. 1919.

²⁾ Man sehe z. B. Neumann und Hermann, Wien. klin. Wochenschrift 1911, Nr. 12

³⁾ Kurze Zusammenfassung bei Lichtwitz, Klin. Chemie 1918, S. 172.

der Nahrung abhängig; bei Cholesterinverfütterung entsteht eine Hypercholesterinämie, während auch die Lecithinkonzentration emporgeht zur Erhaltung des normalen Gleichgewichtes¹⁾. Bei reichlicher Fett- und Lecithinzufuhr versucht umgekehrt die Cholesterinkonzentration so hoch wie möglich zu kommen. Es ist aber ganz gut denkbar, daß, wenn das Cholesterin in der Nahrung fehlt, ein Emporsteigen des Cholesterinspiegels auf die Dauer nicht möglich ist. Durch einseitige Ernährung wird somit ein abnormer Quotient $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Phosphatid}}$ entstehen können.

Da auch die Phosphatide chemisch viel leichter zersetzbar sind und viel mehr an intermediären Fettstoffwechselvorgängen teilnehmen als das Cholesterin, so ist es ebenfalls begreiflich, daß in der Inanition ein abnormes Verhältnis zwischen diesen Substanzen entstehen wird, wie tatsächlich von Mayer und Schaeffer gezeigt wurde. Diese Autoren fanden, daß bei hungernden Tieren der Quotient $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{totale Fettsäure}}$ in allen untersuchten Organen anstieg und damit auch der Wassergehalt dieser Organe größer wurde.

Wir haben nun einen Anfang gemacht mit der Untersuchung des Einflusses lecithinreicher und cholesterinarmer Ernährung auf die Resistenz und die Regeneration roter Blutkörperchen beim Kaninchen. Obwohl wir noch nicht über eine Anzahl detaillierter Versuche verfügen, haben wir doch schon einige prinzipielle Resultate gewonnen, welche wir hier mitzuteilen wünschen.

Die Resistenz untersuchten wir nach der in dieser Zeitschrift mitgeteilten Methode²⁾; es wurde also die sekundäre Resistenz (Körperchen unter dem Einfluß ihres Plasmas) und die primäre Resistenz (gewaschene Körperchen) bestimmt.

Die Resistenz von normalen, mit Rüben und Hafer gefütterten Kaninchen kann im allgemeinen durch folgende Tabelle wiedergegeben werden.

¹⁾ Siehe bei Wacker und Hueck, l. c. Vgl. auch Stepp, Zeitschr. f. Biol. 57, 136; 59, 366; 62, 405. — E. V. McCollum, Journ. of Biolog. Chem. 15, 167; 19, 245; 20, 641; 21, 179. — Bloor, l. c.

²⁾ R. Brinkman, diese Zeitschr 108, 37. 1920. I. Mitteilung; genaue Angaben werden in kurzer Zeit erscheinen.

Hämolyse ¹⁾ , sekundär	NaCl-Konzentration der hypotonischen Lösung, die konstant NaHCO ₃ 0,18%, KCl 0,02%, CaCl ₂ · 6 aq. 0,02%, [H ⁺] = 0,45 · 10 ⁻⁷ und [Ca ⁺⁺] = +30 mg pro Liter enthält	3 mal gewaschen, primäre Hämolyse
20%	0,42%	0%
40%	0,40%	5%
80%	0,38%	20%
90%	0,36%	40%
100%	0,34%	60%
	0,32%	70%
	0,30%	90%
	0,28%	90%
	0,26%	90%
	0,24%	95%

Wir sehen also einen erheblichen Unterschied in primärer und sekundärer Resistenz der Körperchen; auch ist die Anwesenheit der „jungen“ (am meisten resistenten) Körperchen sehr deutlich in der primären Resistenzkurve angegeben; das Knochenmark ist also funktionierend.

Setzen wir das Kaninchen nun der Inanition aus, so daß es ausschließlich etwas Zuckerwasser bekommt, so sehen wir nach 2 Tagen die folgenden Resistenzkurven.

Hämolyse, sekundär	NaCl-Konzentration der bekannten hypotonischen Lösung	3 mal gewaschen, primäre Hämolyse
0%	0,42%	0%
5%	0,40%	2%
20%	0,38%	20%
20%	0,36%	30%
50%	0,34%	50%
80%	0,32%	70%
98%	0,30%	90%
100%	0,28%	95%
	0,26%	99%

Es ist also die sekundäre Resistenz viel größer geworden²⁾, die primäre Resistenz ist dieselbe geblieben. Primäre und sekun-

¹⁾ Bestimmung des Hämolysegrades nach Arrhenius, Zeitschr. f. physikal. Chemie 1903.

²⁾ Acél (diese Zeitschr. 95, 211. 1919) berichtet ebenfalls, daß bei der Inanition die Resistenz der Körperchen steigt.

däre Resistenz sind jetzt praktisch identisch, es hat also die Inanition denselben Effekt wie das Waschen der Körperchen. Es stimmen also diese Versuche mit der oben erwähnten Auffassung von Mayer und Schaeffer überein, daß der „Coefficient lipocytyque“ in der Inanition größer wird.

Weiter ist es wichtig zu sehen, daß auch die Körperchenbildung jetzt fast ganz aufgehört hat. Diese Tatsache haben wir ausnahmslos in zahlreichen Versuchen beobachtet: Wenn die sekundäre Resistenz sich zu der primären erhöht hat, wenn also der normale Lecithineinfluß aufgehoben ist, so ist auch die Bildung der Körperchen nicht mehr zu erkennen.

Es ist nun für die Steigerung der primären Resistenz durchaus nicht nötig, die Tiere auf absolute Karenz zu stellen; wenn man nur fettfreie Nahrung gibt, z. B. Rüben, bekommt man auch dasselbe Resultat.

Für die Komplettierung des Versuches haben wir nun dem Kaninchen nach der fett- und lipidfreien Periode 1 g Lecithin pro Tag in Emulsion mit der Schlundsonde gegeben. Die Resistenzkurve nach 2 Tagen war jetzt wie folgt:

Hämolyse, sekundär	NaCl-Konzentration der be- kannten hypotonischen Lösung	3 mal gewaschen, primäre Hämolyse
10%	0,42%	0%
40%	0,40%	0%
70%	0,38%	20%
90%	0,36%	20%
98%	0,34%	30%
100%	0,32%	60%
	0,30%	80%
	0,28%	80%
	0,26%	80%

Man sieht also, daß schnell wieder die sekundäre Resistenz erniedrigt wird. Bei fortgesetzter Lecithinfütterung wird sie noch geringer.

Anstatt Lecithin kann man auch viel Hafer, der beträchtliche Mengen Lecithin enthält, geben; auch dann bekommt man unmittelbar eine starke Resistenzerniedrigung.

Man sieht aber noch eine zweite wichtige Tatsache. Es findet sich nämlich in allen Fällen, daß nach der Lecithineingabe

eine sehr ausgesprochene Änderung der primären Resistenzkurve auftritt: die Fraktion der am meisten resistenten Körperchen, also aller Anschein nach der „jüngsten“ Körperchen, wird beträchtlich vergrößert.

Während also beim Verschwinden des Lecithineinflusses die Knochenmarkfunktion (bezüglich der roten Körperchenbildung) fast ganz aussetzt, wird ein neues Auftreten der Lecithinwirkung unmittelbar von einer intensiven Körperchenbildung gefolgt.

Bei fortgesetzter einseitiger Lecithinfütterung wird einerseits die Resistenzerniedrigung durch das Plasma so intensiv, daß Hämolyse in vivo auftritt (Hämoglobinämie). Andererseits aber ist das Knochenmark so energisch funktionierend, daß z. B. bei NaCl 0,28% usw. noch keine Hämolyse der gewaschenen Körperchen auftritt, und daß die Anzahl der Körperchen sich nicht verringert.

Es ist verständlich, daß für die Genese der hämolytischen Anämien die oben erwähnten Versuche von Bedeutung werden können. Die Lipoidtheorien spielen seit den Untersuchungen Tallquists über die Bothriocephalus-Anämie eine große Rolle, haben aber trotz zahlreicher Untersuchungen noch kein definitives Ergebnis ergeben¹⁾.

Wir sind der Meinung, daß bei der Erforschung dieser Zustände dem funktionellen Antagonismus von Lecithin und Fett gegen Cholesterin nicht genügend Rechnung getragen worden ist; nicht die Konzentration einzelner Lipoidfraktionen ist hier ausschlaggebend, sondern der Quotient Cholesterin : Lecithin, oder Cholesterinfettsäure.

Wir haben nun mit der einseitigen Ernährung von Kaninchen mit Rüben (welche nahezu fettfrei sind) und Lecithin angefangen. Die Versuche müssen viel längere Zeit fortgesetzt werden, als wir es bis jetzt machen konnten, aber der Einfluß der einseitigen Ernährung ist sofort unverkennbar.

Das folgende Versuchsprotokoll gibt eine Übersicht der Änderung des roten Blutbildes in der ersten Woche der einseitigen Lecithinernährung.

¹⁾ Zusammenfassend bei Türck, Klin. Hämatologie II, 2, Vorl. 35. 1912.

16. II. 1920. Kaninchen, mit Hafer und Rüben gefüttert.

Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
30%	0,42%	0%
60%	0,40%	20%
90%	0,38%	30%
90%	0,36%	50%
100%	0,34%	70%
	0,32%	90%
	0,30%	90%
	0,28%	90%

17. II. Nach 16. II. ausschließlich mit Rüben gefüttert.

Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
10%	0,40%	0%
50%	0,38%	30%
50%	0,36%	40%
70%	0,34%	70%
95%	0,32%	90%
100%	0,30%	90%
	0,28%	100%

18. II.

Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
10%	0,40%	0%
20%	0,38%	10%
50%	0,36%	30%
80%	0,34%	70%
90%	0,32%	90%
100%	0,30%	95%
	0,28%	100%

11^h a. m., 1 g Lecithin in Emulsion mit der Schlundsonde eingeführt.Resistenzbestimmung 3^h p. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
10%	0,40%	0%
20%	0,38%	0%
50%	0,36%	0%
70%	0,34%	40%
80%	0,32%	80%
98%	0,30%	90%
100%	0,28%	90%

Das Serum ist sehr leicht hämolytisch.

19. II.

Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
5%	0,42%	0%
10%	0,40%	0%
30%	0,38%	5%
50%	0,36%	10%
90%	0,34%	30%
95%	0,32%	90%
100%	0,30%	98%
	0,28%	100%

11^h a. m. 1 g Lecithin.Resistenzbestimmung 12^h 30' p. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
5%	0,42%	0%
10%	• 0,40%	0%
30%	0,38%	0%
60%	0,36%	0%
80%	0,34%	50%
90%	0,32%	70%
95%	0,30%	90%
100%	0,28%	90%

Das Serum ist leicht hämolytisch.

20. II.

Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
0%	0,40%	0%
20%	0,38%	0%
80%	0,36%	0%
95%	0,34%	90%
100%	0,32%	95%
	0,30%	98%
	0,28%	

Das Serum ist hämolytisch.

12^h. 2 g Lecithin.Resistenzbestimmung 3^h p. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
0%	0,40%	0%
0%	0,38%	0%
5%	0,36%	0%
80%	0,34%	90%
90%	0,32%	90%
98%	0,30%	90%
98%	0,28%	90%

Das Serum ist hämolytisch.

21. II. Resistenzbestimmung 10^h a. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
0%	0,40%	0%
20%	0,38%	0%
40%	0,36%	2%
90%	0,34%	40%
95%	0,30%	80%
100%	0,30%	95%
	0,28%	100%

12^h. 2 g Lecithin.

Resistenzbestimmung 3^h p. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
0%	0,42%	0%
0%	0,40%	0%
50%	0,38%	0%
80%	0,36%	40%
90%	0,34%	80%
95%	0,32%	80%
100%	0,30%	90%
	0,28%	

Das Serum ist hämolytisch.

22. II. 11^h a. m. 2 g Lecithin.

Resistenzbestimmung 2^h p. m.

Sekundäre Resistenz	NaCl der hypotonischen Lösung	Primäre Resistenz
2%	0,42%	0%
40%	0,40%	0%
50%	0,38%	0%
70%	0,36%	0%
90%	0,34%	0%
95%	0,32%	0%
95%	0,30%	0%
99%	0,28%	0%

Das Serum ist fast nicht hämolytisch.

Wenn man diese Versuche übersieht, so ist der Einfluß einseitiger Lecithinernährung wohl sehr überzeugend. Während bei Fütterung mit Rüben und Hafer sekundäre und primäre Resistenz beträchtlichen Unterschied zeigen und die „Neubildungsfraction“ deutlich markiert ist, wird bei fettfreier Ernährung die sekundäre Resistenz fast identisch mit der primären, und ist die „Neubildung“ so gut wie ausgesetzt.

Dieses Aufhören der Regeneration bei fett- und lecithinfreier Ernährung kann man auch konstatieren, wenn man ein in dieser Weise gefüttertes Kaninchen eine Menge Blut entzieht und die Regeneration durch Zählung der Körperchen verfolgt. Es findet bei dieser Ernährung fast keine Regeneration statt; gibt man aber Hafer, so ist die ursprüngliche Körperchenzahl in wenigen Tagen wieder erreicht.

Nach jeder täglichen Lecithineingabe sieht man eine Neubildungsfraktion in der primären Kurve, welche am folgenden Tage wieder aufgehört hat.

Während die intravitale Hämolyse durch die einseitige Lecithinernährung so stark geworden ist, daß eine Hämoglobinämie entstanden ist, ist andererseits die Regeneration so erheblich, daß die Körperchenzahl nur sehr langsam abnimmt.

Auch im nach Giesma gefärbten Blutbilde kann man diese Regeneration sehr deutlich wahrnehmen: mehr als 50% der Körperchen sind erheblich größer wie normal und die Polychromatophilie der Erythrocyten ist excessiv geworden. Setzt man die Lecithinfütterung wieder aus, so werden die Körperchen bald viel kleiner und regelmäßiger, und die Polychromasie ist auf einzelne Chromocyten beschränkt.

Von einer pathologischen Regeneration war in dieser Zeit noch nicht die Rede; Megaloblasten oder Megalocyten haben wir nicht beobachtet und der Index war im Mittel eins.

Die sekundäre Resistenzkurve zeigte auch nach der Lecithineingabe immer noch größere Resistenz wie die ursprüngliche sekundäre Resistenz bei Haferfütterung. Die Ursache dieses Verhaltens muß die intravitale Hämolyse sein, durch welche die am geringsten resistenten Körperchen schon vor der Resistenzbestimmung intravital hämolytisch wurden. Allerdings ist der Unterschied von primärer und sekundärer Resistenzkurve durch Lecithineingabe deutlich wiederhergestellt, und wenn wir die Resistenzbestimmung bei sehr geringer vitaler Hämolyse ausführten, zeigte sich die sekundäre Resistenz fast ebenso niedrig wie bei der ursprünglichen Haferfütterung, obwohl die primäre Resistenz außerordentlich hoch war (Versuch vom 22. Februar).

Wir haben mit diesen Versuchen nur prinzipiell den Einfluß einseitiger Lecithinernährung demonstrieren wollen. Auf die systematische Anwendung dieser Prinzipien für die Untersuchung

der Genese und Therapie hämolytischer Anämien werden wir in einer ausführlichen Arbeit zurückkommen müssen.

Zusammenfassung.

Die Tatsache, daß Phosphatide und Sterine im tierischen Organismus immer nebeneinander in einem bestimmten Verhältnis vorkommen, findet ihre Bedeutung im funktionellen Antagonismus dieser Substanzen.

Es wurden mehrere neue Beispiele dieses Antagonismus mitgeteilt und gezeigt, daß wir das Verhältnis Lecithin : Cholesterin als eine wichtige zelluläre Konstante auffassen müssen, von welcher die Resistenz der Körperchen, die elektrische Isolation der Zelle, die Ionenpermeabilität der Zelloberfläche und der Wassergehalt der Gewebe direkt abhängig sind. Es wurde darauf hingewiesen, daß eine Änderung dieses Quotienten bei pathologischen Zuständen von Bedeutung werden kann; speziell aber wurde der Einfluß der Ernährung auf diesen Quotienten betont. Eine einseitige Lecithinfütterung während einer Woche hat beim Kaninchen eine intensive intravitale Hämolyse und Regeneration zu Folge, welche mittels unserer Resistenzbestimmungsmethode genau analysiert werden konnte. Die intravitale Hämolyse wurde durch Lecithinämie sehr stark vergrößert, so daß sogar Hämoglobinämie entstand; zu gleicher Zeit aber wurde auch die Körperchenneubildung durch das Vorherrschen des Lecithins stark angeregt, so daß die Regeneration mit der Hämolyse im Gleichgewicht war.

Für die Erhaltung der normalen Regeneration war Lecithinfütterung unbedingt notwendig.

Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönninger.

Von

R. Brinkman und Fr. E. van Dam.

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen, Holland.)

(Eingegangen am 11. Mai 1920.)

Die vielumstrittene Frage nach der Durchlässigkeit menschlicher roter Blutkörperchen für Glucose haben wir in einer im vorigen Jahre erschienenen Arbeit¹⁾ dahin entscheiden können, daß wir die Erythrocyten unter physiologischen Umständen als völlig impermeabel bezeichnen müssen, solange kein Gerinnungsanfang eingetreten ist. Auch Falta und Richter-Quittner²⁾ sind in einer ausführlichen Arbeit zu demselben Schlusse gelangt.

M. Bönninger³⁾ berichtet nun in einer eben erschienenen Mitteilung, daß Blutkörperchen des Menschen bei der Suspension in isotonischer Glucoselösung von 37° nach einigen Stunden Hämolyse zeigen, oder auch eine beträchtliche Volumzunahme. Er schließt aus diesen, im übrigen schon lange bekannten Tatsachen auf eine physiologische Glucosepermeabilität der roten Körperchen. Daß diese Konklusion nicht richtig ist, meinen wir mittels folgender Überlegungen zeigen zu können.

Erstens hat Bönninger nicht den Gerinnungsanfang verhindert; aus unserer vorigen Mitteilung⁴⁾ wird man den Einfluß dieser Tatsachen ersehen können.

Zweitens hat Bönninger das Blut in reiner isotonischer Glucoselösung suspendiert. Wir haben in einer ausführlichen Arbeit in dieser Zeitschrift⁵⁾ gezeigt, daß in solcher Lösung das hämolytische Verhalten der Körperchen ganz anders wird, weil das hämolytische, an der Körperchenoberfläche adsorbierte „Lecithin“ nicht ausgespült wird, das antagonistisch wirkende Cholesterin aber wohl. Der Einfluß des „physiologisch“ hämolytischen Komplexes wird dadurch so sehr gesteigert, daß Hämolyse erfolgen kann. Fügt man aber zu der Glucoselösung etwas cholesterinhaltiges Serum, so bleibt die Hämolyse aus.

Daß Kaninchen- und Hammelblut keine Hämolyse zeigten, findet seine Erklärung in der Tatsache, daß diese Körperchen vorher mit isotonischer NaCl-Lösung gewaschen worden waren; durch dieses Waschen wird das „Lecithin“ von den Körperchen entfernt und das natürliche hämolytische Komplex hat jetzt keinen oder geringen Einfluß.

Wir können also die Versuche Bönningers nicht als Beweise für die Glucosepermeabilität der Blutkörperchen betrachten und müssen unsere Meinung, daß die Körperchen glucoseimpermeabel sind, aufrechterhalten.

¹⁾ Arch. internat. de physiol. **15**, 105. 1919.

²⁾ Diese Zeitschr. **100**, 140. 1919.

³⁾ Diese Zeitschr. **103**, 306. 1920.

⁴⁾ Arch. internat. de physiol. **15**, 105. 1919.

⁵⁾ Diese Zeitschr. **108**, 35. 1920.

Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure.

Von

Karl Stosius und Karl Wiesler.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der Krankenanstalt Rudolfstiftung, Wien.)

(Eingegangen am 10. Mai 1920.)

Aus der Wurzel der *Thapsia garganica* hat Canzoneri¹⁾ eine zweibasische Säure $C_{14}H_{28}$ $(COOH)_2$, die Thapsiasäure, isoliert. Dieser Körper ist insofern von Interesse, weil hier einer der wenigen Fälle vorliegt, daß eine höhere Dicarbonsäure in freiem Zustande im Pflanzenorganismus aufgefunden wurde. Bougault²⁾ hat dieselbe Säure durch Oxydation der Juniperinsäure, einer natürlich vorkommenden Oxysäure, erhalten. Andererseits hat er die Juniperinsäure zu Palmitinsäure reduziert und somit bewiesen, daß die Juniperinsäure bei normaler Kohlenstoffkette eine primär gebundene Hydroxylgruppe enthält, daß ihr also die Formel $COOH(CH_2)_{14}CH_2OH$ zukommt.

Daraus folgt aber auch, daß die Thapsiasäure eine normale Kohlenstoffkette und zwei endständige Carboxylgruppen enthalten muß. Eine auf synthetischem Wege dargestellte n-Tetradecan-1-14-dicarbonsäure muß also damit identisch sein.

Crum Brown und James Walker³⁾ haben folgende Dicarbonsäuren mit normaler Kohlenstoffkette und mit den beiden Carboxylgruppen in α - ω -Stellung auf elektrosynthetischem Wege dargestellt:

- Adipinsäure aus Bernsteinsäure;
- Korksäure aus Glutarsäure;
- Sebacinsäure aus Adipinsäure;
- Dekamethylendikarbonsäure aus Pimelinsäure;
- Dodekamethylendikarbonsäure aus Korksäure;
- Hexadekamethylendikarbonsäure aus Sebacinsäure.

¹⁾ Gazz. chim. ital. **13**, 514.

²⁾ C. r. **150**, 874. — C. 1910, I. 1890.

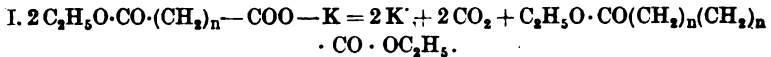
³⁾ Ann. **261**, 107. 1891.

Ausgehend von der Azelainsäure muß man dementsprechend zu der gewünschten Dicarbonsäure $\text{COOH}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ gelangen.

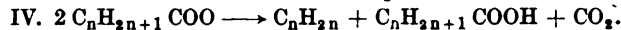
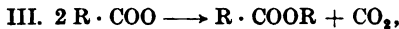
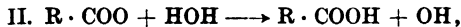
Der Reaktionsverlauf bei diesen Elektrosynthesen entspricht, wie C. Brown und J. Walker¹⁾ gezeigt haben, völlig der Bildung von gesättigten Kohlenwasserstoffen bei der Elektrolyse von fettsauren Salzen,



wenn in der Dicarbonsäure eine Carboxylgruppe durch Esterifizierung gegen die elektrolytische Spaltung geschützt wird. In diesem Falle verhält sich dann die Gruppe $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCO} \cdot (\text{CH}_2)_n$ wie eine einfache Alkylgruppe, und die Reaktion kann durch folgendes Schema ausgedrückt werden:



Die Reaktion verläuft aber nur unter gewissen Bedingungen in diesem Sinne. Das Anion kann nach Abgabe seiner Ladung an die Anode auch in anderer Weise reagieren und zwar ergeben sich folgende weitere Möglichkeiten des Reaktionsverlaufes im Anodenraum:



Der unbeständige Säurerest reagiert also entweder mit einem Molekül des Lösungswassers oder mit einem zweiten gleichartigen Atomkomplex. Von den Versuchsbedingungen hängt es ab, welche dieser Reaktionen in den Vordergrund tritt. Die Bedingungen, welche einzuhalten sind, um die Reaktion in ersterem oder letzterem Sinne zu leiten, kann man sich folgendermaßen zurechtlegen. Wenn im Anodenraume wenige Anionen neben sehr vielen Molekülen des Lösungswassers vorhanden sind, mit anderen Worten, wenn die Konzentration der Anionen klein ist, so ist die Wahrscheinlichkeit der Reaktion des entladenen Anions mit Wasser groß. Ist aber die Konzentration der Anionen groß, so findet ein Anion nach der Entladung relativ mehr gleichartige Atomkomplexe und weniger Wassermoleküle, so daß die Reaktion der Anionen miteinander wahrscheinlicher ist. Diese Wahrscheinlichkeit wird noch erhöht durch die Unbeständigkeit der entladenen Anionen; denn wenn ein Anion bei seiner Entladung in seiner Umgebung einen gleichartigen unbeständigen Atomkomplex und ein Wassermolekül vorfindet, so wird es bei sonst gleichen Bedingungen mit der unbeständigen, d. h. reaktionsfähigeren Verbindung in Reaktion treten.

Um eine Reaktion mit dem Lösungswasser zu vermeiden, ist es folglich wichtig, daß die Ionenkonzentration im Anodenraume möglichst groß sei. Dies erreicht man einerseits durch eine möglichst große Konzentration des Elektrolyten und andererseits durch große Stromdichte an der Anode. Die Konzentration des Elektrolyten ist aber nach oben begrenzt durch den Löslichkeitsgrad der betreffenden Verbindung und ferner dadurch, daß

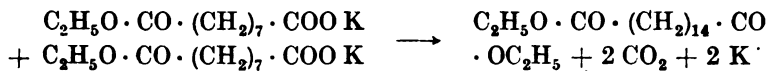
¹⁾ Ann. 261, 107. 1891.

bei zu großer Konzentration die elektrische Leitfähigkeit zu klein wird und das Bad auch zu heftig schäumt. Die hohe Stromdichte an der Anode erreicht man durch hohe Stromstärke mit einer kleinen Anodenfläche. Mit der Stromstärke steigt aber auch die Temperatur; und eine zu hohe Temperatur begünstigt das Schäumen und bewirkt wahrscheinlich auch eine Verseifung des gebildeten Esters durch die an der Kathode entstehende Kalilauge. Um diese Wärme abzuleiten, ist daher eine wirksame Kühlung zumal des Anodenraumes notwendig.

In der Malonsäurereihe verläuft die Reaktion, wenn man die angeführten günstigen Versuchsbedingungen schafft, recht glatt nach dem Schema I. Dabei muß, wie erwähnt, eine der beiden Carboxylgruppen durch Umwandlung in die Carbäthoxylgruppe gegen elektrolitische Spaltung geschützt werden. Die hohe Löslichkeit der Kaliumsalze der Estersäuren dieser Reihe in Wasser ermöglicht eine hohe Konzentration des Elektrolyten. Bei großer Stromdichte tritt dann im wesentlichen folgende Reaktion ein:

$$2 \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \cdot \text{CO} \cdot (\text{CH}_2)_n \cdot \text{COOK} \rightarrow 2 \text{K} + 2 \text{CO}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \cdot \text{CO}(\text{CH}_2)_{2n} \cdot \text{CO} \cdot \text{OC}_2\text{H}_5.$$

Im folgenden soll nun gezeigt werden, daß — wie zu erwarten ist — bei der Elektrolyse des Estersalzes der Azelainsäure der Tetradekamethylendicarbonsäureester entsteht.



Wir haben uns bemüht, die auf Grund obiger Erwägungen günstigsten Versuchsbedingungen bei der Elektrolyse auf genaueste einzuhalten. Dabei verlief die Reaktion, wie sich zeigte, im gewünschten Sinne und wir erhielten nach der Verseifung des gebildeten Esters die Tetradekamethylendicarbonsäure. Die gewonnene Menge dieser Säure war gering, weil schon das Ausgangsmaterial nicht gerade leicht in größerer Menge rein zu erhalten ist und weil ferner die Ausbeute bei der Elektrolyse ziemlich niedrig war. Die Ausbeute bei der Elektrosynthese selbst müßte sich jedenfalls noch bis zu einem gewissen Grade verbessern lassen, wenn man unter Variieren von Konzentration, Stromstärke, Spannung, Elektrodenoberfläche und Temperatur verschiedene Versuche anstellte, um so die günstigsten Versuchsbedingungen empirisch zu ermitteln. Dies war uns aber nicht mehr möglich, da das Ausgangsmaterial nur in beschränkter Menge zur Verfügung stand.

Die erhaltene Dicarbonsäure erwies sich als identisch mit der natürlich vorkommenden und der aus der Juniperinsäure dargestellten Thapsiasäure.

Experimenteller Teil.

Azelainsäure.

Die als Ausgangsmaterial benötigte Azelainsäure wurde aus Ricinusöl dargestellt. Ricinusöl wurde verseift und die Ricinolsäure in alkalischer Lösung der Oxydation mit Kaliumpermanganat unterworfen. Dabei hatten wir Gelegenheit zu verschiedenen Beobachtungen über den Verlauf dieser Reaktion, über welche in der Literatur nur eine kurze Angabe¹⁾ vorhanden ist.

Die Oxydation der Ricinolsäure in alkalischer Lösung mit Permanganat ergab einige beachtenswerte Beobachtungen, über welche wir in einer eigenen Abhandlung noch berichten werden.

Azelainsäurediäthylester.

Zur Veresterung wurden nach Miller²⁾ 20 Gew. T. Azelainsäure (1 Mol.) mit 10 Gew.-T. Äthylalkohol (1 Mol.) und 1 Gew.-T. konz. Schwefelsäure in einem Kölbchen am Rückflußkühler 20 Stunden lang mäßig gekocht. Auf dem Wasserbade wurde dann der überschüssige Alkohol entfernt. Nach Zusatz von 10 Gew.-T. Wasser und Mischen im Scheidetrichter wurde die wässrige Schichte abgetrennt, der ölige Ester wurde mit schwacher Sodalösung bis zum Verschwinden der sauren Reaktion und dann rasch mit kaltem Wasser gewaschen und schließlich mit Chlorcalcium getrocknet. Wenn die Phasen sich zu langsam trennten, was besonders beim Waschen mit Sodalösung zu Verlusten führen kann, so gelang es durch Zusatz von etwas Äther und festem Kochsalz die Trennung sehr zu beschleunigen. Der Ester wurde dann rektifiziert; er siedet unter Atmosphärendruck bei 291°.

Bei der Verbrennung gaben:

5,074 mg Substanz 11,831 mg CO₂ und 4,365 mg H₂O.

In 100 Teilen:

	Gefunden:	Berechnet für (CH ₃) ₇ (COOC ₂ H ₅) ₂
C	63,61	63,93
H	9,63	9,84

20 g Azelainsäure gaben 18 g Diäthylester oder 90% vom Gewichte der Azelainsäure. Die wässrigen Lösungen enthielten unveränderte Azelainsäure, von der fast $\frac{1}{5}$ der ursprünglichen Menge zurückerhalten werden konnte.

Halbverseifung des Azelainsäurediäthylesters.

Der Ester wurde mit der berechneten Menge alkoholischer Kalilauge (1 Mol. KOH auf 1 Mol. Ester) auf einmal versetzt. Die Mischung erwärmte sich und bald fiel das weiße Estersalz aus. Nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes auf dem Wasserbade bei vermindertem Druck bis fast zur Trockene ein-

¹⁾ Maquenne, Bl. (3) 21, 1061. 1899.

²⁾ Ann. 307, 384

gedampft. Der Rückstand wurde in kaltem Wasser aufgenommen, mit Äther ausgeschüttelt und die wässrige Lösung dann unter Durchleiten von CO_2 ganz zur Trockene eingedampft. Die Ausbeute betrug 80% der Estermenge oder 72% des Gewichtes der Azelainsäure. Das Äthylkaliumsalz ist weiß und in Wasser sehr leicht löslich; 2 Gew.-T. des Salzes werden von 1 Gew.-T. Wasser auch in der Kälte noch leicht gelöst. Dieses rohe Estersalz enthält noch etwas Dikaliumsalz und K_2CO_3 . Eine weitere Reinigung ist aber nicht nötig, da diese beiden Salze nach Cr. Brown und J. Walker bei der Elektrolyse nicht schaden, da sie dort als Nebenprodukte auch entstehen.

Der getrocknete ätherische Auszug lieferte nach dem Abdestillieren des Äthers eine geringe Menge unverseiften Azelainsäurediäthylesters.

Elektrosynthese.

Die Apparatur zur Elektrolyse wurde auf Grund der diesbezüglichen Angaben bei Cr. Brown und J. Walker¹⁾ zusammengestellt. Als Stromquelle diente Straßenstrom von 220 Volt Spannung. Mit Hilfe einer einfachen Schaltung durchfloß der Strom zwei als Regulierwiderstände dienende Schieberwiderstände, ein Ampèremeter und die Zersetzungszelle, deren Klemmenspannung durch ein Voltmeter gemessen wurde.

Als Zersetzungszelle verwendeten wir einen geräumigen Platintiegel mit 4,5 cm oberem Durchmesser und 6 cm Höhe, der mit dem negativen Pol leitend verbunden war; ein spiralenförmig gewundener Platindraht bildete die Anode.

Beim ersten Versuch wurde der Tiegel in einem geeigneten Apparat von fließendem kaltem Wasser umspült; dabei stieg die Temperatur im Bade jedoch über 50°C , und es wurde beobachtet, daß gerade im Anodenraume die Temperatur am höchsten war. Um die gebildete Wärme von hier wirksam abzuleiten, brachten wir für die folgenden Elektrolysen eine besondere Kühlung der Anode an.

Während der Elektrolyse stieg die Temperatur bei gut fließender Kühlung auch im Anodenraume nicht über 40° ; im übrigen Tiegelraum war sie erheblich niedriger. Die Stromstärke wurde auf 4—5 Ampere, die Spannung auf 8—10 Volt gehalten.

28 g rohes Estersalz, gelöst in 28 ccm Wasser, wurden 2,5 Stunden lang elektrolysiert. Die Temperatur betrug $30\text{—}40^\circ\text{C}$. Zu Beginn der Elektrolyse trat ein ganz feinblasiger Schaum auf und das Bad neigte zum Übersäumen. Darum konnte anfangs nur eine Stromstärke von etwa 4 Ampere angewendet werden. Bald aber wurde der Schaum grobblasiger und fiel leichter in sich zusammen; die Stromstärke konnte dann allmählich auf 5 Ampere gesteigert werden. Um die Temperatur, die Stromstärke und die Spannung innerhalb der gewünschten Grenzen zu halten, wurden deren Werte nach jeder Viertelstunde gemessen und notiert.

An der Kathode entsteht KOH ; es wird aber durch das an der Anode gebildete CO_2 als K_2CO_3 gebunden, welches sich bereits während der Elektrolyse in festem Zustande abscheidet.

¹⁾ Ann. 261, 107. 1891.

Gegen Ende der Elektrolyse wurde der Schaum sehr grobbläsig und nahm in der Mitte des Tiegels an Stärke ab, ohne aber ganz zu verschwinden.

Diäthylester der Tetradekamethylendicarbonsäure.

Nach Unterbrechung des Stromes wurde der Tiegelinhalt in ein Becherglas gegossen; es schied sich eine schwimmende Ölschicht ab. Diese wurde in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit Chlorcalcium getrocknet und der Äther dann auf dem Wasserbade abdestilliert. Es blieben 10,5 g eines schwach gelblich gefärbten Öles zurück, das im Vakuum fraktioniert destilliert wurde. Die bei einem Drucke von 10 mm Hg oberhalb von 200° übergehende Fraktion erstarrte im Rohre und stellte den gewünschten Ester dar. Dieser wurde durch Umkrystallisieren aus Äthylalkohol gereinigt: er siedet bei 230° bei 17 mm Hg. Bei Zimmertemperatur ist er fest, krystallinisch, aber ohne deutliche Krystallform, weiß und von fettähnlicher Konsistenz.

Die Verbrennung lieferte folgende Werte:

3,964 mg Substanz gaben 10,231 mg CO₂ und 3,901 mg H₂O.

In 100 Teilen:

	Gefunden:	Berechnet für (CH ₂) ₁₄ (COOC ₂ H ₅) ₂ :
C	70,41	70,18
H	11,01	11,11

Es lag also der Diäthylester der Tetradekamethylendicarbonsäure vor. Ausbeute 21% der Theorie.

Tetradekamethylendicarbonsäure.

Zur Verseifung des Esters wurde eine Lösung von 4 g Ester in wenig Alkohol langsam zu einer siedenden alkoholischen Kalilauge zufließen gelassen, die 2 g KOH enthielt, d. i. 3 Mol. KOH auf 1 Mol. Ester. Die Mischung wurde dann noch 2 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht und hierauf zur Entfernung des Alkohols auf dem Wasserbade unter Wasserezusatz erwärmt. Das Kaliumsalz bildete auch nach dem Filtrieren und Auskochen mit Tierkohle eine seifige Lösung.

Mit verdünnter Schwefelsäure wurde die freie Säure ausgefällt. Sie wurde in Äther aufgenommen und nach dem Abdestillieren des Äthers umkrystallisiert. Zu diesem Zwecke lösten wir die Säure in wenig warmem Alkohol und fügten auf dem Wasserbade vorsichtig Wasser hinzu, bis eine geringe Trübung entstand, die sich durch einige Tropfen Alkohol wieder löste. Beim Abkühlen fiel die Säure krystallinisch aus. Sie war aber noch etwas gelblich gefärbt und schmolz unscharf bei 115,5° C.

Zur weiteren Reinigung behandelten wir die Säure im Extraktionsapparate mit Petroläther (Sdp. 25—40°) und erhielten aus dem Petrolätherextrakte eine rein weiße Substanz, die aber auch schon bei 118° schmolz. Durch wiederholtes Lösen in verdünnter Kalilauge und Wiederausfällen mit verdünnter Salzsäure, Filtrieren, Waschen mit Wasser und Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum wurde eine Substanz erhalten.

die bei 123° schmolz. Die Säure war weiß, krystallinisch, aber ohne deutlich ausgeprägte Krystallform. Sie war unlöslich in Wasser, schwer löslich in Petroläther, leicht löslich in Alkohol, Äther, Chloroform und Aceton. Die Verbrennung ergab folgende Werte:

- I. 3,29 mg Substanz gaben 8,101 mg CO₂ und 3,002 mg H₂O.
- II. 5,23 mg Substanz gaben 12,88 mg CO₂ und 4,95 mg H₂O.

In 100 Teilen:

	Gefunden:		Berechnet für (CH ₂) ₁₄ (COOH) ₂ :
	I.	II.	
C	67,17	67,19	67,13
H	10,21	10,59	10,49

Zur Titration wurde eine gewogene Menge in Alkohol, der zuvor mit ⁿ/₇₀-Natronlauge genau neutralisiert worden war, gelöst, und mit ⁿ/₇₀-Natronlauge titriert (Phenolphthalein als Indicator):

12,085 mg Substanz verbrauchten 5,84 ccm, berechnet: 5,92 ccm.

Der vorliegende Körper entsprach also der Formel:



Die Ausbeute, berechnet auf das Estersalz, betrug 12% der Theorie. Dieser Körper war, wie die oben angeführten Eigenschaften und die Analysenresultate bewiesen, identisch mit der von Canzoneri und von Bougault beschriebenen Thapsiasäure.

Alle Analysen wurden nach Pregls mikroanalytischer Methode ausgeführt.

Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden.

Von
Otto Gerngross.

(Mitteilung aus dem techn.-chem. Institut der Technischen Hochschule,
Berlin.)

(Eingegangen am 12. Mai 1920.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

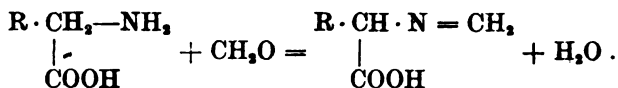
Die Frage, ob die Gerbung tierischer Haut auf vorwiegend chemischen oder rein physikalischen Vorgängen beruhe, ob das Leder eine chemische oder eine reine „Adsorptionsverbindung¹⁾“ zwischen dem Kollagen und dem Gerbmaterial sei, ob also die Haut überhaupt bei der Gerbung eine chemische Veränderung erleide, ist noch nicht entschieden.

Als das ausschlaggebendste Argument für die rein physikalische Auffassung der Gerbvorgänge ist von den schärfsten Vertretern der physikalischen Richtung der Haut sowie allen ähnlichen hochmolekularen Geweben von kolloidalem Charakter überhaupt die Fähigkeit, chemisch zu reagieren, abgesprochen worden.

Eine große Rolle spielt in diesem Widerstreit der Meinungen die Aldehydgerbung. Da festgestellt ist, daß die Haut durch Formaldehyd eine Verminderung ihres Säureaufnahmevermögens

¹⁾ In engem Zusammenhang mit diesem Problem steht die Frage, ob die Adsorption eine im wesentlichen nur von der Oberfläche der dispersen Phase und nicht auch von ihren chemischen Eigenschaften abhängige Erscheinung ist. In guter Übereinstimmung mit den Ansichten, daß die Adsorption von Elektrolyten genau so verlaufe, wie sie nach der chemischen Natur von Adsorbens und Adsorbendum zu erwarten ist (vgl. L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 97, 57. 1919), stehen Versuche, die ich mit Formaldehydleder gemacht habe (Colleg. Nr. 597, S. 2. 1920). Formaldehydleder betätigt nämlich, da es infolge Ausschaltung basischer Gruppen im Kollagen saurer als nicht vorbehandelte Haut ist, eine verminderte Adsorption gegen Säuren und nach noch nicht veröffentlichten in Gemeinschaft mit Herrn cand. phil. Loewe angestellten Versuchen eine erhöhte Adsorption gegen Alkalien.

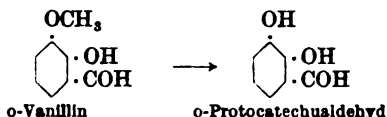
erfährt¹⁾, wird von vielen Gerbereichemikern angenommen, daß es sich in diesem Falle der Gerbung um eine chemische Wechselwirkung handle, die ähnlich wie die Reaktion zwischen einer Aminosäure und Formaldehyd verlaufe.



Das verminderte Säureaufnahmevermögen wird durch Ausschaltung freier basischer Gruppen im Kollagen erklärt, und diese Deutung kann als die wichtigste Stütze für die chemische Theorie der Gerbung gewertet werden. Sie wird jedoch keineswegs widerspruchlos anerkannt. Von manchen Chemikern wird die Aldehydgerbung im wesentlichen mit einer Umhüllung der Hautfaser durch reaktionsträge Formaldehydpolymere erklärt, welche auch die Ursache der verminderten Säureadsorption sein sollen²⁾.

In diesem Zusammenhang bietet das Studium der Einwirkung des o-Protocatechualdehyds auf die Haut ein besonderes Interesse.

H. Pauly und K. Lockemann³⁾, welche diesen Körper zuerst, und zwar durch Verseifung des o-Vanillins⁴⁾:



dargestellt haben, beobachteten, daß er die Haut und tierische Faser gelb färbt. Die Schiffischen Basen, welche er mit primären Aminen bildet, sind jedoch intensiv farbig, so z. B. das Anil blaustichig scharlachrot.

Auf diese Tatsache macht E. Stiasny⁵⁾ aufmerksam. Er deutet an, daß die Beobachtungen Paulys vielleicht zu dem Schluß berechtigen, daß der Aldehyd keine Verbindung vom Charakter einer Schiffischen Base mit der Haut bilden könne. Moeller⁶⁾ verwendet das gleiche Argument

¹⁾ E. Stiasny, Colleg. 1908, S. 132; C. C. 1908, I, S. 2214. — O. Gerngross, Colleg. 1920, S. 2. W. Fahrion, Colleg. 1920, S. 128.

²⁾ Moeller, Colleg. 1918, S. 32.

³⁾ Ber. 43, 1813. 1910.

⁴⁾ Der Firma Haarmann & Reimer, Holzminden, und der Chem. Fabrik v. Heyden, Radebeul, bin ich für die Schenkung von einmal 40 und einmal 100 g o-Vanillin, die mich in die Lage versetzte, diese Arbeit auszuführen, zu ganz besonderem Dank verpflichtet.

⁵⁾ Colleg. 1910, S. 301.

⁶⁾ Colleg. 1918, S. 66; C. C. 1918, II, S. 234.

in einer späteren Arbeit und hält die von Pauly und Lockemann festgestellte Eigenschaft des o-Protocatechualdehyds, die Haut bloß gelb zu färben, mit Anilin jedoch eine scharlachrote Verbindung zu bilden, „für einen vollwertigen Beweis dafür, daß keine Reaktion nach Art der Schiffschens Base stattgefunden hat und daß überhaupt keine chemische Reaktion der Aldehyde mit der Haut vor sich geht...“

Nun besitzen aber die Schiffschens Basen, welche Pauly und seine Mitarbeiter dargestellt haben, als basische Komponente nur primäre Amine der aromatischen Reihe, während die Aminosäuren der Haut, Wolle usw. nur Amine aliphatischen Charakters als Bausteine haben. Wenn tatsächlich auch diese Eiweißspaltungsprodukte mit dem 2,3-Dioxybenzaldehyd Verbindungen geben würden, deren Farbe wesentlich von der der Haut erteilten abwichen, so wäre allerdings die Fähigkeit der Haut, mit Aldehyden zu reagieren, stark in Frage gestellt.

Zur Untersuchung dieser Frage stellte ich zunächst die Schiffschens Base aus o-Protocatechualdehyd und Glycylglycinester her, da das Kollagen der Haut ja als hauptsächlichsten Baustein Glykokoll aufweist. Die Umsetzung zu der gewünschten Verbindung geht bei leichtem Erwärmen in alkoholischer Lösung glatt vonstatten.

Der neue Körper, eine schöne krystallinische Verbindung, zeigt eine leuchtende goldgelbe Farbe, die eine große Ähnlichkeit mit der o-Protocatechualdehyd-Hautfärbung, aber geringere Intensität besitzt.

Da ich festgestellt hatte, daß auch das o-Vanillin imstande ist, die Haut zu färben, allerdings viel weniger echt und intensiv als der o-Protocatechualdehyd — die Farbe ist grünstichig, gelb — bereitete ich auch in analoger Weise die o-Vanillin-Glycylglycinesterverbindung. Auch hier starke Ähnlichkeit mit der entsprechenden Hautfärbung.

Ich wählte nun zu meinen weiteren Versuchen solche Eiweißbausteine, welche neben der aliphatischen Aminogruppe auch eine aromatische Komponente enthielten, um von vornherein dem Zweifel zu begegnen, daß vielleicht der Benzolkern der Seitenkette einen wesentlichen Einfluß auf die Färbung der Schiffschens Base auszuüben vermöge. Mit d-l Phenylalaninester entstanden sowohl mit o-Protocatechualdehyd als mit o-Vanillin ölige Kondensationsprodukte, die ich bisher nicht zur Krystallisation zu bringen vermochte. Dahingegen ergab der

Versuch mit *o*-Protocatechualdehyd und *l*-Tyrosinmethylester¹⁾ eine prächtige krystallinische eigelbe Schiffische Base. Also selbst eine auxochrome Phenolgruppe in der Seitenkette ist nicht imstande, die Farbe über Eigelb hinaus zu vertiefen und ich denke, daß damit die Einwände, welche unter Hinweis auf die Verschiedenheit der Hautfärbungen und der Farbe der von Pauly dargestellten Schiffischen Basen gegen die Reaktivität des Kollagens gemacht wurden, als erledigt zu betrachten sind.

Da durch die Paulysche Reaktion nachgewiesen ist, daß in der Haut eine reaktive freie Imidogruppe, nämlich die des Histidins vorhanden ist²⁾, versuchte ich, ob vielleicht diese mit dem Aldehyd zu reagieren vermag und also für die Hautfärbung mit den beiden Körpern verantwortlich zu machen wäre. Verschiedene Versuche, den *o*-Protocatechualdehyd mit freier Imidazolbase oder dem α -Exo-benzoyl-Histidinester³⁾ in Reaktion zu bringen, hatten jedoch keinen Erfolg. Falls also — was ich jedoch, wie weiter unten auseinandergesetzt wird, auch nach meinen bisherigen Untersuchungen nicht für erwiesen halte — die fragliche Hautfärbung wirklich durch Bildung von Schiffischen Basen zu erklären wäre, müßte man mit einiger Bestimmtheit die Anwesenheit freier primärer Aminogruppen im Kollagen annehmen.

Aber schon die bloße Beobachtung der Färbung, welche sowohl der *o*-Protocatechualdehyd wie das *o*-Vanillin auf der Haut hervorrufen, sind geeignet, einigen Aufschluß für die Beantwortung der Frage zu geben, ob die Haut zu chemischen Reaktionen befähigt ist oder nicht. Während der *o*-Protocatechualdehyd schwefel- also fahlgelb, seine Lösungen im Wasser und in Alkohol nur unbedeutend gelbgefärbt sind, zeigt Hautpulver⁴⁾, das mit solchen Lösungen geschüttelt wird, eine leuchtend goldgelbe Farbe. Papier und Baumwolle zeigen diese auffallenden Färbungen nicht. Ähnliches, wenn auch in etwas geringerem

1) Tyrosin ist im Kollagen nicht enthalten, was für die hier zu entscheidende Frage unwesentlich ist.

2) O. Gerngross, Colleg. 1920, S. 2.

3) O. Gerngross, Zeitschr. f. physiol. Chemie 103, 56. 1919.

4) Es wurde zu diesen und den folgenden Versuchen das für Gerbstoffanalysen gebräuchliche Hautpulver der deutschen Versuchsanstalt für Lederindustrie in Freiberg in Sachsen verwendet.

Maße, gilt auch für o-Vanillin. Es handelt sich also hier offenbar um keine einfache Adsorptionserscheinung, sondern um eine chemische Reaktion, wie sie von R. Nietzki und E. Burckhard¹⁾ und P. Pfeiffer und F. Wittka²⁾ an Wolle und Seide mit ammoniakalischer Fuchsin- und essigsaurer Tetrabromphenolphthaleinesterlösung beobachtet wurde.

Wenn nun tatsächlich im Formaldehydleder ein Teil der reaktiven basischen Gruppen der Haut besetzt und ausgeschaltet ist, so sollte dieses Leder nur in geringem Maße oder gar nicht mehr imstande sein, mit den Phenolaldehyden unter Farbstoffbildung zu reagieren, wenn man annimmt, daß diese freien basischen Gruppen die Vorbedingung für die Hautfärbungen mit den Aldehyden sind.

Eine Reihe von Versuchen ergab auch wirklich in ganz unverkennbarer Weise, daß sich das mit Formaldehyd vorbehandelte Hautpulver nur ganz schwach im Vergleich zu gewöhnlichem Hautpulver mit den beiden Phenolaldehyden färbt. Die Färbung, die auch bei dem Formaldehydlederpulver auftritt, ist leicht auswaschbar und zeigt nur die unscheinbare Körperfarbe der Aldehyde und nicht den leuchtenden gelben Ton der normalen Hautfärbung.

Ich versuchte ferner, ob sich das Formaldehydleder auch durch geringere Farbstoffbildung mit diazobenzolsulfosaurem Natrium³⁾ auszeichne. Das wäre im bejahenden Falle ein Beweis dafür gewesen, daß in diesem Leder auch die basische Imidogruppe des Imidazolringes substituiert und für die Farbstoffbildung ausgeschaltet sei. Nach meinen oben mitgeteilten Versuchen mit Imidazol und o-Protocatechualdehyd war das von vornherein wenig wahrscheinlich. Es erwies sich auch tatsächlich, daß die formalinbehandelte und die nicht präparierte Haut in ganz gleicher Weise mit der Diazolösung kuppelte. Ich glaube, daß dies zugleich ein neuer Beweis gegen die Panzertheorie der Aldehydgerbung ist⁴⁾, welche u. a. das verminderte Aufnahmevermögen des Formalinleders in bezug auf Säuren durch eine schützende Hülle von Formaldehydpolymeren erklärt, welche im

¹⁾ Ber. **30**, 175. 1897.

²⁾ Chem.-Ztg. **40**, 357. 1916.

³⁾ Colleg. 1920, S. 2.

⁴⁾ Moeller, Colleg. 1918, S. 32, 345.

Formaldehydleder die Hautfaser umkleiden soll. Diese Hülle sollte, wenn sie wirklich bestände, doch in gleicher Weise wie gegen Säuren auch gegen die Diazolösung Schutz bieten.

Interessant war es endlich zu untersuchen, ob der o-Protocatechualdehyd auch gerbend wirken könne. Es zeigte sich, daß er in schwach sodaalkalischer Lösung¹⁾, welche für die Durchführung der Aldehydgerbung unerlässlich ist, Hautpulver bis zu der allerdings nur geringen Wasserbeständigkeitszahl²⁾ 20 gerbte. Mit einer Kaninblöße ergab sich ein verhältnismäßig gutes und nach dem Stollen schmiegsames, braungelbes Leder, das, seit einem Jahre aufbewahrt, sich nicht veränderte.

Es war jedoch von vornherein fraglich, ob die Aldehydgruppe oder die o-Dioxygruppe in dem Phenolaldehyd als Trägerin der Gerbwirkung anzusprechen sei, denn es ist bekannt, daß Benzaldehyd keinerlei Gerbwirkung entfaltet, und ich habe dies durch verschiedene Versuche bestätigt gefunden, während das Brenzcatechin³⁾, das 1—2 Dioxybenzol, gerbende Eigenschaften besitzt. Da nun unser Aldehyd ein Dioxybenzaldehyd ist, war zu vermuten, daß auch in ihm die Dioxygruppe für die Gerbung verantwortlich zu machen sei. Ein vergleichender Gerbversuch mit o-Vanillin und o-Protocatechualdehyd ergab die Richtigkeit dieser Schlüsse, denn o-Vanillin, das wohl die Aldehyd- aber keine Dioxygruppe besitzt, gerbt nicht und ein ähnlicher Versuch mit Guajacol und Brenzcatechin, die im selben Konstitutionsverhältnis zueinander stehen wie o-Vanillin und o-Protocatechualdehyd, brachte eine weitere Stütze für diese Anschauung.

Es ist auch durchaus möglich, daß auch die Ursache für die Färbung der Haut durch die Phenolaldehyde nicht im Aldehydcharakter, sondern im Phenolcharakter dieser Verbindungen zu suchen, daß also die Färbung durch Salzbildung und nicht durch die Entstehung einer Schiffischen Base veranlaßt ist, was von den Autoren, die sich bisher mit dieser Frage beschäftigten, nicht beachtet wurde.

¹⁾ J. und E. Pulmann, D. R. P. 111 408. 1898; Chem. Centralblatt 1900, II, S. 609; Colleg. 1920, S. 8.

²⁾ W. Fahrion, Chem.-Ztg. 32, 888. 1908.

³⁾ R. O. Herzog, J. Adler, Kolloid-Zeitschr. 2, Suppl.-Heft II. 1908.
— L. Meunier, A. Seyewetz, D. R. P. 206 957; Chem. Centralblatt 1909, I, S. 1212.

Die Färbeversuche mit Formaldehydleder sind zwar ein neuer und sicherer Beweis dafür, daß reaktive basische Gruppen des Kollagens und zwar wahrscheinlich Aminogruppen durch Formaldehyd ausgeschaltet werden — der Imidazolring bleibt intakt —, daß also die Haut mit ihren basischen Gruppen ähnlich wie eine Aminosäure reagiere. Aber diese Ausschaltung der basischen Gruppen verhindert in gleicher Weise die Salzbildung wie die Bildung Schiffischer Basen, so daß für die unmittelbare Entscheidung der Frage Salzbildung oder Schiffische Basenbildung nichts gewonnen ist.

Ich habe daher, um vielleicht auf anderem Wege einer Lösung dieser Frage näherzukommen, Adsorptionsversuche mit Hautpulver und den beiden Phenolaldehyden gemacht. Diese Versuche mußten aus im experimentellen Teil angeführten Gründen auf ziemlich verdünnte Lösungen beschränkt bleiben und ergaben, daß in sehr niedrigen Konzentrationsgebieten sich die Phenolaldehyde zwischen Haut und der wässrig-alkoholischen Lösung der Freundlichschen¹⁾ Adsorptionsisotherme $\frac{x}{m} = \beta \cdot c^{\frac{1}{p}}$ entsprechend verteilen.

Aber schon bei Gleichgewichtskonzentrationen von etwa 0,007 Milliäquivalenten im Kubikzentimeter angefangen, krümmt sich die durch Logarithmen der Werte von c und $\frac{x}{m}$ erhaltene Gerade und zeigt die Tendenz, sich zur log. c -Achse parallel zu stellen — eine Erscheinung, wie wir sie auch bei der Aufnahme von Salzsäure aus wässriger Lösung durch Haut, die als chemische Reaktion²⁾ aufzufassen ist, sehen (vgl. die Abbildungen im experimentellen Teil), während organische Säuren genau der Isotherme folgen³⁾.

Interessant ist es aber, daß sich bei den größten Verdünnungen, in denen sich das typische Bild der „Adsorption“ ergibt, die mit *o*-Vanillin und *o*-Protocatechualdehyd behandelte Haut deutlich die wiederholt beschriebene durch bloße „Adsorption“ nicht erklärbare Änderung der Farbennuance zeigt. Ohne Frage

¹⁾ H. Freundlich, Zeitschr. f. physikal. Chemie **57**, 386. 1907.

²⁾ V. Kubelka, Kolloid-Zeitschr. **19**, 172. 1916. — H. R. Procter, Kolloidchem. Beihefte **2**, 250. 1911. H. R. Procter, J. A. Wilson. Journ. Chem. Soc. **109**, 307. 1916.

³⁾ V. Kubelka, Colleg. 1915, S. 388.

ist dies so aufzufassen, daß trotz Adsorptionsisotherme auch in diesen niedrigsten Konzentrationsgebieten eine chemische Reaktion zwischen Haut und den Phenolaldehyden stattfindet.

Versuche.

In Gemeinschaft mit Dr. A. Ritter.

Zur Darstellung des o-Protocatechualdehyds aus dem o-Vanillin verwendeten wir die vorzügliche Entmethylierungsmethode mit 48 proz. Bromwasserstoffsäure und heißem Eisessig, die Pauly, K. Schübel und K. Lockemann¹⁾ mitgeteilt haben. Bei genauer Einhaltung der beschriebenen Versuchsbedingungen gelingt es leicht, die von den Autoren angegebene Ausbeute an Dioxybenzaldehyd zu erreichen, doch stellte es sich heraus, daß man sie durch Verwendung von größeren Mengen Bromwasserstoffsäure noch etwas steigern kann. Wir verwendeten auf 40 g o-Vanillin 66 ccm Bromwasserstoffsäure (statt 45,6 ccm), d. i. etwa 2,2 Mol. und erhielten 22 g der reinen Verbindung vom Schmelzpunkt 107°, d. i. etwa 60% Ausbeute²⁾.

2-Oxy-3-methoxy-benzyliden-glycylglycinäthylester.
 $(OH) \cdot (CH_3O) \cdot C_6H_3 \cdot CH = N \cdot CH_2 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COO \cdot C_2H_5.$

1 g o-Vanillin (2/300 Mol.) werden in 3,5 ccm absolutem Alkohol bei mäßiger Wärme gelöst und mit einer filtrierten Lösung von 1,07 g (2/300 Mol.) Glycylglycinäthylester in 8 ccm absolutem Alkohol versetzt. Beim Abkühlen erstarrt die Lösung zu einem Brei gelber Nadelchen. Sie werden mit einem Gemisch von Alkohol und Äther gewaschen und bei 90° getrocknet. Ausbeute 1,5 g.

Die Substanz schmilzt bei 118°. Beim weiteren Umkrystallisieren, das bequem aus der 7,5fachen Menge heißen Alkohols durchführbar ist, ändert sie den Schmelzpunkt nicht mehr.

0,1452 g Substanz, 11,6 ccm N; 15° C; 763 mm.

$C_{14}H_{18}N_2O_5$, ber.: N. 9, 52%

gef.: N. 9,51%.

Sie krystallisiert in Gestalt langer, hellgelber, seidenglänzender Nadeln, die sich beim Liegen an der Luft allmählich etwas dunkler färben. Sie ist auch in kaltem Wasser etwas löslich und

¹⁾ Annalen d. Chemie **383**, 312. 1911.

²⁾ In der Arbeit ist angegeben, daß auf 50 g o-Vanillin die theoretische Menge 40 proz. Bromwasserstoffsäure, d. i. 57 ccm, benötigt werde. Die berechnete Menge wäre aber bloß etwa 37 ccm, die sicher nicht ausreichen würden, um die in der Arbeit angeführte Ausbeute zu erreichen.

zwar mit grünlichgelber Färbung und schwach saurer Reaktion gegen Lackmus. Aus der etwa 60fachen Menge siedenden Wassers läßt sie sich ohne Zersetzung umkrystallisieren. Beim langen Kochen (über $\frac{1}{2}$ Stunde) wird die Lösung jedoch zersetzt unter Bildung harziger Produkte.

2,3-Dioxy-benzyliden-glycylglycinester.



2,76 g o-Protocatechualdehyd und 3,2 g Glycylglycinester werden, in je 10 ccm warmen Alkohols gelöst, gemischt. Die Lösung färbt sich intensiv goldgelb und alsbald scheiden sich goldgelbe Krystallflitter ab. Sie schmelzen bei 125° und zeigen die merkwürdige Eigenschaft, bei weiterer Reinigung durch Umkrystallisieren einen niederen Schmelzpunkt nämlich von $120\frac{1}{2}^\circ$ anzunehmen. Ausbeute an reinem Produkt vom konstanten Schmelzpunkt nach einmaligem Umkrystallisieren aus der 6—7fachen Menge Alkohol 4,5 g. Für die Analyse wurde bei 90° getrocknet.

0,1399 g Substanz, 0,2830 g CO_2 ; 0,0748 g H_2O I

0,1504 g Substanz, 0,3076 g CO_2 ; 0,0829 g H_2O II

0,1386 g Substanz, 11,8 ccm N; 14°C ; 761 mm.

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$, gef.: I. 55,56% C; 5,98% H; 10,14% N.

gef.: II. 55,78% C; 6,16% H.

ber.: 55,68% C; 5,76% H; 10,00% N.

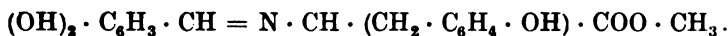
Die Substanz krystallisiert in Gestalt goldgelber Platten mit atlasartigem Glanz. Der Vergleich der Färbung ihrer Lösung in neutralen Mitteln mit der durch Protocatechualdehyd hervorgerufenen Hautfärbung ergibt eine geradezu verblüffende Übereinstimmung. Sie ist spielend leichtlöslich in Aceton, leichtlöslich in Essigester und in Eisessig, schwer löslich selbst in kochendem Äther, unlöslich in Petroläther, der sie unverändert aus einem Äther-Eisessiggemisch auszufällen vermag. Auch aus kochendem Wasser, dem sie saure Reaktion gegen Lackmuspapier erteilt, läßt sie sich bei etwas rascherem Arbeiten unverändert umkrystallisieren, 5 Minuten langes Kochen bewirkt jedoch bereits nicht unwesentliche Verharzung.

Gegen kalte Alkalien ist die Verbindung relativ beständig, sehr unbeständig gegen Säuren. Verreibt man z. B. 0,84 g mit 3 ccm n-Salzsäure, das ist die auf 1 Mol. berechnete Menge, so

entsteht ein Brei gelber Nadeln, die sich als o-Protocatechualdehyd vom Schmelzpunkt 107° erweisen.

Schüttelt man 0,56 g der Schiffischen Basen mit $\frac{1}{2}$ Liter $\frac{1}{50}$ n-Essigsäure, das ist die fünffache molare Menge, so entsteht nach kurzer Zeit eine fast farblose Lösung, aus der durch Ausschütteln mit Äther 0,25 g, also fast die theoretisch zu erwartende Menge reinen o-Protocatechualdehyds gewonnen werden kann.

2,3-Dioxy-benzyliden - 1 - tyrosinmethylester.



2,76 g Aldehyd und 3,9 g Tyrosinester¹⁾ werden in je 10 ccm 40 proz. wässrigem Äthylalkohol miteinander gemischt. Beim Erkalten entsteht eine ölige und eine wässrige Schicht, die, wenn kein Impfmateriel zur Verfügung steht, erst nach längerem Stehen krystallisieren. Man wäscht mit 40 proz. Alkohol, trocknet auf Ton und krystallisiert aus 25 ccm 50 proz. Alkohol unter mäßigem Anwärmen um. Ausbeute 4 g, Schmelzpunkt 143 bis 144° zu klarem, orangeroten Öl.

Für die Analyse wurde bei 100° getrocknet:

0,1472 g Substanz, 0,3495 g CO₂; 0,0741 g H₂O.

0,1897 g Substanz, 6,8 ccm N; 10° C; 760 mm.

C₁₇H₁₇O₅N, ber.: 64,73% C; 5,44% H; 4,45% N.

gef.: 64,75% C; 5,63% H; 4,32% N.

Die Substanz krystallisiert in Form eigelber vierseitiger Prismen und Platten. Ihre Farbe ist etwas heller als z. B. die des o-Nitroanilins.

In Wasser ist der Ester so gut wie unlöslich, leichtlöslich in Alkohol, Aceton und Chloroform, weniger in siedendem Benzol oder Äther, unlöslich in Petroläther. Ein Versuch mit Essigsäure, der analog dem bei dem Glycylglycinester mitgeteilten jedoch mit 3 Mol. bloß $\frac{1}{100}$ -Säure durchgeführt wurde, ergab, daß sogar diese geringe Konzentration einer so schwachen Säure, wie es die Essigsäure ist, genügt, um die Schiffische Base vollkommen in ihre Komponenten zu zerlegen.

¹⁾ Die beiden Substanzen lagen 14 Tage nebeneinander im Exsiccator, wobei sich der ursprünglich farblose Ester dunkelgelb färbte.

Färbeversuche mit o-Vanillin und o-Protocatechualdehyd.

8 g nichtchromiertes Hautpulver der Freiburger Versuchsanstalt werden $\frac{1}{2}$ Stunde mit 120 ccm Wasser gequollen und nach und nach mit 40 ccm 35 proz. Formaldehyd, der mit Soda-lösung schwach alkalisch gegen Phenolphthalein gemacht worden war, versetzt. Nach 24stündigem Stehen wird abgesaugt, das Formaldehydlederpulver mehrere Tage an der Luft getrocknet.

Je 0,5 g dieses Lederpulvers und des nicht vorbehandelten Hautpulvers werden in Reagensgläsern mit 8 ccm destilliertem Wasser, das mit je 2 ccm einer 7,5 proz. alkoholischen o-Vanillin- oder o-Protocatechualdehyd-lösung versetzt ist, unter zeitweisem Schütteln $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen. Die Lösungen mit den Hautpulver- und Lederpulverproben zeigen zunächst keinen Unterschied, sie sind kaum merklich gelb gefärbt. Nach wenigen Sekunden zeigt sich jedoch eine rasch zunehmende Vertiefung und Veränderung des Farbtones bei den nicht präparierten Hautpulvern, während die Lederpulver unverändert bleiben. Nachdem man unter öfterem Umschütteln eine Stunde stehen gelassen, nutsch man die Proben auf Trichternutschen ab und kann dann bequem die Farben der zusammengepreßten Fasern vergleichen. Es ist bemerkenswert, daß die Filtrate der Hautproben mehr entfärbt sind als die der Lederproben, entsprechend der stark verminderten Aufnahmefähigkeit der letzteren für die beiden Phenolaldehyde.

Verschiedene dieser Proben werden dann im Reagensglas mit je 25 ccm Wasser oder 25 ccm $\frac{n}{100}$ -Sodalösung oder $\frac{n}{100}$ -Essigsäure versetzt und unter Schütteln 1 Stunde stehen gelassen, dann abgenutscht. Es zeigt sich, daß in allen Fällen die einfach durch Aufsaugen der Farbstoff-lösungen entstandenen schwachen Färbungen des Aldehydleders sich bereits durch die geringen Mengen des angewandten Waschmittels glatt auswaschen lassen, die Farbe der Haut jedoch nicht. Nur die o-Vanillin-hautfärbung, die überhaupt weniger bedeutend und echt ist als die mit o-Protocatechualdehyd, erweist sich als sehr wenig säurebeständig.

Tabelle I.

	o-Vanillin	o-Protocatechualdehyd	o-Vanillin	o-Protocatechualdehyd
			nach Waschen m. 25 ccm Wasser	
Hautpulver	grüngelb	goldgelb	grüngelb	goldgelb
Formaldehydlederpulver	blaßgelb	schwefelgelb	farblos	fast farblos

Färbeversuch mit Diazobenzolsulfosäure.

Je 0,5 g des Formaldehydlederpulvers und des Hautpulvers werden in Reagensgläsern mit 8 ccm Wasser gequollen, dann mit 2 ccm 2 n-Sodalösung und mit 2 ccm einer fast farblosen Lösung

von 0,19 g Diazobenzolsulfosäure in 20 ccm Wasser versetzt. Beim Umschütteln entstehen innerhalb einiger Sekunden in beiden Proben das Maximum einer tiefen blutroten Färbung. Sie ist absolut wasserfest; beim Ansäuern schlägt sie in Orangegelb um und wird durch Alkalischemachen in alter Stärke wieder hervorgerufen. Ein wesentlicher Unterschied des Azofarbstoffes des Formaldehydleders von dem der Haut kann nicht festgestellt werden.

Gerbversuche mit o-Protocatechualdehyd und o-Vanillin.

41 g einer mit Arsensulfid und Kalk geschwödeten und mit Oropion gebeizten Kaninblöße werden in 60 ccm Wasser mit einer Lösung von 0,5 g o-Protocatechualdehyd in 20 ccm Alkohol und mit ca. 7 ccm n-Sodalösung allmählich versetzt und unter zeitweiser Bewegung etwa 24 Stunden stehengelassen.

Die Probe hat vollständig den blößenhaften Charakter eingebüßt und läßt sich wie Formaldehydleder auspressen. Nach einigem Wässern wird sie getrocknet und erweist sich nach dem Stollen als ein nur wenig blechiges, braungelbes Leder von verhältnismäßig vollem Griff. Läßt man bei diesem Versuche die Sodalösung fort, so ist die Gerbwirkung beträchtlich geringer.

Eine mit o-Vanillinlösung genau ebenso behandelte Blöße ergibt ein pergamentartiges, durchaus ungegerbtes Produkt.

Zur Bestimmung der Wasserbeständigkeit nach F a h r i o n¹⁾ werden vier verschiedene Proben von je 10 g Hautpulver in 84 ccm Wasser mit äquivalenten Mengen von o-Protocatechualdehyd (0,548 g), o-Vanillin (0,608 g), Brenzcatechin (0,44 g) und Guajacol (0,496 g) in 36 ccm Alkohol versetzt

Tabelle II.

Hautpulver behandelt mit	Wasser %	Asche %	Wasser lösliches %	W. B.	Farbe der Haut- pulverproben
o-Protocatechual- dehyd (0,548 g)	15,7	2,7	66	20	orangegelb
o-Vanillin (0,608 g)	15,8	1,6	82,5	0	gelb
o-Brenzcatechin (0,44 g)	17,1	1,9	43,8	46	graubraun
o-Guajacol (0,496 g)	17,9	1,8	81,3	0	farblos

¹⁾ Chem.-Ztg. 32, 888. 1908. — Procter, Taschenbuch f. Gerberei-chemiker 1914, S. 210.

und allmählich 35 ccm einer etwa $\frac{1}{8}$ -Sodalösung zugegeben. Nach 24stündigem Stehen wird abgesaugt und jedesmal mit rund 6 l Wasser gewaschen, an der Luft konstant getrocknet, Asche und Wassergehalt bestimmt. Die o-Protocatechualdehyd- und Brenzcatechinproben sind durch den bloßen Augenschein durch größeres Volumen, Elastizität und wolleartiges Aussehen als gegerbt von den ungegerbten bräseligen o-Vanillin- und Guajacolproben zu unterscheiden.

Adsorptionsversuche.

Die Aufnahme der beiden Phenolaldehyde durch die Haut läßt sich quantitativ sehr bequem verfolgen, da beide in 20 proz. alkoholischer Lösung gegen Phenolphthalein mit Barythydrat wie einbasische Säuren titrierbar sind¹⁾. Diese Methode ist jedoch für konzentriertere Lösungen nicht anwendbar. Denn schon eine 0,12 Grammäquivalente im Liter enthaltende Lösung der beiden Phenolaldehyde verbraucht bei der Titration gegen Phenolphthalein nur etwa 90% der berechneten Menge an $\frac{1}{10}$ -Barytlauge. Man muß daher vor dem Titrieren die Flüssigkeit stets auf etwa 0,025 n mit 20 proz. Alkohol verdünnen. Ich habe aus diesem Grunde diese Untersuchung nur in niedrigen Konzentrationsgebieten durchgeführt, da außerdem auch wegen der Kostbarkeit des Materials das Arbeiten mit starken Lösungen sich nicht gelohnt hätte, und die Resultate auch ohnedies ein genügend klares Bild ergeben.

Die Versuche wurden so angestellt, daß die aus den Tabellen ersichtlichen Hautpulvermengen mit 100 ccm der Phenolaldehydlösungen in 20- bis 35 proz. Alkohol eine bestimmte Zeit geschüttelt, dann die Lösungen — zwecks Ausschaltung der Adsorption von seiten des Filterpapiers unter Verwerfung der ersten 10 ccm — über einer Wittschen Platte vorsichtig abgesaugt wurden. In aliquoten Teilen der vorher wie eben beschriebenen verdünnten Ausgangslösung und des Filtrates wurde nach Zusatz von 2 Tropfen Phenolphthalein mit $\frac{1}{10}$ -Barytlauge die Anfangskonzentration und die Gleichgewichtskonzentration nach dem Schütteln ermittelt. Daraus ließ sich die Adsorption x und aus der Trockensubstanz des angewendeten Hautpulvers die Werte von $\frac{x}{m}$ errechnen. Das unchromierte weiße Hautpulver, das wir gleichmäßig für alle Versuche verwendeten, entstammte der Versuchsanstalt in Freiberg in Sachsen und enthielt 13,45% Wasser und 0,23% Asche.

Es wurde zunächst die zur Einstellung der Gleichgewichte zwischen Hautpulver und Phenolaldehydlösung nötige Zeit er-

¹⁾ H. Pauly, K. Schübel, K. Lockemann, Annalen d. Chemie 383, 289. 1911.

mittelt. Dabei stellte sich heraus, daß unabhängig von den angewandten Konzentrationen die Gleichgewichte nach spätestens 1 Stunde¹⁾ erreicht waren und sich alsdann nicht mehr änderten.

Tabelle III.

Schüttelzeit in Minuten	100 ccm o-Vanillinlösung				Fehlergrenze für $c = 0,0006$ Milliläquivalente in ccm
	Anfangskonzentration $\gamma = 0,005$ n		Anfangskonzentration $\gamma = 0,00945$ n		
	Hautpulvertrockensubstanz in g	Gleichgewichtskonzentration $c =$	Hautpulvertrockensubstanz in g	Gleichgewichtskonzentration $c =$	
5			4,3225	0,00825	
15	4,3225	0,00435			
30	4,3225	0,00399	4,3225	0,00734	
60	4,3225	0,00384			
120	4,3225	0,00390	4,3225	0,00730	
240	4,3225	0,00384	4,3225	0,00730	

Tabelle IV.

Schütteldauer in Minuten	100 ccm o-Protocatechualdehydlösung Anfangskonzentration $\gamma = 0,005$ n		Fehlergrenze für $c = 0,0001$ Milliläquivalente in ccm
	Hautpulvertrockensubstanz in g	Gleichgewichtskonzentration $c =$	
5		0,00399	
15	4,3225	0,00349	
30	4,3225	0,00340	
60	4,3225	0,00335	
120	4,3225	0,00335	

Es wurde nun untersucht, ob die Reaktion zwischen Haut und den Phenolaldehyden in wässriger alkoholischer Lösung reversibel ist. Dabei ergaben sich gut definierte, von beiden Seiten erreichbare Gleichgewichte, so daß wir sicher sein konnten, daß irgendwelche störende Zersetzungen oder Nebenreaktionen nicht eingetreten waren. (Tabelle V u. VI.)

Die Methodik war die von H. Freundlich²⁾ für solche Zwecke angegebene. Eine bestimmte Menge Hautpulver wurde einmal mit 100 ccm einer bestimmten Anfangskonzentration 2 Stunden geschüttelt, alsdann die Gleichgewichtskonzentration I bestimmt. Eine zweite Probe wurde mit 50 ccm einer Lösung von genau der doppelten Konzentration 2 Stunden

¹⁾ Mit Phenol stellt sich das Gleichgewicht viel rascher ein; mit einer 0,01 n-Phenollösung ist die Reaktion schon in 5 Minuten beendet. R. O. Herzog, J. Adler, Kolloid-Zeitschr. 2, Suppl. II, S. 3. 1908.

²⁾ Zeitschr. f. physikal. Chemie 57, 386. 1907.

geschüttelt, diese Mischung alsdann mit 50 ccm Wasser verdünnt, und weiter geschüttelt. Die nach dieser Zeit ermittelte Gleichgewichtskonzentration II stimmte innerhalb der Fehlergrenze mit der Gleichgewichtskonzentration I überein.

Tabelle V.

Gelüster Stoff	Abgewogene Menge Hautpulver in g	Hauptpulver-trocken-substanz in g	Gleichgewichtskonzentration in Milliäquivalenten pro ccm = c	Fehlergrenze für c	Bemerkungen und Anfangskonzentrationen = γ in Milliäquivalenten pro ccm
o-Vanillin in 20 volumprozentiger alkoholischer Lösung	5	4,3225	0,00181	± 0,00009 Milliäquivalente pro ccm	Mit 100 ccm Lösung von $\gamma = 0,0025$ zwei Stunden geschüttelt
	5	4,3225	0,001905		Mit 50 ccm Lösung von $\gamma = 0,0050$ eine Stunde geschüttelt, dann mit 50 ccm 20 vol.-proz. Alkohol verdünnt und eine Stunde weitergeschüttelt
	5	4,3225	0,00384	0,00009 Milliäquivalente pro ccm	Mit 100 ccm Lösung von $\gamma = 0,005$ zwei Stunden geschüttelt
	5	4,3225	0,00381		Mit 50 ccm Lösung von $\gamma = 0,01$ eine Stunde geschüttelt, dann mit 50 ccm 20 vol.-proz. Alkohol verdünnt und eine Stunde weitergeschüttelt

Tabelle VI.

Gelüster Stoff	Abgewogene Menge Hautpulver in g	Hauptpulver-trocken-substanz in g	Gleichgewichtskonzentration in Milliäquivalenten pro ccm = c	Fehlergrenze für c	Bemerkungen und Anfangskonzentrationen = γ in Milliäquivalenten pro ccm
o-Protocatechualdehyd in 20 volumprozentiger alkoholischer Lösung	5	4,3225	0,00181	± 0,0001 Milliäquivalente pro ccm	Mit 100 ccm Lösung von $\gamma = 0,0025$ 2 Stunden geschüttelt
			0,00172		Mit 50 ccm Lösung von $\gamma = 0,005$ eine Stunde geschüttelt, mit 50 ccm 20 vol.-proz. Alkohol verdünnt, eine Stunde weitergeschüttelt
	5	4,3225	0,00335	± 0,0001 Milliäquivalente pro ccm	Mit 100 ccm Lösung von $\gamma = 0,005$ 2 Stunden geschüttelt
			0,00335		Mit 50 ccm Lösung von $\gamma = 0,012$ eine Stunde geschüttelt, mit 50 ccm 20 vol.-proz. Alkohol verdünnt, eine Stunde weitergeschüttelt

Nach diesen Vorarbeiten untersuchten wir die Beziehungen zwischen Gleichgewichtskonzentration und der durch 1 g Trockensubstanz adsorbierten Menge an Phenolaldehyden. Es ergab sich wie aus Tab. VII und VIII und Zeichnung 1 und 2 ersichtlich ist, nur in den niedrigsten Konzentrationsgebieten das Bild einer Adsorption.

Tabelle VII (siehe Abb. 1).

Mit 100 ccm o-Vanillinlösung 2 Stunden geschüttelt.

Angewandte Menge Hautpulver	γ = Anfangskonzentration in Milliäquivalenten	c = Gleichgewichtskonzentration in Milliäquivalenten	$\frac{x}{m}$ = die durch 1 g Hautsubstanz adsorbierte Menge in Milliäquivalenten
4,3225 g Trockensubstanz	0,0025	0,00181	0,01573
	0,00332	0,00241	0,01874
	0,0050	0,00384	0,02633
	0,00934	0,00730	0,04720
	0,0100	0,00796	0,04558
	0,01306	0,01045	0,06016
	0,03812	0,03346	0,1078
	0,07224	0,06728	0,1147

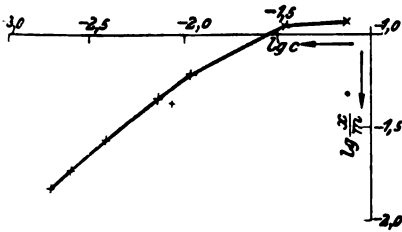


Abb. 1.

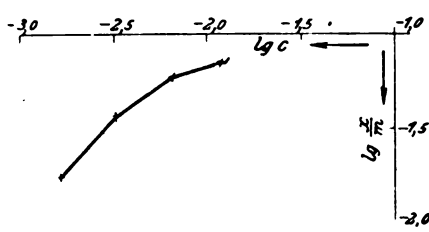


Abb. 2.

Tabelle VIII (siehe Abb. 2).

Mit 100 ccm o-Protocatechualdehydlösung 2 Stunden geschüttelt.

Angewandte Menge Hautpulver Trockensubstanz	γ = Anfangskonzentration in Milliäquivalenten	c = Gleichgewichtskonzentration in Milliäquivalenten	$\frac{x}{m}$ = die durch 1 g Hautsubstanz adsorbierte Menge in Milliäquivalenten
4,3225 g	0,0025	0,00172	0,001804
4,3225 g	0,0050	0,00335	0,03679
4,3225 g	0,00975	0,00697	0,06409
4,3225 g	0,01566	0,01252	0,07265

Die Stalagmone des Harns.

Von

H. Bechhold und L. Reiner.

(Aus dem Institut für Kolloidforschung zu Frankfurt a. M. [Direktor:
Prof. Dr. H. Bechhold].)

(Eingegangen am 16. Mai 1920.)

In Heft Nr. 4—6, Bd. 105 der biochemischen Zeitschrift berichtete Schemensky, daß bei gewissen Gruppen pathologischer Urine, (Infektionskrankheiten, insbes. Tuberkulose, Carcinom, Schwangerschaft, Icterus, Nephritiden, Pyelitiden) die Oberflächenspannung des Urins weit unter der Norm ist. Wir haben uns bemüht, diejenigen Stoffe aufzufinden, welche diese Änderung bedingen.

Aus Zweckmäßigkeitsgründen maß Schemensky nicht die Oberflächenspannung, sondern den „stalagmometrischen Quotienten“, der in enger Beziehung zur Oberflächenspannung steht. Die Messung erfolgte durch Bestimmung der Tropfenzahl eines aus dem Stalagmometer abtropfenden Urins. Der Quotient wird gebildet durch die Tropfenzahl des auf 1,010 spezifisches Gewicht verdünnten Urins, dividiert durch die Tropfenzahl derselben Flüssigkeit nach dem Schütteln mit Tierkohle (durch die Tierkohle werden die adsorbierbaren Stoffe, welche hauptsächlich für die Erniedrigung der Oberflächenspannung verantwortlich sind, entfernt). Während dieser Wert bei normalen Urinen, auch wenn sie stark sauer oder angesäuert sind¹⁾ 1,180 nicht überschreitet, fand Schemensky pathologische Urine mit einem stalagmometrischen Säurequotienten von 1,300 bis 1,400²⁾. Die gesuchten Stoffe bezeichnen wir als Stalagmone³⁾.

¹⁾ Der nicht angesäuerte Urin hat einen tieferen Quotienten.

²⁾ Von Schemensky werden bloß die Dezimalen der eigentlichen Quotienten angegeben. Wir geben in den Tabellen der Einfachheit halber die Tropfenzahl an, die mit 50 (Volumen unseres Stalagmometers) dividiert, annähernd der Quotient ist.

³⁾ Anfangs dachten wir, daß es ein bestimmter Stoff sei, der die Oberflächenspannung erniedrigt. Im Laufe der Untersuchungen (schon bei der Ultrafiltration) stellte es sich heraus, daß es offenbar mehrere Stoffe sind.

I. Analyse.

Das Prinzip unserer Untersuchung auf Stalagmone war folgendes: Wir bemühten uns, durch irgendeine physikalische Methode die Stalagmone aus dem Urin zu isolieren, bestimmten vor- und nachher die Oberflächenspannung des Urins aus der Tropfenzahl am Stalagmometer und schlossen aus der Änderung auf die mehr oder minder vollkommene Entfernung der Stalagmone¹⁾. Das Isolationsprodukt mußte dann die Stalagmone enthalten, und, dem Urin beigefügt, wieder annähernd den ursprünglichen Quotienten geben. Zunächst suchten wir durch Destillation mit Wasserdampf nach flüchtigen Stalagmonen. Wie aus Tabelle I ersichtlich, ist zwar die Oberflächenspannung des Rückstandes verändert (das mag durch Hydrolyse, vielleicht durch Konzentration des Urins bedingt sein), jedoch war die Oberflächenspannung des Destillats gleich der des destillierten Wassers.

Tabelle I.

Tropfenzahlen (umgekehrt proportional der Oberflächenspannung).
(Destilliertes Wasser gab 50,3 Tropfen).

Urin	Destillationsrückstand				Destillat	
	ohne Säure	mit Säure	ohne Säure	mit Säure	ohne Säure	mit Säure
1. Normal . . .	54,0	55,5	53,6	55,8	50,1	50,1
2. Nephritis . . .	56,0	64,8	56,2	61,2	50,4	50,6
3. Nephritis . . .	62,1	67,3	58,0	66,7	50,5	50,4

1. Kolloide und Semikolloide.

Die kolloiden und semikolloiden Stalagmone haben wir durch Ultrafiltration zu isolieren versucht. Die Orientierungsversuche mit dem Ostwaldschen Spontan-Ultrafilter deuteten auf eine hohe Dispersität der Stalagmone, da sie von ihm nicht zurückgehalten wurden. Wir setzten weitere Versuche mit dem Ultrafiltrationsapparat von Bechhold an und verwendeten das bezüg-

¹⁾ Allerdings war darauf zu achten, daß das Verfahren selbst eine Oberflächenspannungsänderung bedingen konnte. So war das Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln nicht durchführbar, da diese selbst die Oberflächenspannung wässriger Lösungen beeinflussen. Die Änderung der Oberflächenspannung des Urins nach dem Ausschütteln mit Äther oder Benzol konnte also kein Maß der Entfernung der Stalagmone sein. Sie wird vielmehr durch die Aufnahme des Lösungsmittels hervorgerufen.

lich seiner Durchlässigkeit wohldefinierte 7,5 proz. Eisessigkolloidumfilter. Dieses Filter hält Hämoglobin quantitativ zurück.

Es schien zweckmäßig, nach zwei verschiedenen Arten zu ultrafiltrieren: Einmal so, daß man den Urin vollständig, und ferner so, daß man nur einen Teil (z. B. die Hälfte oder ein Drittel) durch das Filter laufen ließ. Letzteres geschah, um bei starkem Einkonzentrieren auftretende irreversible Zustandsänderungen zu vermeiden¹⁾. Stets wurden Filtrat und Rückstand stalagmometrisch geprüft. Im ersten Falle — bei vollständiger Filtration — wurde der Rückstand in wenig physiologische Kochsalzlösung suspendiert.

Die Ergebnisse gaben keine einfache Antwort. Bei Versuchsordnung I fanden wir zwar eine Vergrößerung der Oberflächenspannung des Filtrates und eine geringe Verminderung der Oberflächenspannung der zur Aufschwemmung des Rückstandes benutzten Kochsalzlösung. Additivität war aber nicht vorhanden, d. h. die Summe der Oberflächenspannung von Filtrat und Rückstand ergab eine höhere Oberflächenspannung als der ursprüngliche Urin.

Bei Versuchsordnung II war die Oberflächenspannung des Filtrates wieder erhöht, und die des Rückstandes vermindert. Das Gemisch des Filtrates und des Rückstandes hatte auch diesmal eine höhere Oberflächenspannung wie der Urin selbst²⁾, indessen war die Differenz nicht so bedeutend wie bei Versuchsordnung I.

Tabelle II.

Tropfenzahl.

Urin	Rückstand Ultrafiltrat Teilfiltrat						Vollst. Filtrat
	ohne Säure	mit Säure	ohne Säure	mit Säure	ohne Säure	mit Säure	
1. Normal . . .	59,2	59,7	57,9	52,2 ³⁾	57,1	57,6	1/1
9. Normal . . .	59,9	63,1	55,2	64,4	53,0	60,9	1/3
10. Pyelitis . . .	52,7	58,2	54,1	62,1	52,6	59,5	1/3
11. Nephritis . .	55,1	66,5	59,8	66,8	55,4	56,8	1/1
12. Tuberkulose .	53,9	65,2	56,2	68,7	54,3	64,7	1/1
13. Tuberkulose .	52,8	61,0	52,4	61,7	51,7	51,9	1/1

¹⁾ Es wurden auch Ultrafiltrationen bei verschiedenem H⁺- und OH⁻-Gehalt durchgeführt, diese gaben aber keine abweichenden Resultate.

²⁾ Zuweilen lag eine merkliche Fehlerquelle darin, daß sich bei der sehr langsamen Filtration Bakterien ansammelten. Wir mußten von der Sterilisation absehen, um den Urin möglichst nicht zu verändern.

³⁾ Die Suspension geschah in 1/9 des ursprünglichen Volums.

Es ist zwar noch hervorzuheben, daß die Oberflächenspannungsänderung des Filtrerrückstandes nicht nur nicht gleich der des Filtrates war, sondern auch das Verhältnis dieser beiden Änderungen bei verschiedenen Urinen nicht dasselbe ist. Man kann also nicht sagen, daß ein bestimmter Bruchteil der Stalagmone im Rückstande und ein bestimmter Bruchteil im Filtrate ist. Vielmehr ist die Verteilung der Stalagmone für die betreffenden Krankheitsfälle charakteristisch. Betrachten wir einen Pyelitis- oder Nephritisurin — 10 und 11 der Tabelle II — dann finden wir eine beträchtliche Verminderung der Oberflächenspannung des Rückstandes gegenüber einer geringen Vergrößerung der Oberflächenspannung des Filtrates. Bei Normalurin oder Tuberkulose — 9 und 13 — finden wir eine kleine Verminderung der Oberflächenspannung des Rückstandes gegenüber einer starken Vergrößerung der des Filtrates. Man darf daraus schließen, daß die überwiegend wirksamen Stalagmone in verschiedenen Fällen nicht identisch sind, d. h., daß die Stalagmone kein einheitlicher Körper, sondern eine Mehrzahl von Stoffen sind.

Die Ergebnisse der Ultrafiltration sind folgendermaßen zu erklären:

a) Das Fehlen der Additivität der beiden Fraktionen Rückstand und Filtrat könnte durch die Adsorption in dem Filter bedingt sein. Es können aber auch Zustandsänderungen des Kolloids bzw. Semikolloids während der Ultrafiltration eintreten. Die unvollständige Löslichkeit des Ultrafiltrerrückstandes bei Versuchsanordnung I spricht für das letztere.

b) Der Umstand, daß sowohl der Rückstand wie auch das Filtrat eine Änderung der Oberflächenspannung zeigen, beweist, daß es verschiedene Stalagmone gibt, welche Körper von verschiedener Dispersität sind. Ein im allgemeinen geringer, nur bei eiweißhaltigen Urinen erheblicher Teil der Stalagmone (der vom Filter zurückgehaltene Teil) ist den Eiweißstoffen ähnlich dispergiert. Der Hauptteil ist feiner dispergiert (der vom Filter adsorbierte oder durchgelassene Teil).

Nach diesen Versuchen ist es jedoch nicht auszuschließen, daß eine Dispersitätsänderung des Kolloids während der Filtration auftritt.

2. Das Verhalten bei höherer Temperatur und bei Konzentration des Urins.

Normale und pathologische Urine wurden auf dem Wasserbade eingedampft und im ursprünglichem Volumen Wasser wieder

aufgelöst. Damit wollten wir feststellen, ob die Konzentration des Kolloids bei höherer Temperatur eine irreversible Dispersitätsänderung hervorruft. Wie zu erwarten, war dies nur bei eiweißhaltigen Urinen in geringem Maße der Fall. In solchen Fällen war auch der Trockenrückstand nicht vollkommen löslich.

3. Trennungsversuche durch Adsorption.

Wie wir schon erwähnten, fand Schemensky eine Steigerung der Oberflächenaktivität des Urins bei Erhöhung der H⁺-Konzentration. Daher vermuteten wir eine auswählende Adsorptionsfähigkeit durch Adsorbentien mit ausgesprochenem elektrochemischem Charakter. Wir verwendeten das elektro-negative Osmosil¹⁾ (kolloide Kieselsäure) und das elektropositive Eisenoxydgel. Unsere Versuchsbedingungen waren solche, bei welchen Tierkohle die Stalagmone aus dem Urin entfernt (10—20 minutenlanges Schütteln mit 5—10proz. Aufschwemmung).

Tabelle III.

Urin	Nach dem Schütteln mit					
	ohne Säure	mit Säure	Eisenoxydgel ohne Säure	Eisenoxydgel mit Säure	Osmosil-Kieselsäure ohne Säure	Osmosil-Kieselsäure mit Säure
1. Normal	55,1	61,8	54,2	62,9	54,6	63,2
2. Normal	55,0	69,2	55,1	68,6	54,9	69,9

Tabelle III zeigt, daß nach diesem Verfahren keine merkliche Änderung der Oberflächenspannung des Urins zu bemerken war. Man konnte daraus jedoch nicht auf die Elektroneutralität der Stalagmone schließen, da eine deutliche Schutzwirkung derselben gegenüber Eisenoxydgel festzustellen war. Man konnte nämlich das mit Urin geschüttelte Eisenoxyd nach dem Schütteln nicht mehr durch ein gewöhnliches Filter — in diesem Falle war nur ein solches verwendbar — trennen. Eisenoxyd lief durch das Filter; das Filtrat war deutlich rot gefärbt. Dieser Umstand spricht für einen teilweise sauren Charakter der Stalagmone.

Dasselbe ergibt sich aus Versuchen, die durch Tierkohle adsorbierten Stalagmone mit HCl oder NaOH wieder loszulösen. Mit HCl gelang es überhaupt nicht, mit NaOH nur teilweise.

¹⁾ Osmosil wurde uns von der Osmose-Gesellschaft (Berlin) zur Verfügung gestellt.

Zusammenfassung.

1. Die Stalagmone sind nicht flüchtige oberflächenaktive Stoffe.

2. Sie sind Kolloide bzw. Semikolloide, da sie von 7,5 proz. Eisessigkollodiumfilter teilweise zurückgehalten, teilweise durchgelassen werden und gut adsorbierbar sind.

3. Sie sind ziemlich stabile Kolloide (kochbeständig).

4. Sie besitzen vermutlich amphoteren oder sauren Charakter.

II. Synthese.

Durch die oben angegebenen Methoden sind wir zu einer Isolierung derjenigen Stoffgruppen gelangt, welche uns Hinweise boten, in welcher Richtung die Stalagmone zu suchen sind.

Die heutige Kolloidchemie bietet noch nicht die Möglichkeit, die einzelnen Substanzen zu isolieren, um sie, ähnlich wie die organische Chemie, nach ihrem chemischen Aufbau zu definieren. Wir waren also darauf angewiesen, bekannte Bestandteile der normalen und pathologischen Urine zu kombinieren und zu prüfen, ob auf diese Weise Lösungen zu erhalten sind, welche sich ähnlich wie die eingangs erwähnten pathologischen Urine verhalten.

Schemensky fand bisher eine erhebliche Erhöhung des stalagmometrischen Quotienten bei Nierenentzündungen, Schwangerschaft, Carcinom, gewissen Stadien der Tuberkulose, auch bei akuten Infektionskrankheiten und mit Ikterus verlaufenden Krankheiten.

Es ist naheliegend, daran zu denken, daß die in diesen Fällen auftretenden bekannten pathologischen Harnbestandteile die Oberflächenspannung erniedrigen. Unter diesen kämen insbesondere Eiweißstoffe und Gallenbestandteile in Betracht. In der Tat sind auf Grund der Ultrafiltrationsversuche Eiweißkörper im Urin (Cystitis, Pyelitis) als Stalagmone anzusprechen. Gleiches gilt für Gallenbestandteile (Ikterus). Die meisten Fälle, in welchen hohe stalagmometrische Quotienten gefunden wurden, enthalten aber kein Eiweiß und auch wahrscheinlich Gallenbestandteile nur in sehr geringem Maße. Das sind dieselben pathologisch nicht zusammengehörigen Krankheiten, bei welchen Salomon und Saxl¹⁾, Fall und Hesky²⁾, Weiss³⁾ hauptsächlich das vermehrte Auftreten unvollständiger Eiweißbauprodukte — insbesondere polypeptidartige Körper wie Oxyproteinsäuren — beobachten konnten. Auch erscheint oft

¹⁾ Salomon und Saxl, Beiträge zur Krebsforschung 1910, Heft 2; Med. Klin. 1910, S. 510.

²⁾ Fall und Hesky, Zeitschr. f. klin. Med. 71, 971. 1910.

³⁾ Weiss, diese Zeitschr. 27, 201. 1910.

Urobilin — als Folge sekundärer Leberalteration nach Hesky — im Urin. Die physikalischen Eigenschaften dieser Substanzen stimmen mit denen weitgehend überein, welche nach unseren Untersuchungen den Stalagmonen eigen sein müssen.

Noch eine Erscheinung führte uns auf denselben Weg. Die pathologischen Urine mit hohen stalagmometrischen Quotienten sind meistens (Ausnahmen: z. B. Pyelitis und Cystitis) mehr oder weniger dunkelbraun gefärbt. Diese Färbung wird von erhöhtem Urochromgehalt verursacht.

Um den Zusammenhang des Urochromgehalts mit der Oberflächenspannung des Urins zu untersuchen, haben wir angestrebt, Urinverdünnungen von möglichst gleichem Urochromgehalt zu erhalten. Wir stellen die Verdünnungen colorimetrisch in gleich weiten Reagensgläsern fest. Wegen des Unterschiedes im Farbenton waren die Einstellungen mit Fehlern behaftet. Trotzdem konnte man in den meisten Fällen Parallelismus, jedoch keine strenge Proportionalität zwischen Färbung und Oberflächenspannungsänderung des Urins feststellen. Ausnahme bildeten auch hier Cystitis- und Pyelitisurine.

Diese Ausnahme bedeutet wahrscheinlich auch in diesem Falle ein verhältnismäßiges Überwiegen gewisser Stalagmone gegenüber solchen, die in anderen abnormen Zuständen wie Schwangerschaft, Carcinom und gewissen Stadien der Infektionskrankheiten vorkommen.

Tabelle IV.

Urin	ohne Säure	Tropfenzahl mit Säure	Verdünnung
I. Vergleich-Urin	54,7	59,4	0
Tuberkulose	56,7	64,0	1 : 4
Tuberkulose	57,6	64,3	1 : 9
II. Vergleich-Urin	53,6	61,9	0
Nephritis	52,4	62,9	1 : 2,5
Schwangerschaft	55,0	63,2	1 : 11
Pyelo-Nephritis	53,0	57,7	1 : 5

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß Urochrom keine wesentliche Komponente der Stalagmone sein kann. Jedoch scheint es, daß die Stalagmone in einer gewissen Beziehung zu Urochrom stehen. (Die zur Zeit herrschende Theorie der Urochrombildung führte uns wieder zu Eiweißabbauprodukten, insbesondere zur Oxyproteinsäure.)

Es war also angezeigt, solche Eiweißabbauprodukte, welche den Stalagmonen entsprechende physikalische Eigenschaften besitzen, auf ihre Oberflächenaktivität zu untersuchen. Schemensky fand eine starke Wirksamkeit der Peptone und Albumosen. Er untersuchte physiologische Kochsalzlösungen, in denen die Konzentration der Albumosen beziehungsweise Peptone gleich war der maximalen Konzentration dieser Stoffe in pathologischen Urinen. Die Oberflächenspannungen dieser Lösungen waren stark erniedrigt, erreichten aber nicht den dem pathologischen Urine entsprechenden tiefen Wert. Sie sind also nicht die einzigen Stalagmone.

Wir untersuchten auf ähnliche Weise die Oxyproteinsäuren bzw. die von Ginsberg als Barytfraction benannten Bestandteile des Urins. Die Barytfraction enthält außer sämtlichen Oxyproteinsäuren noch einen „peptidartigen Rest“. Sie besteht aus wasserlöslichen und alkoholunlöslichen Bariumsalzen gewisser polypeptidartiger Säuren, die aus dieser Barytfraction durch Fällung mit Schwermetallsäure (Blei-Quecksilberacetat) zu trennen sind. Wir isolierten die Barytfraction nach der von Ginsberg¹⁾ angegebenen Methode und berechneten die den pathologischen Urinen entsprechende Maximalkonzentration aus Analysen von Salomon¹⁾, Falk und Hesky²⁾ und Weiss). Sie beträgt ca. 1%. Die Tropfenzahlen solcher Lösungen sowohl mit physiologischer Kochsalzlösung wie auch mit Normalurin als Lösungsmittel befinden sich in Tabelle V.

Tabelle V.

	ohne Säure	Tropfenzahl mit Säure	Verdünnung
I. In Wasser . . .		66,5	4%
		58,5	2%
		54,0	1%
		51,6	0,5%
II. In Wasser . . .	54,0	57,5	1%
III. In Wasser . . .	54,6	60,0	1%
IV. In Urin		72,6	4%
		62,7	2%
		56,5	1%
		53,0	0,5%

¹⁾ Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 10. 1907.

²⁾ loc. cit.

Wir sehen, daß die Barytfraktion eine erhebliche Erniedrigung der Oberflächenspannung hervorruft. Barytfraktionlösungen haben aber auch keine so tiefen Oberflächenspannungswerte wie einzelne pathologische Urine.

Aus dem Bisherigen geht hervor, daß hauptsächlich Eiweißabbauprodukte, also Stalagmone zu betrachten sind. Es war jedoch noch zu entscheiden, ob sich die Wirkung der Stalagmone in Urinen mit sehr geringer Oberflächenspannung einfach summiert oder durch andere indifferente Stoffe verstärkt.

Um diese Frage zu entscheiden, setzten wir zu einer 1 proz. Peptonlösung und 1 proz. Barytfractionslösung normale Harnbestandteile, ungefähr in dem Verhältnis, in welchem sie im normalen Urin vorkommen. Wir fanden eine 10—15 proz. Erniedrigung der Oberflächenspannung nach Zusatz von 4 Salzen. Es wurde auch noch die gegenseitige Wirkung der Barytfractions- und Peptonlösungen aufeinander untersucht. Bei einer Konzentration von 0,5% ist die Oberflächenspannung additiv; bei der Verwendung 1 proz. Lösung entspricht sie der Additivität nicht mehr, sie liegt höher.

Tabelle VI.

Zusatz	1 proz. Peptonlösung		1 proz. Barytfractionslösung	
	ohne Säure	mit Säure	ohne Säure	mit Säure
1% NaCl	59,0	59,0	54,6	60,0
2% Harnstoff	59,6	59,6	54,3	60,1
0,5% Na ₂ HPO ₄	58,3	59,7	55,8	61,4
0,02% CaCl ₂	58,9	61,6	57,7	61,3
	ohne Säure		mit Säure	
0,5% Oxyproteinsäure und 0,5% Pepton	60,9	60,9		
1% Oxyproteinsäure und 1% Pepton	59,6	64,1		

Die Werte in Tabelle VI zeigen keine Quotienten, die den höchsten der pathologischen Urine entsprechen würden. Dies war aber bei Kombinationen zweier Stalagmone auch nicht zu erwarten. Es war jedoch nicht möglich, sämtliche Eiweißabbauprodukte zu untersuchen, da die in Betracht kommenden hochmolekularen schwer oder gar nicht zu isolieren sind. Besonders trifft das bei der Polypeptidgruppe zu. Wir wollten mit diesen

Versuchen nur zeigen, daß durch Kombination der von uns als Stalagmone erkannten Stoffe miteinander und insbesondere bei Gegenwart von Salzen solche Lösungen herstellbar sind, deren Oberflächenspannungen sich den niederen Werten der pathologischen Urine nähern¹⁾.

Zusammenfassung.

I.

1. Als Stalagmone bezeichnen wir die für gewisse Krankheitsgruppen (Tuberkulose, Schwangerschaft, Carcinom, Nephritis, Ikterus, Pyelitis, schwere Infektionen) charakteristischen Stoffe im Urin, welche dessen Oberflächenspannung erniedrigen.

2. Ultrafiltrationsversuche zeigten, daß es Kolloide, besonders aber Semikolloide sind, und daß sie nicht einem bestimmten Dispersitätsgrade angehören.

3. Sie sind bezüglich ihrer Dispersität sehr stabil.

II.

1. Bei verschiedenen Krankheiten sind verschiedene Stalagmone oder Stalagmongruppen wirksam.

2. Bei Eiweißausscheidungen ist Eiweiß ein wesentlicher Faktor. Bei ikterischen Urinen scheinen Gallenbestandteile wirksam zu sein¹⁾.

3. In den meisten bis jetzt untersuchten Fälle geht die Oberflächenspannungserniedrigung einigermaßen parallel mit der Färbung des Urins.

4. Die Erniedrigung der Oberflächenspannung wird jedoch nicht von Urochrom, sondern von anderen Eiweißschlacken wie Albumosen, Peptonen, Oxyproteinsäuren verursacht.

5. Es zeigt sich, daß in allen den Fällen, welche durch den stalagmometrischen Quotienten als pathologische charakterisiert waren, Weiss, Salomon, Falk und Hesky das vermehrte Auftreten von Eiweißschlacken (insbesondere Oxyproteinsäure) nachgewiesen hatten.

¹⁾ Es gelang uns neuerdings aus, stark eingeeengten mit verd. HCl digerierten Urinen durch Ausschütteln mit Äther geringe Mengen (0,5–2⁰/₀₀) sehr stark oberflächenaktive Substanzen zu isolieren. Sie sind amphoter, lösen sich nicht im Wasser, jedoch leicht in NaOH. — Sie spielen in ikterischen Fällen eine große Rolle.

5. Die Oberflächenaktivität dieser Stoffe wurde nachgeprüft. Es zeigt sich bei einer 1 proz. Lösung der sogen. Barytfraktion oder von Pepton je eine Tropfenzahl von 60—61, die einem Säurequotienten von 200 nach Schemensky ungefähr entspricht¹⁾.

6. Normalurinbestandteile erhöhen die Wirksamkeit der Stalagmone (um 10—15%). Es ist somit anzunehmen, daß die Stalagmone als pathologische Eiweißabbauprodukte (Eiweißschlacken) anzusehen sind, deren oberflächenaktive Wirkung von Fall zu Fall durch akzessorische Bestandteile (Eiweiß, Gallenbestandteile und vielleicht noch andere nicht bekannte Stoffe) erhöht wird.

¹⁾ Die von uns neuerdings gewonnene „Ätherfraktion“ zeigt bereits in 0,5‰-Lösung einen Säurequotienten von 160—180.

Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I.

Von

Julius Stoklasa.

(Unter Mitwirkung von **J. Šebor, V. Zdobnický, E. Napravitl und J. Hromádko.**)

(Aus der chem.-physiol. Versuchsstation an der böhm.-techn. Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 15. April 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die ersten Untersuchungen über pflanzliche Radioaktivität sind im Jahre 1904 von Tommasina¹⁾ und Paul Becquerel²⁾ im Jahre 1905 ausgeführt worden.

Tommasina konnte feststellen, daß frisch gepflückte Pflanzen, wie Gräser, Früchte, Blumen und Blätter schon eine ziemlich bedeutende Radioaktivität besaßen; und fernerhin, daß die Objekte im Laboratorium, sowie dieselben Pflanzen, die ausgetrocknet waren, nur minimale Spuren davon zeigten. Es wäre also eine gewisse Radioaktivität vorhanden. Tommasina hat kein genaues Maß für diese Radioaktivität angegeben.

Die Angaben Tommasinas wurden von Tarchanoff und Moldenhauer³⁾ bestätigt. Becquerel, Camillo Acqua, Thomas und Lancien war es dagegen nicht möglich, mit der gebabten Apparatur zu beweisen, daß in dem Pflanzenorganismus tatsächlich eine Bioradioaktivität existiert.

Thomas und Lancien erzielten dieselben Resultate wie Becquerel, welcher den Beweis geliefert hat, daß bei Tommasinas Untersuchungen unbedingt ein Versuchsfehler unterlaufen sein muß, welcher ihn zu der Anschauung brachte, daß die Pflanzen eine besondere Radioaktivität besitzen.

¹⁾ Tommasina, Compt. rend. de l'Acad. des Sc., Paris, 7. XI. 1904. Siehe auch Paul Becquerels Arbeit: Die Radioaktivität und die Pflanzenbiologie, in dem Handbuch der Radium-Biologie und Therapie von Paul Lazarus. Verlag von J. F. Bergmann, Wiesbaden 1913.

²⁾ Paul Becquerel, Compt. rend. de l'Acad. des Sc., Paris, 2. I. 1905.

³⁾ Tarchanoff und Moldenhauer, Intern. akadem. Blatt 1905, S. 728—734.

Die Folgerungen, zu welchen die vorerwähnten Forscher gekommen sind, daß keine pflanzliche Bioradioaktivität existiert, kann ich nicht teilen, ebensowenig die Anschauungen, daß, wenn die Pflanzen eine äußerst schwache Radioaktivität zeigen, diese keinerlei Beziehung zu ihrem Leben hat, und sie an Intensität nicht die gewöhnliche des Erdbodens und der Atmosphäre überschreiten muß.

Seit der Entdeckung des Radiums und der energischen Wirkung seiner Strahlen haben wir uns bemüht, die organischen und funktionellen Veränderungen der pflanzlichen und tierischen Organismen unter dem Einfluß der Radiumemanation zu studieren. Die von uns gewonnenen Beobachtungsergebnisse habe ich schon in meiner Festrede auf dem VI. Internationalen Kongreß für allg. u. ärztl. Elektrologie u. Radiologie in Prag im Jahre 1912 im kurzen skizziert (siehe Berichte des Kongresses).

Aus unseren Versuchen geht deutlich hervor, daß in gewissen Fällen eine Bioradioaktivität in dem Pflanzenorganismus vorhanden ist. Durch exakte Messungen wurde gefunden, daß die Pflanzen, welche mit radioaktivem Wasser begossen wurden, stets eine deutliche Radioaktivität aufwiesen. Aber auch die Pflanzen, welche im Freien wuchsen, waren radioaktiv.

Wir haben namentlich während der Blutungsperiode im Monate März den Gehalt des Blutungssaftes an Mineralstoffen und die Radioaktivität der *Betula alba* und *Acer platanoides* studiert.

Gemäß unserer Analysen befand sich in 1 l des Blutungssaftes von *Betula alba*:

durchschnittlich	9,326 g Trockensubstanz
Diese Substanz enthielt	0,58 g Reinasche,
was in Prozenten ausgedrückt	6,2 ergibt.

In 1 l des Blutungssaftes waren vorhanden:

SiO_2	0,002 g
SO_3	0,028 g
P_2O_5	0,065 g
Cl	0,005 g
Fe_2O_3	0,001 g
Al_2O_3	0,015 g
Mn_2O_3	Spuren
CaO	0,111 g
MgO	0,016 g
K_2O	0,249 g
Na_2O	0,080 g
	<hr/>
	0,572 g.

In der Gesamtreinasche sind 43% Kaliumoxyd zugegen.

Was die Radioaktivität anbelangt, so wurde gefunden: Im Blutungssaft von *Betula alba* pro Liter $5,24 \cdot 10^{-12}$, ferner $6,69 \cdot 10^{-12}$, $9,36 \cdot 10^{-12}$.

Der Blutungssaft von *Acer platanoides* weist in 11 10,84 g Trockensubstanz auf, welche Substanz 0,9793 g Reinasche enthält. 11 dieses Blutungssaftes besaß eine Radioaktivität von $4,62 \cdot 10^{-12}$, $4,37 \cdot 10^{-12}$, $5,75 \cdot 10^{-12}$.

Diese Zahlen wurden bei *Betula alba* und *Acer platanoides* während 5jähriger Beobachtung gewonnen und zwar in den Jahren 1913—1918. Wie daraus erhellt, zeichnet sich der Blutungssaft durch eine deutliche Radioaktivität aus, welche davon abhängt, auf welchem Gestein sich die Bäume entwickelt haben.

Wenn sich das Wurzelsystem der Bäume in Verwitterungsprodukten, evtl. in einem Gestein verbreitet, welches reich an Aktivität ist, und deren Aktivität auf ihre akzessorischen Beimengungen von gewissen radium- und thoriumhaltigen Mineralien, oder Trümmern derselben beruht, so enthält auch der Blutungssaft eine reichliche Aktivität.

In der Natur kommen Eruptivgesteine vor, die sich durch einen hohen Radium- und Thoriumgehalt auszeichnen. Auf solchen Gesteinen entwickelt sich eine Vegetation, die stets radioaktiv ist. Auch die Pflanzen, welche mit radioaktiven Wässern in der Natur fortwährend in Berührung kommen, sind radioaktiv. Am deutlichsten ist das in der Brambacher Gegend zu finden, wo die Bachwässer 6—10 ME. enthalten. Wir konnten bei den in diesen Wässern sich entwickelnden Wasserpflanzen stets eine Radioaktivität nachweisen. Bei den Pflanzen von der sich in der Nähe der Uran- und Radiumfabrik in St. Joachimsthal entwickelnden Vegetation konnte ebenfalls eine Bioradioaktivität konstatiert werden. Die angegriffenen Pflanzen, und zwar *Brassica napus rapifera*, *Raphanus sativus*, *Apium graveolens*, *Daucus carota*, *Symphoricarpus racemosus*, *Lonicera Caprifolium*, *Robinia pseudacacia*, *Caragana arborescens* usw. in der Nähe der Radium- und Uranfabrik, waren alle radioaktiv. Nicht nur ich, sondern auch Herr Kollege Universitätsprofessor Dr. Štěrba - Böh m, konnte in den Pflanzen, die während der ganzen Vegetation mit radioaktivem Wasser

begossen wurden, eine deutliche Radioaktivität nachweisen. Es war das namentlich bei *Beta vulgaris*, *Solanum somniferum* und *Lupinus angustifolius* der Fall.

Über die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums auf die Entwicklung des Pflanzenorganismus.

Bei unseren Versuchen über den Einfluß der Radioaktivität¹⁾ auf die Mechanik des Stoff- und Gasaustausches, sowie überhaupt der ganze Bau- und Betriebsstoffwechsel der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle²⁾ haben wir gefunden, daß bei den kalireichen Pflanzen die Radioaktivität einen speziell schädlichen Einfluß ausgeübt hat, den wir weiter verfolgen. Wenn man die kinetische Energie der β -Strahlen des Kaliums mit der kinetischen Energie der β -Strahlen des Radiums und mit der der α -Strahlen des Urans vergleicht, findet man, daß das Durchdringungsvermögen der Strahlen des Kaliums viel größer ist als bei Radium. Interessant war weiter die Beobachtung von Strutt, indem er einen merklichen Heliumgehalt in den Staßfurter Kalisalzen gefunden hat und zwar in Sylvin KCl in 100 g 0,55 ccm Helium, in Karnallit $\text{KMgCl}_3 + 6 \text{H}_2\text{O}$ in 100 g 0,151 ccm Helium.

Über die Bedeutung des Kaliums in der tierischen Zelle hat H. Zwaardemaker in Utrecht mit seinen Mitarbeitern P. Feenstra, Benjamins, de Lind van Wyngaarden, Lely usw. Versuche ausgeführt, zuerst die Resultate derselben in holländischer Sprache publiziert und hierauf ein zusammenfassendes Referat in Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie im Jahre 1918 veröffentlicht.

Zwaardemaker³⁾ kommt bei seinen Untersuchungen, die er bloß an tierischem Organismus ausgeführt hat, zu ganz neuen Entdeckungen:

In manchen Geweben ist Kalium, wie er gefunden hat, ein für die Funktion unentbehrliches Element. Es kann in diesen Fällen ersetzt werden durch alle anderen Elemente, die mit dem Kalium die Eigenschaft der Radioaktivität gemeinsam haben. Die Vertretung geschieht in nahezu äquiradioaktiven Mengen nach totaler Radioaktivität berechnet; statt eines radioaktiven Elementes kann eine von außen eingeführte Strahlung treten.

¹⁾ J. Stoklasa, Compt. rend. hebd. des séances de l'Acad. des Sc. T. 155, No. 22; ferner l. c. 156, No. 2.

²⁾ J. Stoklasa, J. Šebor et V. Zdobnický, Compt. rend. hebd. des séances de l'Acad. des Sc. 156. No. 8, S. 24. 1913. — Julius Stoklasa, Chem.-Ztg. Cöthen 1912, Nr. 142, S. 1382; 1914, Nr. 79, S. 841. Julius Stoklasa, Strahlentherapie Bd. IV, Heft 1. 1914.

³⁾ Zwaardemaker, Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. 173. 1918.

Es ist, was die jetzt vorliegenden Verhältnisse anbetrifft, gleichgültig, ob die Strahlung einen α - oder einen β -Charakter besitzt. Wenn gleichzeitig anwesend, sind die α - und die β -Strahlen, biologisch betrachtet, Antagonisten. Sowohl bei vollständiger Abwesenheit der Radioelemente als bei genauer gegenseitiger Aufwägung derselben verschwindet die Funktion. Sie kehrt zurück, wenn eine der beiden Strahlungsarten neu hinzugesetzt wird; ob durch materielle Strahler, ob durch Strahlungen ist gleichgültig. Der Nullpunkt und die Reihe der Gleichgewichtspunkte bilden eine Kurve mit charakteristischer Gestalt. Der Sommer verringert das Bedürfnis mancher Gewebe an Radioelement in der Zirkulationsflüssigkeit. Es ist gleichgültig, ob das Radioelement, das zur Vertretung des Kaliums eingesetzt wird, in Ionenform anwesend ist, oder in einem kolloidalen Komplex.

Die ersten Versuche, die wir ausgeführt haben, beziehen sich auf die Keimfähigkeit der Samen.

A. Über den Einfluß der Radioaktivität des Kaliums auf die Keimfähigkeit der Samen.

Es ist gewiß von großem Interesse zunächst zu erfahren, wie die natürliche und künstliche Radioaktivität, die aus Radium entstanden ist, sowie die Radioaktivität des Kaliums auf die Wachstumsbeschleunigung der verschiedenartigen Pflanzen wirkt. Es wurden zuerst von uns Versuche über die Wirkung der natürlichen und künstlichen Radioaktivität auf den Keimungsprozeß der verschiedenen Pflanzensamen vorgenommen. Unsere Keimungsversuche wurden mit Samen von *Triticum vulgare*, *Hordeum distichum*, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Lupinus angustifolius*, *Trifolium pratense* und *Pisum arvense* mit natürlichem radioaktivem Wasser an Ort und Stelle in St. Joachimsthal und mit Brambacher und Franzensbader Mineralwasser ausgeführt. Das Mineralwasser von Brambach wurde, weil sich Brambach ganz in der Nähe von Franzensbad befindet, stets an demselben Tage, wie es der Quelle entnommen wurde, nach Franzensbad transportiert und gleich nach Erhalt noch am selben Tage zum Versuche benützt.

Weiter wurden Keimungsversuche ausgeführt mit demselben Grubenwasser von St. Joachimsthal, und Mineralwasser von Franzensbad und Brambach, jedoch wurden die Wässer radioaktivfrei gemacht. Dies geschah auf diese Weise, daß das Wasser bis auf 37°C erwärmt und die Luft durch das Wasser stark durchgeleitet wurde, bis die Radioaktivität vollständig entwichen ist.

Dann wurden Versuche mit künstlicher Radioaktivität vorgenommen, indem das Grubenwasser von St. Joachimsthal, so-

wie das Mineralwasser von Franzensbad und Brambach von der natürlichen Radioaktivität befreit wurde und zu diesem Wasser künstliche Radioaktivität, welche aus Radiumchlorid erzeugt wurde, zugeleitet worden ist.

Eine andere Serie der Versuche wurde in der Weise ausgeführt, daß die radioaktiven Grubenwässer von St. Joachimsthal und Mineralwässer von Franzensbad und Brambach radioaktivfrei gemacht wurden und pro 1 l 5 g Kaliumchlorid zugesetzt wurden.

Die von den vorerwähnten Pflanzen ganz frischen unverletzten keimfähigen Samen wurden in großen Mengen gesammelt, ein Durchschnittsmuster davon genommen, die Keimfähigkeit genau bestimmt, sowie das Gewicht der Trockensubstanz ermittelt. Ferner wurde das Gewicht von 100 Samen auf Trockensubstanz berechnet, festgestellt. Die Keimversuche wurden immer mit 100 Samen der gleichen Pflanzenart von fast gleichem Gewicht vorgenommen, und zwar entfielen auf 100 g Trockensubstanz der Samen pro 12 Stunden, 30 Macheeinheiten = $12\,030 \cdot 10^{-12}$ = 0,000 012 mg Ra der natürlichen oder künstlichen radioaktiven Emanation. Die Prozedur dauerte 144 Stunden, während welcher Zeit auf 100 g Trockensubstanz der Samen 360 ME = $144\,360 \cdot 10^{-12}$ = 0,000 144 mg Ra wirkten. In einigen Fällen war der Keimungsprozeß entweder nach 48 oder 72 Stunden vollendet.

Vor dem Studium des Einflusses der Radiumemanation auf den Keimungsprozeß wurden die Samen maceriert, 100 Samen wurden in sterilisierten cylindrischen Gefäßen, welche einen Durchmesser von 12 cm und eine Höhe von 25 cm besaßen, 2 Stunden entweder in gewöhnlichem Wasser oder in natürlichen radioaktivem, oder künstlich radioaktivem Wasser, oder in kaliumchloridhaltigem Wasser maceriert. Das Wasser wurde nach 12 Stunden stets erneuert. Die Gefäße wurden während der Macerierung mit sterilisierter Watte verstopft.

Zur Ermittlung der Keimfähigkeit und der Keimungsenergie unter Einwirkung des gewöhnlichen Wassers, oder des natürlichen, oder künstlich radioaktiven Wassers wurden sterilisierte cylindrische Gefäße benutzt von 7,5 cm Durchmesser und 22 cm Höhe. Es wurde so viel Wasser angewendet, daß die Samen bis zu ihrer Oberfläche im Wasser eingetaucht waren, und daß die Luft vollen Zutritt hatte. In jedem Gefäß befanden sich bloß so viele Samen,

daß nur der Boden des Cylinders bedeckt war, so daß die Samen niemals aufeinander zu liegen kamen. Nach 12 Stunden wurde entweder das gewöhnliche Wasser oder das natürlich oder künstlich radioaktive oder kaliumchloridhaltige Wasser erneuert. Die kleinen cylindrischen Gefäße wurden ebenfalls mit sterilisierter Watte verstopft.

Zum Studium des Einflusses der Radioaktivität auf die Keimfähigkeit und Keimungsenergie der Samen wurde folgendes Wasser benutzt. Vom Wernerschachte pro 1 l mit 250—400 Macheeinheiten, vom Danielistollen mit 460—640 Macheeinheiten und vom Barbarastollen mit 165—342 Macheeinheiten. In den Wässern wurden bevor sie zur Untersuchung benutzt wurden, die Emanation gemessen und die zum Versuche nötigen Quantitäten Wasser abpipetiert. Das Wasser von Brambach hatte pro 1 l eine Radioaktivität von 860—1286 Macheeinheiten.

Was die Radioaktivität und chemische Zusammensetzung der radioaktiven Grubenwässer von St. Joachimsthal und der Mineralquellen von Franzensbad und Brambach anbelangt, sei folgendes bemerkt.

I. Radioaktives Wasser aus dem Danielistollen in St. Joachimsthal.

Auf Grund unserer Untersuchungen an Ort und Stelle weisen diese Grubenwässer eine Radioaktivität von 460—640 Macheeinheiten bei einer Temperatur von 12° C auf. Die Restaktivität beträgt 0,047 Macheeinheiten. Die hier ausgeführten Messungen der Radioaktivität, sowie Bestimmungen des Charakters der Emanation wurden nach den Angaben von J. Elster und H. Geitel¹⁾ und nach H. Mache und St. Meyer²⁾ vorgenommen.

In 1000 g Wasser wurden gefunden:

Kationen:		Anionen:	
K ⁺	0,00316 g	Cl ⁻	0,008 g
Na ⁺	0,00806 g	SO ₄ ²⁻	0,042 g
Li ⁺	0,00005 g	SiO ₃ ²⁻	0,0286 g
Ca ²⁺	0,02698 g		
Mg ²⁺	0,00498 g		
Fe ²⁺	0,00021 g		
Mn ²⁺	0,00058 g		

¹⁾ J. Elster und H. Geitel, Zeitschr. f. Instrumentenkunde 1904.

²⁾ J. Mache und St. Meyer, Sitzungsber. d. kaiserl Akademie d. Wissensch. Wien 1905.

II. Radioaktives Wasser vom Barbarastollen.

Dasselbe besitzt eine Radioaktivität von 165—342 Macheinheiten bei einer Temperatur von 11° C. In 1000 g des Wassers befanden sich:

Kationen:		Anionen:	
K ⁺	0,00266 g	Cl ⁻	0,0038 g
Na ⁺	0,00584 g	SO ₄ ²⁻	0,0392 g
Ca ²⁺	0,0133 g	PO ₄ ³⁻	0,0036 g
Mg ²⁺	0,0067 g	SiO ₃ ²⁻	0,0302 g
Fe ²⁺	0,00452 g		
Mn ²⁺	0,0003 g		

III. Grubenwasser aus dem Wernerschachte.

Dieses Wasser ist von einer Radioaktivität von 250—400 Macheinheiten bei einer Temperatur von 10,3° C. Die Restaktivität beträgt 0,06 Macheinheiten.

In Ionenform ausgedrückt gestaltet sich die Zusammensetzung für 1000 g Wasser folgendermaßen:

Kationen:		Anionen:	
K ⁺	0,0039 g	Cl ⁻	0,0037 g
Na ⁺	0,0167 g	SO ₄ ²⁻	0,01326 g
Ca ²⁺	0,00718 g	PO ₄ ³⁻	0,0031 g
Mg ²⁺	0,00558 g	SiO ₃ ²⁻	0,0122 g
Fe ²⁺	0,00432 g		
Mn ²⁺	0,00211 g		

Aus den vorstehenden Analysen ist ersichtlich, daß sich diese radioaktiven Wasser durch eine kleine Härte auszeichnen. Beim Danieli- und Barbarastollen beläuft sich die Härte des Wassers ungefähr auf 4°, beim Wernerschachte auf 2°. Bemerkenswert ist hier noch, daß diese Wasser Lithium, sowie Spuren von Strontium und Baryum enthalten. Die Grubenwässer sind verhältnismäßig arm an Kaliumion. Alle diese drei Wasser sind stark radioaktiv.

Außerdem sind in St. Joachimsthal noch radioaktive Wasser vom Schweizergange in einer Aktivität von 30—70 Macheinheiten. Die stärksten radioaktiven Wasser befinden sich in der unmittelbar an der Putzenwacke entspringenden Quelle (ein basaltischer Brockentuff), welche gemäß unseren Untersuchungen 900—1300 Macheinheiten aufweisen.

Die Aktivität wird durch die gelöste Radiumemanation erzeugt. Die Thoriumemanation ist nicht vorhanden. Es konnte bloß eine unbedeutende Restaktivität beobachtet werden.

Unsere Untersuchungen bezüglich der Feststellung, ob Zeretzungsprodukte, in erster Linie Radiothor, konstatierbar sind, führten zu negativen Resultaten. Auch in den Sedimenten konnten ganz geringe Mengen von Radiumsalzen nachgewiesen werden.

Weitere Untersuchungen werden noch zeigen, ob Aktinium in den Grubenwässern zugegen ist.

IV. Radioaktive Wässer von Franzensbad und Brambach.

Die Franzensbader Grenzquelle, welche der Bohrung in Ober-Reuth entspringt, besitzt bei 8,5° C eine Radioaktivität von 138,6 Macheinheiten. Die Restaktivität beträgt 0,073 Macheinheiten. Die chemische Analyse hat folgendes Resultat geliefert:

1000 g des Mineralwassers, auf Ionen berechnet, enthalten:

Kationen:		Anionen:	
K'	0,0497 g	Cl'	0,0789 g
Na'	0,225 g	SO ₄ ''	0,1941 g
Ca''	0,162 g	PO ₄ '''	0,0002 g
Mg''	0,0293 g	SiO ₃ ''	0,067 g
Fe''	0,0148 g		

Von freiem Kohlendioxyd befanden sich in dem Wasser 1,438 g. Auch Spuren von Schwefelwasserstoff waren daselbst zugegen. Dieses Wasser ist verhältnismäßig reicher an Kalium-Ion als die Grubenwässer von St. Joachimsthal.

Radioaktives Wasser von Brambach.

Die Wettingquelle (neue Quelle) von Brambach im Vogtlande weist nachstehende Zusammensetzung auf: Das Wasser besitzt bei einer Temperatur von 9,2° C eine Radioaktivität von 860—1286 Macheinheiten.

Auch induzierte Aktivität, welche sich aus den vorhandenen aktiven Sedimenten entwickelt, war nachweisbar. Radiothor war in ganz geringen Mengen vertreten.

Unsere chemische Untersuchung hat nachstehendes ergeben:

In 1000 g des Mineralwassers waren zugegen:

Kationen:		Anionen:	
K'	0,0399 g	Cl'	0,098 g
Na'	0,226 g	SO ₄ '	0,299 g
Ca''	0,204 g	PO ₄ '''	0,0001 g
Mg''	0,028 g	SiO ₃ '	0,088 g
Fe''	0,0135 g		

Von freiem Kohlendioxyd befanden sich in dem Wasser 2,438 g. Das Kaliumion war hier in derselben Weise vertreten wie im Franzensbader Wasser.

In diesen beiden Wässern waren neben den vorerwähnten Ionen von den Kationen noch Strontium, Baryum- und Manganion, von den Anionen Brom-, Jod- und Arsenion vorhanden.

Zieht man die chemische Zusammensetzung der Wässer in Betracht, so gelangt man zur Überzeugung, daß die Ionen von juvenilem Ursprung sind. Diese juvenilen Quellen treten neugeboren aus der Tiefe der Erde hervor, um die Hydrosphäre zu vermehren und der Geosphäre neue Mineralstoffe zuzuführen.

Die Versuche wurden in St. Joachimsthal in den Jahren 1912 und 1915, im Stadtlaboratorium in Franzensbad im Jahre 1913 und die weiteren Versuche in unserer Chem.-phys. Versuchstation ausgeführt. Die Experimente wurden in einem Thermostat bei einer Temperatur von 23—25° C vorgenommen. Sie wurden in der Weise angestellt, daß 30 Macheeinheiten in 12 Stunden auf 100 g Samen wirkten. Das Gewicht der Samen war auf Trockensubstanz berechnet. Der ganze Vorgang spielte sich in 144 Stunden ab, während welcher Zeit auf 100 g Trockensubstanz der Samen ca. 360 ME = $144 \cdot 360 \cdot 10^{-12} = 0,000144$ mg Ra ihre Wirkung ausübten. Der Keimungsprozeß war in einigen Fällen nach 48 oder 72 Stunden abgeschlossen.

Eine Übersicht über die Einwirkung der natürlichen und künstlichen Radioaktivität, sowie des Kaliumchlorides auf das Erwachen des Embryos bilden folgende Tabellen, in welchen angegeben ist, was für Anzahl der Embryonen gekeimt haben. Die Tabellen enthalten die Resultate erstens der Versuche über den Einfluß der radioaktivfreien Wässer, zweitens der radioaktiven Wässer und drittens der radioaktivfreien Wässer, zu welchen 5 g Kaliumchlorid pro l l zugesetzt wurde.

Tabelle I.
Versuche mit Grubenwässern von St. Joachimsthal.

Samen der Pflanzen	Radioaktivfreies Grubenwasser		Natürliches radioaktives Grubenwasser		Künstliches radioaktives Grubenwasser		Radioaktivfreies Wasser mit Kaliumchloridsatz											
	Es haben folgende Mengen von Samen gekeimt (in Prozenten ausgedrückt):																	
	In Stunden:																	
	24	86	48	72	24	86	48	72	24	86	48	72	Gesamtzahl d. gekeimt. Samen	Gesamtzahl d. gekeimt. Samen nach 144 Std.				
<i>Pisum sativum</i>	—	8	24	81	75	nach 144 Std.	—	12	31	45	88	nach 144 Std.	—	4	26	88	80	nach 144 Std.
<i>Pisum arvense</i>	—	24	46	68	96	" 120 "	—	44	77	91	98	" 96 "	—	80	48	76	98	" 120 "
<i>Lupinus angustifolius</i>	—	8	17	80	51	" 144 "	—	14	30	46	98	" 144 "	—	9	24	81	66	" 144 "
<i>Vicia faba A.</i>	—	81	68	81	81	" 72 "	—	4	61	95	95	" 48 "	—	81	60	64	84	" 72 "
<i>Trifolium pratense</i>	—	18	64	82	82	" 48 "	—	38	86	92	92	" 48 "	—	28	62	81	84	" 72 "
<i>Hordeum distichum A.</i>	—	5	10	28	75	" 144 "	—	31	65	80	88	" 144 "	—	14	85	42	78	" 144 "
<i>Triticum vulgare A.</i>	—	5	9	25	78	" 144 "	—	11	37	62	99	" 144 "	—	6	10	80	80	" 144 "
<i>Hordeum distichum B.</i>	—	4	16	86	76	" 144 "	—	82	68	97	99	" 96 "	—	4	18	98	81	" 144 "
<i>Triticum vulgare B.</i>	—	4	16	27	78	" 144 "	—	18	41	70	99	" 96 "	—	6	20	81	80	" 144 "
<i>Vicia faba B.</i>	—	32	56	79	79	" 72 "	—	5	52	96	—	—	—	88	60	69	82	" 72 "

Tabelle II.

Versuche mit Mineralwässern von Franzensbad.

Samen der Pflanzen	Wasser ohne Radioaktivität		Natürliches radioaktives Wasser		Künstliches radioaktives Wasser		Radioaktivfreies Wasser mit Kaliumchloridsatz											
	Es haben folgende Mengen von Samen gekeimt (in Prozenten ausgedrückt):																	
	In Stunden:																	
	24	86	48	72	24	86	48	72	24	86	48	72	Gesamtzahl d. gekeimt. Samen	Gesamtzahl d. gekeimt. Samen nach 144 Std.				
<i>Pisum sativum</i>	—	4	22	45	86	nach 144 Std.	—	8	28	50	98	nach 144 Std.	—	5	21	48	86	nach 144 Std.
<i>Pisum arvense</i>	—	19	48	67	94	" 144 "	—	88	71	98	99	" 96 "	—	19	46	68	98	" 144 "
<i>Lupinus angustifolius</i>	—	7	18	86	60	" 144 "	—	9	25	45	97	" 144 "	—	9	22	89	64	" 144 "
<i>Vicia faba A.</i>	—	28	57	88	88	" 72 "	—	6	48	79	96	" 72 "	—	80	64	87	87	" 72 "
<i>Trifolium pratense</i>	—	16	64	87	87	" 48 "	—	80	77	98	98	" 48 "	—	76	90	96	96	" 48 "
<i>Hordeum distichum A.</i>	—	2	11	28	86	" 144 "	—	16	50	81	100	" 144 "	—	8	14	42	88	" 144 "
<i>Triticum vulgare A.</i>	—	4	11	15	80	" 144 "	—	11	26	40	98	" 144 "	—	6	18	80	81	" 144 "
<i>Hordeum distichum B.</i>	—	2	5	19	86	" 144 "	—	14	85	62	99	" 144 "	—	3	9	24	90	" 144 "
<i>Triticum vulgare B.</i>	—	5	10	19	86	" 144 "	—	9	27	49	99	" 144 "	—	6	18	25	92	" 144 "
<i>Vicia faba B.</i>	—	28	52	82	82	" 72 "	—	80	62	96	96	" 72 "	—	28	56	86	86	" 72 "

Aus den Tabellen ersieht man deutlich, wie der Keimungsprozeß bei radioaktivfreiem Grubenwasser, oder radioaktivfreiem Mineralwasser sowie unter dem Einflusse der natürlichen und künstlichen Radioaktivität in St. Joachimsthal, Franzensbad und Brambach vor sich geht. Die Keimungsenergie ist namentlich unter Einwirkung der natürlichen Radioaktivität überraschend gestiegen. Am deutlichsten tritt die Differenz in der Keimungsenergie unter dem Einflusse der natürlichen und künstlichen Radioaktivität gegenüber jener bei Verwendung von bloß radioaktivfreiem Grubenwasser oder ebensolchen Mineralwasser nach 36 Stunden zutage, wenn man die erhaltenen Daten in Prozenten ausdrückt.

In der Zusammenstellung findet sich ein Parallelismus zwischen

Tabelle III.
Versuche mit Brambacher Mineralwässern.

Samen der Pflanzen	Wasser ohne Radioaktivität			Natürliches radioaktives Wasser			Künstliches radioaktives Wasser			Radioaktivfreies Wasser mit Kaliumchloridsatz																				
	Gesamtanzahl d. gekeimt. Samen			Gesamtanzahl d. gekeimt. Samen			Gesamtanzahl d. gekeimt. Samen			Gesamtanzahl d. gekeimt. Samen																				
	24	36	48	24	36	48	24	36	48	24	36	48	24	36	48	72														
Es haben folgende Mengen von Samen gekeimt (in Prozenten ausgedrückt):																														
In Stunden:																														
<i>Pisum sativum</i>	0	4	23	46	94	nach 144 Std.	—	9	84	56	100	nach 144 Std.	—	7	27	51	100	nach 144 Std.	—	12	25	54	98	nach 144 Std.						
<i>Pisum arvense</i>	—	14	40	69	98	" 120 "	—	48	79	98	100	" 96 "	—	84	71	98	100	" 96 "	—	18	45	70	94	" 120 "	—	18	45	70	94	
<i>Lupinus angustifolius</i>	—	4	10	32	62	" 144 "	—	11	29	59	95	" 144 "	—	10	22	45	98	" 144 "	—	7	17	35	96	" 144 "	—	7	17	35	96	
<i>Vicia faba A.</i>	—	17	52	86	96	" 72 "	—	40	83	97	97	" 72 "	—	6	47	77	97	" 97 "	—	19	50	85	95	" 72 "	—	19	50	85	95	
<i>Trifolium pratense</i>	—	14	61	86	96	" 48 "	—	87	81	98	100	" 48 "	—	28	65	98	—	98	—	—	21	55	89	99	" 96 "	—	21	55	89	99
<i>Hordeum distichum A.</i>	—	2	12	27	90	" 144 "	—	15	46	90	100	" 120 "	—	8	81	85	98	" 144 "	—	4	16	88	98	" 144 "	—	4	16	88	98	
<i>Trifolium vulgare A.</i>	—	8	12	23	88	" 144 "	—	11	33	58	99	" 144 "	—	11	34	90	100	" 144 "	—	5	14	85	96	" 144 "	—	5	14	85	96	
<i>Hordeum distichum B.</i>	—	2	4	10	91	" 144 "	—	13	39	70	100	" 144 "	—	13	35	60	98	" 144 "	—	2	7	28	91	" 144 "	—	2	7	28	91	
<i>Trifolium vulgare B.</i>	—	2	7	12	68	" 144 "	—	9	29	51	90	" 144 "	—	9	24	48	96	" 144 "	—	8	11	20	86	" 144 "	—	8	11	20	86	
<i>Vicia faba B.</i>	—	24	51	79	79	" 72 "	—	5	40	78	94	" 94 "	—	29	61	94	—	94	—	—	82	60	84	84	" 72 "	—	82	60	84	84

dem nichtradioaktiven Grubenwasser und der Einwirkung der Radioaktivität von $90 \text{ ME} = 36\,090 \cdot 10^{-12} = 0,000036 \text{ mg Ra}$ auf 100 g Trockensubstanz der Samen binnen 36 Stunden .

Ich lasse die diesbezüglichen Daten zunächst von St. Joachimsthal folgen. Die Versuche mit Grubenwässern von St. Joachimsthal dokumentieren, daß die Keimungsenergie bei verschiedenen Pflanzensamen wie folgt gestiegen ist:

	Natürliche Radioaktivität	Künstliche Radioaktivität
<i>Pisum sativum</i>	400,0%	300,0%
<i>Pisum arvense</i>	125,0%	83,3%
<i>Lupinus angustifolius</i>	75,0%	25,0%
<i>Vicia faba</i> A.	96,7%	12,9%
<i>Trifolium pratense</i>	34,3%	-3 · 2%
<i>Hordeum distichum</i> A.	520,0%	280,0%
<i>Triticum vulgare</i> A.	120,0%	60,0%
<i>Hordeum dustichum</i> B.	700,0%	500,0%
<i>Triticum vulgare</i> B.	225,0%	150,0%
<i>Vicia faba</i> B.	62,5%	28,1%

Bei den Versuchen mit Franzensbader Mineralwässern hat sich die Keimungsenergie in nachstehender Weise erhöht:

	Natürliche Radioaktivität	Künstliche Radioaktivität
<i>Pisum sativum</i>	150,0%	100,0%
<i>Pisum arvense</i>	173,6%	100,0%
<i>Lupinus angustifolius</i>	85,7%	28,5%
<i>Vicia faba</i> A.	100,0%	71,4%
<i>Trifolium pratense</i>	39,0%	20,3%
<i>Hordeum distichum</i> A.	900,0%	650,0%
<i>Triticum vulgare</i> A.	275,0%	175,0%
<i>Hordeum distichum</i> B.	800,0%	600,0%
<i>Triticum vulgare</i> B.	120,0%	80,0%
<i>Vicia faba</i> B.	53,8%	15,30%

Bei den Versuchen mit Brambacher Mineralwässern war folgende Erhöhung der Keimungsenergie zu beobachten:

	Natürliche Radioaktivität	Künstliche Radioaktivität
<i>Pisum sativum</i>	125,0%	75,0%
<i>Pisum arvense</i>	242,8%	142,8%
<i>Lupinus angustifolius</i>	175,0%	150,0%
<i>Vicia faba</i> A.	188,2%	176,4%
<i>Trifolium pratense</i>	478,5%	364,2%

	Natürliche Radioaktivität	Künstliche Radioaktivität
Hordeum distichum	650,0%	300,0%
Triticum vulgare A.	266,6%	266,6%
Hordeum distichum B.	555,0%	550,0%
Triticum vulgare B.	350,0%	350,0%
Vicia faba B.	66,6%	20,8%

Die erzielten Daten geben uns eine tiefergehende Erklärung über die Wirkung der natürlichen und künstlichen Radioaktivität auf den Keimungsprozeß und auf das Erwachen des Embryos. Dabei gelangten wir zur interessanten Entdeckung, daß die natürliche Radioaktivität viel energischer wirkt als die künstliche Radioaktivität, welche aus der Emanation des Radiums gewonnen wurde.

Wie bekannt, ist die Emanation des Radiums noch stärker radioaktiv als das Radium selbst. Ihre Atome sind noch weniger fest, als die des Radiums, und zerfallen noch schneller (in 3,8 Tagen zur Hälfte) in α -Strahlen und ein neues Produkt, von kleinerem Atomgewicht als die Emanation. Dieses Produkt zerfällt seinerseits noch weiter. Jedes der entstehenden Produkte ist charakterisiert durch seine Zerfallsperiode. Dieser Prozeß wird dann zum Schluß kommen, wenn sich ein festes, nicht mehr zerfallendes Atom bildet; die Auffindung dieses Endproduktes wird sich als schwer erweisen, da sich minimale Quantitäten bilden werden, die sogar mittels der empfindlichsten elektrometrischen Methode nicht zu entdecken sind, weil die Radioaktivität eben fehlt.

Im Gegensatz zu der konstanten Aktivität des Radiums verliert die Emanation allmählich ihre Radioaktivität, im Anfang schnell, dann immer langsamer nach einem Gesetze, das in der Formel

$$I_t = I_0 e^{-\lambda t}$$

ausgedrückt ist, wo I_0 die ursprüngliche Aktivität der gegebenen Quantität Emanation ist, I_t die Aktivität zur Zeit t , e die Basis der natürlichen Logarithmen und λ die für die Emanation charakteristische Konstante, die „radioaktive“ Konstante genannt.

Wie wir bei unseren Versuchen gesehen haben, wirkt die aus Radiumchlorid hergestellte Emanation nicht so günstig wie die Emanation, welche in den

Gruben- und Mineralwässern aufgelöst ist. Die Emanation, also das radioaktive Gas, das sich aus Radium entwickelt hat, ist nicht identisch mit den radioaktiven Gasen, die in den Wässern aufgelöst sind. Es ist nicht ausgeschlossen, daß neben Radiumemanation (Niton) auch die von Thorium und Aktinium abgegebenen Gase in ganz kleinen Quantitäten in diesen Mineralwässern vorhanden sind. Daß die induzierte Aktivität, die sich aus der Radiumemanation entwickelt und einen aktiven Niederschlag bildet, eine gewisse Rolle spielt, ist selbstverständlich. Von diesen Erscheinungen wird in meiner großen Arbeit „Die Radioaktivität in der Natur und ihre physiologische Bedeutung für die Pflanzen- und Tierorganismen“ ausführlich gesprochen.

Nun treten wir zu den Resultaten unserer Versuche mit Kaliumchlorid. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, haben sich in dem Erwachen des Embryos keine großen Unterschiede ergeben. Nichtsdestoweniger ist bei Gegenwart von Kaliumchlorid der Keimungsprozeß und die Keimungsenergie viel schneller vor sich gegangen wie bei gewöhnlichem Grubenwasser, das radioaktivfrei gemacht wurde. Ausdrücklich betont sei hier, daß Parallelversuche mit Natriumchlorid angestellt wurden. Es wurden 5 g Natriumchlorid zu 1 l radioaktivfreien Wassers zugesetzt und studiert, wie das Natriumchlorid auf die Keimfähigkeit und Keimungsenergie derselben Samen wirkte. Es wurde gefunden, daß das Kaliumchlorid die Wirkung des Natriumchlorids weit übertrifft. Durch Natriumchlorid zeigte sich bei den Gramineen eine günstige Wirkung auf die Keimfähigkeit, doch ist das so unbedeutend, daß ich von diesen Versuchen nichts Näheres erwähne. Bei den Leguminosen war eine nachteilige Wirkung zu konstatieren.

Ernst Lehmann hat eine keimfördernde Wirkung von Kaliumnitrat auf lichtgehemmte Samen von *Veronica Tournefortii*¹⁾ gefunden. Er hat nämlich beobachtet, daß die Keimung der Samen von *Veronica* durch das Licht gehemmt wird und das Kaliumnitrat dennoch in erheblichem Maße keimfördernd wirkt. Diese Eigenschaft ist nicht dem Nitration, sondern dem Kaliumion zuzuschreiben, weil die anderen Nitrate dieses Phänomen nicht hervorrufen. Es ist hervorzuheben, daß diese Eigenschaft nicht nur

¹⁾ Ernst Lehmann, Zeitschr. f. Botanik, Jena 1919.

die Samen von Veronica, sondern auch viele Samen von Hydrophyten besitzen.

Bei den Versuchen mit St. Joachimsthaler Grubenwässern war die Keimungsenergie unter Einwirkung von Kaliumchlorid im Vergleiche zu dort, wo nichtradioaktives Grubenwasser zur Verwendung gelangte, folgendermaßen größer:

Bei Pisum sativum	um	33,33%
„ Pisum arvense	„	25,0%
„ Lupinus angustifolius	„	12,5%
„ Vicia faba A.	„	—%
„ Trifolium pratense	„	—3·2%
„ Hordeum distichum A	„	180,0%
„ Triticum vulgare A.	„	20,0%
„ Triticum vulgare B.	„	50,0%
„ Vicia faba B.	„	18,7%

Bei den Versuchen mit Franzensbader Mineralwässern ist die Keimungsenergie durch den Einfluß von Kaliumchlorid wie folgt gestiegen:

Bei Pisum sativum	um	25,0%
„ Lupinus angustifolius	„	28,5%
„ Vicia faba A.	„	7,1%
„ Trifolium pratense	„	18,7%
„ Hordeum distichum A.	„	300,0%
„ Triticum vulgare A.	„	50,0%
„ Triticum vulgare B.	„	20,0%
„ Vicia faba B.	„	7,6%

Bei den Versuchen mit Brambacher Mineralwässern hat infolge Einwirkung von Kaliumchlorid folgende Erhöhung der Keimungsenergie stattgefunden:

Bei Pisum sativum	um	200,0%
„ Pisum arvense	„	28,5%
„ Lupinus angustifolius	„	75,0%
„ Vicia faba A.	„	11,7%
„ Trifolium pratense	„	50,0%
„ Hordeum distichum A.	„	100,0%
„ Triticum vulgare A.	„	66,6%
„ Triticum vulgare B.	„	300,0%
„ Vicia faba B.	„	33,3%

Das Kaliumchlorid hat sich in einer Konzentration von 5 g pro 1 l keimfördernd erwiesen.

Über den Einfluß der natürlichen Radioaktivität der Mineralien und Gesteine auf die Keimung und Entwicklung der Pflanzen.

Die weiteren Versuche waren dem Studium des Einflusses der natürlichen Radioaktivität unserer Mineralien, Gesteine und Bodenarten auf die physiologischen Prozesse des Pflanzenorganismus, und zwar in erster Reihe auf die Keimung der Samen gewidmet.

Die Versuche wurden einerseits in der Weise ausgeführt, daß die Samen direkt auf dem Gestein der Keimung überlassen wurden, andererseits in Emanatorien, in welchen die von dem Gestein frei entwickelte Emanation zur Wirkung gelangte. Die vergleichenden Versuche wurden bei 15—18° C vorgenommen.

Versuche mit der Keimung der Samen direkt auf dem Gestein.

Es wurden 100 g des pulverisierten Gesteins abgewogen und auf eine Schale gebracht mit einer doppelten Schicht von Filtrierpapier bedeckt, und auf diesem je 50 Samen zur Keimung gebracht. Da die verschiedenen Gesteinsarten eine verschiedene Wasserkapazität aufwiesen, wurde diese für jeden Fall im voraus bestimmt und dann die entsprechende Wassermenge zugeführt. Täglich wurden sodann weitere 25 ccm Wasser zugesetzt.

Die angewendeten Gesteine besaßen nachstehende Radioaktivität:

	Curie · 10 ⁻¹²
Sand	0,50
Basalt von Říp	3,90
Basalt von Schluckenau	8,87
Porphyр von Marienbad	5,01
Granit von Sedčany	6,76

Die Keimversuche wurden mit den Samen der Gerste und des Weizens ausgeführt, und die Versuchsergebnisse sind in der folgenden Tabelle enthalten:

Versuch	Gerste				Weizen			
	es keimten in % nach Stunden:							
	24	48	72	96	24	48	72	96
mit Sand	6	38	52	94	4	28	42	88
mit Basalt von Říp	8	42	60	96	6	32	44	90
mit Basalt von Schluckenau	12	50	74	98	10	40	56	94
mit Porphyр von Marienbad	8	46	64	98	4	32	44	88
mit Granit von Sedčany	8	44	62	96	4	30	42	86

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß insbesondere die Radioaktivität des Basaltes, Porphyr und Granits von günstigem Einflusse auf die Samenkeimung war.

Keimversuche in den Emanatorien.

A. Versuche in kleineren Glaszylindern von 20 Liter Gehalt.

Zu diesen Versuchen wurden folgende Mineralien und Gesteine angewendet:

1. Calcit-Magnesit von St. Joachimsthal mit $67,04 \cdot 10^{-12}$ g Ra in 1 g ¹⁾.
2. Basalt von St. Joachimsthal mit $75,70 \cdot 10^{-12}$ g Ra in 1 g.
3. Uranpecherz $161 \cdot 10^{-6}$ g Ra in 1 g.

In die Glaszylinder, welche mit einem eingeschliffenen Glasdeckel versehen waren, wurde auf den Boden eine Schale mit 100 g des Minerals oder des Gesteins gesetzt und darüber ein Ständer mit der Glasschale, die auf Filtrierpapier gebettet die Samen enthielt. Täglich wurden 25 ccm Wasser mittels eines Tropftrichters zugeführt, welcher durch den Glasdeckel hindurchging. Zu gleicher Zeit wurden bei gleichartiger Versuchsanordnung Parallelversuche ausgeführt, wobei anstatt der Mineral- oder Gesteinsarten Quarzsand von Horní Břıza Verwendung fand.

Um den Einfluß der ungleichartigen Belichtung auszuschließen, wurde vor die Apparate ein Leinwandschirm gesetzt. Der Keimverlauf, sowie die Entwicklung der Pflänzchen wurde nach vier Tagen und einige Zeit noch nachher an freier Luft beobachtet.

Bei den ersten Versuchen war der Glasdeckel nicht mit Paraffin abgedichtet, so daß die Luft etwas Zutritt hatte. Die Versuche, die mit Gerstensamen ausgeführt wurden, ergaben folgende Resultate:

100 g	100 Samen keimten			Gewicht der Keimlinge in d. Trockensubstanz in mg 72 Stunden
	in %			
	Nach	24	48	72
Sand	8	92	98	342,8 mg
Calcit-Magnesit	14	98	98	584,4 mg

Die Emanation aus dem Calcit-Magnesit wirkte günstig auf die Keimung und Pflanzenentwicklung:

¹⁾ Das Calciummagnesit hat akzessorische Beimengungen von radiumhaltigen Mineralien.

die Trockensubstanz der Keimlinge war unter Einwirkung der Emanation um 70,4% größer, als beim Kontrollversuche.

Eine andere Versuchsreihe hatte folgende Resultate:

100 g Gestein	Es keimten in % n. Stund.:			Radioaktivität der Luft von	
	20	24	27	ME	Curie · 10 ⁻¹²
Sand	0	8	15	—	—
Calcit-Magnesit	3	15	45	0,41	164
Basalt von St. Joachimsthal	8	30	63	3,30	1323

Bei den weiteren Versuchen wurden die Samen vorher mit Wasser maceriert; die Versuchsergebnisse waren:

100 g Mineral oder Gestein	Es keimten % von		Radioaktivit. der Luft ME
	100 Samen macer. Stund.:		
	1/3 nach 24 St.	1 nach 17 St.	
Sand	39	50	—
Calcit-Magnesit	72	66	0,41
Basalt	78	88	3,30
Uranpecherz	—	56	341,0

Eine schwache Radioaktivität wirkt sehr günstig auf den Keimverlauf.

Bei den weiteren Versuchen wurden die Glasdeckel der Emanatorien mit Paraffin verschlossen, so daß die Luft keinen Zutritt von außen hatte. Die Samen wurden vor dem Versuche maceriert.

Versuche mit Gerste:

100 g	Radioaktivität der Luft		Es keimten n. 30 Std. %	
	ME	Curie · 10 ⁻¹²	I.	II.
Sand	—	—	36	39
Calcit-Magnesit	0,61	244	22	22
Basalt von St. Joachimsthal	3,30	1323	20	19
Uranpecherz	350,0	140 350	17	16

Bei dem Versuche mit Uranpecherz und bei dem Kontrollversuche mit Sand wurden die Pflänzchen 7 Tage lang weiter entwickeln gelassen und sodann das Gewicht der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles bei 105° C bestimmt; es wurde gefunden:

- Versuch ohne Emanation 748,2 mg
- Versuch mit Emanation von Uranpecherz . . . 292,6 mg

Diese Versuche dokumentieren wieder, daß die starke Radiumemanation toxische Wirkungen hervorgerufen hat.

Versuche mit Roggen.

100 g	Radioaktivität der Luft		Es keimten nach 48 Std.
	ME	Curie · 10 ⁻¹²	
Sand	—	—	82%
Calcit-Magnesit	0,64	256	74%
Basalt von St. Joachimsthal	3,30	1323	63%
Uranpecherz	350,0	140 350	56%

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß bei ungenügendem Luftzutritt die Radiumemanation eine schädigende Wirkung auf die Entwicklung der Pflanzen ausübt und die Keimung hintanhält.

B. Versuche in großen Emanatorien von 66 Liter Inhalt.

Die Methodik dieser Versuche war die gleiche, wie in den vorhergehenden. Die Samen der Gerste wurden auf mit Filtrierpapier ausgelegten Schalen gelegt und über die radioaktive Substanz gestellt. Als Emanationsproduzent wurde Basalt von Joachimsthal gewählt. Nach 28 Stunden wurde die Aktivität der Luft festgestellt und die ausgekeimten Samen gezählt.

Sodann wurden die Samen in einem Glaskasten der weiteren Entwicklung überlassen, nach 12 Tagen die Länge des oberirdischen Teiles gemessen und das Trockengewicht der Pflänzchen bestimmt.

Gestein	Versuch I		Versuch II	
	Ø	R	Ø	R
Gewicht desselben	300 g		400 g	
Oberfläche desselben	530 ccm		1018 ccm	
Emanation nach 28 Std.	0,6 ME		2,2 ME	
Gekeimt %	46	65	44	76
Gewicht der Pflanzen im frischen Zustande	15,1 g	19,7 g	11,7 g	19,0 g

Weiter wurden Versuche ausgeführt, um die Keimung der Samen in einem Emanation enthaltenden Luftstrom zu studieren. Aus den vorhergehenden Versuchen folgt nämlich, daß sich eine günstige Wirkung der Emanation nur in dem Falle bei den physiologischen Versuchen bemerkbar macht, wenn bei der Keimung eine genügende Sauerstoffmenge zur Verfügung ist, also für Lufterneuerung gesorgt ist. Dies ist im Einklange mit den Erfahrungen, welche bei der Radiotherapie gewonnen wurden, welche dahin gehen, daß ein günstiger Einfluß auf die physiologischen Prozesse des menschlichen Organismus durch die Emanation nur dann zur Geltung kommt, wenn sich der Kranke während der Kur viel in der Luft bewegt, insbesondere in der Sommerszeit,

wo sich die Sonnenstrahlenenergie am längsten und am intensivsten geltend machen kann.

Die Versuche, über welche im folgenden berichtet wird, bestätigen, daß ähnliche Verhältnisse auch bei dem Einflusse der Radioaktivität auf den Pflanzenorganismus zu finden sind.

Die Versuche im radioaktiven Luftstrom wurden in Glaszylindern von ca. 20 l Inhalt ausgeführt, durch welche mittels eines Aspirators, der am Ende der Versuchseinrichtung geschaltet war, Luft gesaugt wurde, welche Radiumemanation in einem Gefäße, auf dessen Boden 50 g Basalt von Schluckenau, bzw. Uranpecherz geschüttet war, aufnahm. Sonst war die Versuchseinrichtung dieselbe, wie in den vorhergehenden Versuchen. Als Versuchsobjekt dienten die Samen von *Hordeum distichon*.

	Ohne Emanation	Mit Basalt	Mit Uranpecherz
Luftstrom-Aktivität	—	—	1,38 ME
Nach 24 Std. keimten %	71	77	81
Gewicht der Pflanzen im frischen Zustande	8,8 g	14,1 g	16,5 g
Gewicht des oberirdischen Teiles, frisch	4,6 g	9,5 g	13,4 g
Gewicht des oberirdischen Teiles in der Trockensubstanz	727,0 mg	881,4 mg	952,2 mg

Vergleichsversuche über den Einfluß des Sauerstoffes bei der Radiumwirkung auf die Pflanzen.

Versuche bei verschiedenem Luftvolumen. Temp. 15—18° C.

Zu den Versuchen wurden einerseits Glaszylinder von 20 l Inhalt, andererseits Emanatorien von 60 l Inhalt benützt und als Versuchspflanze Gerste verwendet, deren Samen in Glasschalen auf Filtrierpapier über eine Sandschicht gelegt wurden. Sonst war die Versuchseinrichtung dieselbe, wie in den früheren Versuchen.

Versuch mit	Im großen Emanatorium		Im kleinen Emanatorium	
	θ	R	θ	R
Uranpecherz	—	75 g	—	25 g
dessen Oberfläche	—	60 ccm	—	187 ccm
Radioaktivität der Luft	—	13,1 ME	—	7,05 ME
Ausgekeimt % nach } I.	49	62	53	46
} II.	50	63	52	47
Kohlendioxyd: Volum-%	0,036	0,038	0,048	0,047
Sauerstoff: Volum-%	21,2	20,2	20,4	20,0

Nach 28 Stunden wurden die Keimlinge aus den Glasschalen herausgenommen und an der Luft unter Glaskästen der weiteren Entwicklung überlassen. Sie wurden täglich mit 10 ccm destilliertem Wasser begossen und sodann das Gewicht der Pflänzchen bestimmt:

	Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
	θ	R	θ	R
Gewicht der ganzen Pflanze im frischen Zustande	18,8 g	21,7 g	18,0 g	20,0 g
Gewicht des oberirdischen Teils	5,9 g	7,5 g	5,7 g	7,4 g
Gewicht des oberirdischen Teils in Trockensubstanz	557,2 mg	711,2 mg	544,9 mg	683,8 mg

Versuche mit *Vicia faba*.

Die Versuche wurden mit je 25 Samen ausgeführt, welche 2 Stunden in destilliertem Wasser maceriert wurden. Die Glasschalen mit Uranpecherz enthielten 150 g auf einer Fläche von 1018 ccm in den großen und 50 g auf einer Fläche von 187 ccm in den kleinen Emanatorien. Temperatur 15—18° C.

	Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium		
	θ	R	θ	R	
Uranpecherz	—	150 g	—	50 g	
dessen Oberfläche	—	1018 ccm	—	187 ccm	
Radioaktivität der Luft nach 86 Std.	—	47,7 ME	—	26,6 ME	
Ausgekeimt nach {	46 Stunden	5 = 20%	8 = 32%	5 = 20%	3 = 12%
	52 „	10 = 40%	13 = 52%	10 = 40%	6 = 24%
	70 „	18 = 72%	21 = 84%	17 = 68%	12 = 48%
	76 „	20 = 80%	23 = 92%	21 = 84%	18 = 72%
	94 „	23 = 92%	25 = 100%	24 = 96%	23 = 92%
100 „	24 = 96%	25 = 100%	25 = 100%	24 = 96%	

Hierauf wurden die Glasschalen mit den Samen herausgenommen und an der freien Luft der Weiterentwicklung überlassen. Nach 12 Tagen wurden die Pflänzchen gemessen, gewogen und die Trockensubstanz des oberirdischen Teiles bestimmt.

	Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
	θ	R	θ	R
Gewicht der frischen Pflanzen	38,4 g	55,1 g	43,1 g	47,8 g
Gewicht des frischen oberirdischen Teils	7,1 g	17,1 g	9,4 g	12,2 g
Gewicht des oberirdischen Teils in der Trockensubstanz	727,2 mg	1585,7 mg	868,8 mg	1122,3 mg

Versuche mit *Pisum sativum*.

Diese Versuche ergaben die gleichen Resultate. Temperatur 16—18° C.

	Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium.		
	θ	R	θ	R	
Uranpecherz	—	150 g	—	50 g	
dessen Oberfläche	—	1018 ccm	—	187 ccm	
Ausgekeimt nach	52 Stunden	0 = 0%	1 = 4%	0 = 0%	0 = 0%
	70 „	5 = 20%	8 = 32%	6 = 24%	5 = 20%
	76 „	8 = 32%	13 = 52%	10 = 40%	9 = 36%
	94 „	13 = 52%	18 = 72%	16 = 72%	12 = 48%
	100 „	15 = 60%	21 = 84%	19 = 76%	17 = 68%
	118 „	19 = 76%	23 = 92%	21 = 84%	24 = 96%

In dem folgenden Diagramm sieht man die Keimungskurven, und zwar den Verlauf im großen Emanatorium E_o und E_r und im kleinen Emanatorium E_o und E_r bei An- und Abwesenheit von Sauerstoff.

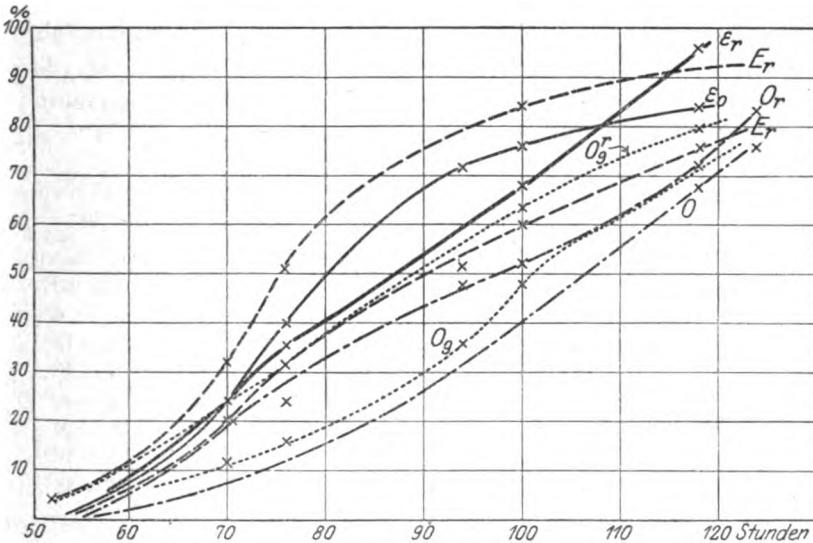


Abb. 1.

Versuche mit *Phaseolus vulgaris*.

Diese Versuche ergaben folgende Resultate. Temperatur 15—18° C.

		Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
		θ	R	θ	R
Uranpecherz		0 Sand	150 g	0 Sand	50 g
dessen Oberfläche . .		1018 ccm		187 ccm	
Ausgekeimt nach	70 Stunden . . .	2 = 8%	4 = 16%	3 = 12%	2 = 8%
	76 „ . . .	4 = 16%	6 = 24%	5 = 20%	4 = 16%
	94 „ . . .	10 = 40%	12 = 48%	11 = 44%	8 = 32%
	100 „ . . .	13 = 52%	17 = 68%	15 = 60%	10 = 40%
	118 „ . . .	15 = 60%	20 = 80%	20 = 80%	17 = 68%
	124 „ . . .	18 = 72%	23 = 92%	22 = 88%	20 = 80%
	142 „ . . .	21 = 84%	23 = 92%	23 = 92%	21 = 84%

Versuche mit Gestein in Stücken.

Um festzustellen, in welcher Weise sich das Gestein nicht in Pulverform, sondern in Stücken verhält, also in der Form, in welcher es in der Natur im Boden vorkommt, und wie in diesem Falle sich die Emanationsentwicklung zur Geltung bringt, wurde eine Reihe von Versuchen ausgeführt, in welchen sonst unter gleichen Bedingungen, wie früher anstatt gemahlenem Gestein dasselbe in Stückform angewendet wurde. Als radioaktive Substanz fand der Basalt von Schluckenau Verwendung und wurden die Keimversuche mit *Pisum sativum* ausgeführt. Die Stückgröße vom Basalt war die einer Walnuß.

		Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
		θ	R	θ	R
Beschickung . . .		Sand	200 g Basalt	Sand	200 g Basalt
Radioaktivität der Luft		—	0,21 ME	—	0,53 ME
Ausgekeimt nach	52 Stunden . . .	— = 0%	1 = 4%	— = 0%	— = 0%
	70 „ . . .	4 = 16%	5 = 20%	5 = 20%	3 = 12%
	76 „ . . .	6 = 24%	6 = 24%	7 = 28%	5 = 20%
	94 „ . . .	10 = 40%	12 = 48%	12 = 48%	10 = 40%
	100 „ . . .	14 = 56%	16 = 64%	15 = 60%	14 = 56%
	118 „ . . .	19 = 76%	20 = 80%	20 = 80%	19 = 76%
	124 „ . . .	21 = 84%	22 = 88%	23 = 92%	22 = 88%

Versuche in Emanatorien von verschiedenem Volum, aber gleichem Sauerstoffgehalt.

Die Keimversuche wurden in kleinen Glaszylindern von 20 l Inhalt und in großen Emanatorien, die 66 l faßten, ausgeführt. Um die Sauerstoffmenge auf denselben Wert zu bringen, wurde

die Konzentration des Sauerstoffes in den kleineren Zylindern auf 66% gebracht, wie das in den großen Emanatorien der Fall war. Dann war in beiden Versuchsgefäßen nahezu dieselbe Menge von Sauerstoff freilich in verschiedenen Volumen enthalten.

Die Versuche über die Wirkung der Radioaktivität wurden mit 25 Samen, die vordem 2 Stunden in Wasser maceriert worden waren, ausgeführt. Diese Samen wurden dann auf Keimschalen gelegt und in die Emanatorien gebracht, worauf der Sauerstoffgehalt auf nahezu 66% in den kleineren Versuchszy lindern erhöht wurde. Die Versuche wurden mit *Pisum sativum*, *Vicia faba* und *Zea Mays* ausgeführt und es wurde der Keimverlauf in bestimmten Intervallen festgestellt.

Versuch mit *Pisum sativum*

		Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
		θ	R	θ	R
Beschickung	. . .	Sand	150 g Uran- pecherz	Sand	50 g Uran- pecherz
Oberfläche	1018 ccm		187 ccm	
Ausgekeimt nach	52 Stunden	— = 0%	1 = 4%	— = 0%	— = 0%
	70 „	3 = 12%	6 = 24%	2 = 8 %	5 = 20%
	76 „	4 = 16%	8 = 32%	3 = 12%	6 = 24%
	94 „	9 = 36%	14 = 56%	8 = 32%	12 = 48%
	100 „	12 = 48%	16 = 64%	10 = 40%	13 = 52%
	118 „	18 = 72%	20 = 80%	17 = 68%	18 = 72%
	124 „	20 = 80%	22 = 88%	19 = 76%	21 = 84%

Versuch mit *Vicia faba*.

		Großes Emanatorium		Kleines Emanatorium	
		θ	R	θ	R
Beschickung	. . .	50 g Sand	150 g Uran- pecherz	50 g Sand	50 g Uran- pecherz
Oberfläche	1018 ccm		187 ccm	
Ausgekeimt nach	46 Stunden	5 = 20%	9 = 36%	5 = 20%	9 = 36%
	52 „	8 = 32%	12 = 48%	8 = 32%	13 = 52%
	70 „	15 = 60%	18 = 72%	15 = 60%	17 = 68%
	76 „	18 = 72%	20 = 80%	17 = 68%	19 = 76%
	94 „	21 = 84%	23 = 92%	21 = 84%	22 = 88%
	100 „	22 = 88%	23 = 92%	21 = 84%	22 = 88%
	118 „	24 = 96%	24 = 96%	23 = 92%	23 = 92%

Versuch mit *Zea Mays*.

Beschickung	Großes Emanatorium.		Kleines Emanatorium.		
	θ	R	θ	R	
	150 g Sand	150 g Uran- pecherz	150 g Sand	150 g Uran- pecherz	
Oberfläche	1018 ccm		187 ccm		
Ausgekeimt nach	46 Stunden .	4 = 16%	6 = 24%	3 = 12%	6 = 24%
	52 „ .	6 = 24%	10 = 40%	5 = 20%	8 = 32%
	70 „ .	11 = 44%	13 = 52%	11 = 44%	14 = 56%
	76 „ .	14 = 52%	16 = 64%	13 = 52%	16 = 64%
	94 „ .	19 = 76%	20 = 80%	18 = 64%	20 = 80%
	100 „ .	21 = 84%	22 = 88%	20 = 80%	21 = 84%
	118 „ .	23 = 92%	23 = 92%	22 = 80%	21 = 84%

Diese Versuche sprechen ganz deutlich dafür, daß ein bestimmter Zusammenhang zwischen der Wirkung der Radiumemanation und der Sauerstoffkonzentration besteht. Wenn in den kleinen Emanatorien nicht genügende Zirkulation von Sauerstoff vorhanden ist, so ruft die Radiumemanation schädliche Wirkungen auf den ganzen Keimprozeß hervor. Sind aber größere Mengen von Sauerstoff zugegen, wie in den großen Emanatorien, oder wo der reine Sauerstoff künstlich zu gesetzt wurde, so verläuft der Keimungsprozeß ganz normal. Also bei großen Sauerstoffkonzentrationen hat die Radiumemanation sogar die Keimfähigkeit gefördert. Das Phänomen ist gewiß von großer Wichtigkeit und ist eine Richtschnur für alle Beobachtungen über die Wirkung der Radiumemanation auf den pflanzlichen und tierischen Organismus. Wenn nicht geeignete Verhältnisse zwischen der Radiumemanation und dem Sauerstoff herrschen, so kann eine verhältnismäßig schwache Emanation auch schon toxische Wirkungen nach sich ziehen. Bei reichlicherer Sauerstoffzufuhr kann sogar eine starke Radiumemanation ohne schädliche Wirkung auf den gesamten Stoffwechsel in der chlorophyllhaltigen und chlorophyllosen Zelle einwirken.

Unsere weiteren Beobachtungen haben aber ergeben, daß die Mechanik der Radiumwirkung nicht nur von der Sauerstoffmenge in der Atmosphäre abhängig ist, sondern auch von der Intensität der Insolation. Die Radiumwirkung übt im Sommer einen ganz anderen Einfluß aus als im Winter.

Aus allen unseren Beobachtungen geht hervor, daß die Radioaktivität in der Natur ein wichtiger Vegeta-

tionsfaktor ist und daß namentlich die Radioaktivität der Mineralien, Gesteine, Böden, sowie des Wassers auf den ganzen Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanzen einen großen Einfluß ausübt. Das ist also ein Vegetationsfaktor, der bei der Entwicklung der Pflanzen in der Natur genau beobachtet werden muß und bei den physiologischen Forschungen keinesfalls übersehen werden darf.

Bei den Versuchen mit Gerste haben wir eine günstige Wirkung der Radiumemanation in den großen Emanatorien verzeichnen können, wo eine Radioaktivität der Luft von 13,1 ME = $5253,1 \cdot 10^{-12}$ = 0,000005 mg Ra herrschte; in den kleinen Emanatorien, wo nicht genügende Mengen von Sauerstoff vorhanden waren, wirkten 7,05 ME = $2827 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000028 mg Ra schon schädlich und hemmten den ganzen Keimungsprozeß.

Dasselbe konnten wir bei anderen Versuchen mit *Pisum sativum*, *Vicia faba* und *Phaseolus vulgaris* in kleinen Emanatorien konstatieren, wo 26,6 ME = $10666,6 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000106 mg Ra eine hemmende Wirkung auf den Keimungsprozeß hervorrief, während 41,7 ME = $16721 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000167 mg Ra einen günstigen Einfluß auf den Keimungsverlauf ausübten, nachdem wieder genügende Quantitäten von Sauerstoff in großen Emanatorien zugegen waren.

Wenn der Sauerstoff dann in den kleinen Emanatorien in genügenden Mengen zugeführt wurde, wie bei den Versuchen mit *Pisum sativum*, *Vicia faba* und *Zea mays*, haben 26 ME = $10426 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000104 mg Ra den Keimungsprozeß nicht beeinflußt, im Gegenteil begünstigt.

Die Wirkung war fast dieselbe wie in großen Emanatorien, wo 41,7 ME = $16721 \cdot 10^{-12}$ g Ra = 0,0000167 mg Ra vorhanden waren.

Diese Versuche dokumentieren, daß 26 ME bei Abwesenheit von genügenden Mengen von Sauerstoff schädlich wirkten und 41,7 ME einen günstigen Verlauf des Keimungsprozesses hervorriefen, nachdem die Versuche in großen Emanatorien ausgeführt worden sind, in welchen 66 l Luft vorhanden waren, wogegen in den kleinen Emanatorien bloß 20 l Luft zugegen waren.

Wie wir also sehen, wird die Radiumwirkung ungemein durch die Belichtung und die Sauerstoffmenge in der Atmosphäre beeinflußt.

Über die Wirkung des Kaliums auf den Keimungsprozeß in den Emanatorien.

Gewiß von großem Interesse ist, wie sich der Keimungsprozeß der Samen verschiedenartiger Pflanzen verhält, wenn

große Quantitäten Kalium in verschiedener Form in den Emanatorien vorhanden sind, wie da die Emanation des Radiums zur Geltung kommt.

Daß das Kalium im Dunkeln Elektronen emittiert, wurde zuerst von J. J. Thomson im Jahre 1905 hervorgehoben. Die Kalisalze besitzen eine schwache β -Aktivität, die ungefähr $\frac{1}{1000}$ von der β -Aktivität des Uraniums beträgt, worauf wir schon aufmerksam gemacht haben. Die Aktivität scheint eine spezifische Atomeigenschaft des Kaliums zu sein. Das Kalium sendet unter dem Einfluß des Lichtes β -Strahlen¹⁾ aus, die den Kathodenstrahlen sehr ähnlich sind, d. h. sie besitzen eine photoelektrische Empfindlichkeit.

Die photographische Wirkung der β -Strahlen sowie ihr Ionisierungsvermögen wurde tatsächlich nachgewiesen.

Nach den Angaben von E. Henriot unterhält eine Schicht von 1 cm Oberfläche in Luft normaler Dichte als Folge der Ionisation ihrer β -Strahlung einen Sättigungsstrom von K_2SO_4 ca. $9,10^{-7}$ stat. Einh. (ca. $3,10^{-16}$ Amp.).

Es ist also gewiß von großem Interesse zu erfahren, wie die Strahlen des Kaliums, welche sich in verschiedenartigen Verbindungen im Emanatorium befinden, auf den Keimungsprozeß der Samen einwirkten. Zu diesem Behufe haben wir kleine Emanatorien von 20 l Inhalt benutzt und für jedes Emanatorium 1,75 kg Kalium in Form von Kaliumhydroxyd, oder Kaliumchlorid oder Kaliumsulfat zur Anwendung gebracht. Die Emanatorien waren so eingerichtet, daß über die einzelnen Kaliverbindungen die Glasschale, auf deren Boden Filterpapier sich befand, gelegt wurde. Auf jeder Glasschale waren 25 evtl. 50 Samen vorhanden. Zu den Glasschalen führte ein trichterförmiges Glasrohr, welches bis zu dem Boden der Glasschale reichte. Es wurde immer dasselbe Quantum Wasser zu jeder Glasschale zugesetzt, damit die Wassermenge überall konstant war. Der Rauminhalt der Schalen war überall gleich. Pro Glasschale wurden 20—30 cm im Anfang benutzt. Es wurde streng darauf geachtet, daß sich in jeder Glasschale dieselben Quantitäten Wasser befanden und wurden sogar in der Nacht diesbezügliche Beobachtungen gemacht.

¹⁾ Frederick Soddy vertritt in seinem bekannten Buche: Die Chemie der Radioelemente die Ansicht, daß das Kalium Kathodenstrahlen sendet. Siehe Frederick Soddy, La chimie des éléments radioactifs. Paris 1915.

Der Keimungsprozeß der Samen ist unter dem Einfluß des diffusen Lichtes vor sich gegangen. Wir haben unsere Versuche mit nachstehenden Samen vorgenommen:

Hordeum distichum, *Triticum vulgare*, *Secale cereale*, *Avena sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*.

Die Resultate waren auf Prozente umgerechnet folgende:

I. Versuche mit *Hordeum distichum*. Temperatur 23—25° C.

Nach 47 Stunden keimten:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	24%	26%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	38%	40%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	40%	36%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	36%	36%

II. Versuche mit *Triticum vulgare*. Temperatur 17—19° C.

Nach 72 Stunden haben gekeimt:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	26%	24%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	42%	38%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	36%	34%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	38%	40%

III. Versuche mit *Secale cereale*. Temperatur 18—20° C.

Nach 48 Stunden haben gekeimt:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	62%	64%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	88%	86%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	80%	82%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	92%	90%

IV. Versuche mit *Avena sativa*. Temperatur 18—21° C.

Nach 72 Stunden haben gekeimt:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	12%	14%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	24%	26%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	22%	24%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	24%	26%

V. Versuche mit *Vicia faba*. Temperatur 22—24° C.

Nach 48 Stunden haben gekeimt:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	20%	20%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	33%	32%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	28%	30%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	30%	32%

VI. Versuche mit *Phaseolus vulgaris*. Temperatur 30—34° C.

Nach 68 Stunden haben gekeimt:	I	II
Im Emanatorium mit reiner Luft . . .	16%	16%
Im Emanatorium mit Kaliumhydroxyd	22%	24%
Im Emanatorium mit Kaliumchlorid .	24%	26%
Im Emanatorium mit Kaliumsulfat . .	38%	36%

Um die sich hier ergebenden Differenzen genauer ersichtlich zu machen, lasse ich sie in Prozenten ausgedrückt folgen.

Bei *Hordeum distichum* haben durchschnittlich unter Einwirkung von Kaliumhydroxyd um 56%, unter Einfluß von Kaliumchlorid um 52% und bei Gegenwart von Kaliumsulfat im Emanatorium um 44% mehr gekeimt, als im Emanatorium mit reiner Luft.

Bei *Triticum vulgare* war durchschnittlich bei Anwesenheit von Kaliumhydroxyd im Emanatorium die Keimung um 60%, unter Einwirkung von Kaliumchlorid um 40% und unter Einfluß von Kaliumsulfat um 56% gestiegen im Vergleich zu dort, wo bloß reine Luft im Emanatorium zugegen war.

Bei *Secale cereale* war durchschnittlich bei Vorhandensein von Kaliumhydroxyd im Emanatorium eine um 38,09%, bei Gegenwart von Kaliumchlorid eine um 28,5% und unter Einwirkung von Kaliumsulfat eine um 44,4% größere Keimung zu konstatieren, als im Emanatorium mit reiner Luft.

Bei *Avena sativa* stieg durchschnittlich bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd im Emanatorium die Anzahl der gekeimten Samen um 92,3%, unter Einwirkung von Kaliumchlorid um 76,9% und bei Anwesenheit von Kaliumsulfat um 92,3% gegenüber dort, wo nur reine Luft im Emanatorium sich befand.

Bei *Vicia faba* war die Keimung unter Einfluß von Kaliumhydroxyd durchschnittlich um 62,5%, unter Einwirkung von Kaliumchlorid um 45% und bei Gegenwart von Kaliumsulfat im Emanatorium um 55% größer, als im Emanatorium mit reiner Luft.

Bei *Phaseolus vulgaris* stieg durchschnittlich die Keimung bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd um 43,75%, bei Einwirkung von Kaliumchlorid um 56,2% und unter Einfluß von Kaliumsulfat um 131,25% gegenüber dort, wo bloß reine Luft im Emanatorium zugegen war.

Diese Zahlen dokumentieren, daß durch die emittierten Strahlen des Kaliums der Keimungsvorgang viel energischer bei allen Samen, mit welchen wir die Versuche ausführten, vor sich gegangen ist. Drückt man diese Differenz in Prozenten aus, so merkt man genau, daß die Aktivität einen günstigen Einfluß auf das Erwachen des Embryos hervorgerufen hat. Wir haben uns bemüht, die Aktivität der Luft, wo Kaliumhydroxyd vorhanden war, zu bestimmen und gefunden, daß die Aktivität in einem Falle 0,08 ME pro 1 l Luft, in einem anderen Falle 0,0096 ME pro 1 l Luft beträgt. Ob diese Daten ganz exakt sind, werden die weiteren Untersuchungen erst lehren. Man könnte annehmen, daß möglicherweise eine gewisse Menge vom Kaliumhydroxyd oder Kaliumchlorid von dem Wasser absorbiert werden könnte und infolgedessen der Keimungsprozeß begünstigt wurde.

Zum Nachweis des Kaliums haben wir alle Reaktionen, namentlich die Methode von De Koningh und die mikrochemische Methode von Macallum angewendet.

Nach jedem Versuch überzeugten wir uns, konnten aber nicht einmal Spuren von Kalium nachweisen, so daß wir mit Bestimmtheit erklären können, daß der vorgeschrittene Keimungsprozeß und überhaupt die Keimungsenergie nur der Aktivität des Kaliums und den emittierten β -Strahlen zuzuschreiben ist. Diese Tatsache ist gewiß von hoher physiologischer Bedeutung und eröffnet uns eine neue Perspektive in der Beteiligung des Kaliums bei den Lebensvorgängen der Pflanze.

Der Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II.

Von

Julius Stoklasa.

(Unter Mitwirkung von J. Šebor, V. Zdobnický, E. Napravitl und J. Hromádko.)

(Aus der chem.-physiol. Versuchsstation an der böhm. techn. Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 15. April 1920.)

C. Neuberg hat im Jahre 1904 (für den Tierkörper) festgestellt, daß die biochemische Wirkung der radioaktiven Stoffe zum wesentlichen Teil auf dem Wege über die Beeinflussung der Zellfermente eintritt¹⁾.

Der Mechanismus der Radiumemanation auf den lebenden Organismus der Samen ist vom physiologisch-chemischen Standpunkte sehr interessant. Durch unsere Versuche wurde nachgewiesen, daß die Radiumemanation auf die enzymatischen Prozesse, und zwar namentlich die Erhöhung der Aktivität der Enzyme, äußerst günstig wirkt. Es gilt dies namentlich von den Carbohydrasen, Amylasen, Amidasen (Proteasen), Oxydasen und Gärungsenzymen, speziell glucolytischen Enzymen²⁾.

Nun schreiten wir zu unseren Versuchen über Einwirkung der Radiumemanation in den Emanatorien auf den Keimungsprozeß der Samen.

¹⁾ C. Neuberg, Zeitschr. f. Krebsforsch. 2, 171. 1904; s. ferner C. Neuberg, Chem. u. physik.-chem. Wirkungen radioaktiver Substanzen und deren Beziehungen zu biologischen Vorgängen. Monogr. Wiesbaden 1913.

²⁾ Über die Einwirkung der Radiumemanation auf die enzymatischen Prozesse wird in einer speziellen Arbeit eingehend gesprochen.

Wie ich schon hervorgehoben habe, wirkt die Radiumemanation äußerst günstig auf die Erhöhung der Aktivierungsprozesse der Enzyme. Um uns zu überzeugen, ob die biochemischen Prozesse bei dem Keimungsprozeß unter Einwirkung der Radiumemanation viel schneller vor sich gegangen sind, stellten wir zwei Versuche an. Diese Versuche mit *Hordeum distichum* wurden in zwei großen Glasglocken von 66 Liter Inhalt ausgeführt. In jede Glasglocke wurde ein Keimbeet mit 400 Samen gegeben. Die Samen wurden vorher mit Wasser 2 Stunden lang maceriert, und zu jeder Schale wurde täglich das gleiche Quantum Wasser durch ein im oberen Teile der Glasglocke befindliches trichterförmiges Rohr zugesetzt. In einer Glasglocke befanden sich 50 g Uranpecherz. Nach 5 Tagen wurden die Versuche abgeschlossen und in dem Emanatorium eine Radioaktivität von 13,8 Macheeinheiten $5533,8 \cdot 10^{-12} = 0,0000055$ mg Ra, konstatiert. Die Keimungsversuche wurden in gleicher Weise bei ein und derselben Wasserzugabe und stets gleicher Temperatur von 15—20° C angestellt, damit der Keimungsprozeß in gleicher Weise in den Glasglocken im Keimbeet verläuft. Nach 5 Tagen wurde die Analyse vorgenommen. Es wurde der Dextrin- und Stärkegehalt bestimmt und die stickstoffhaltigen Stoffe, sowie die Trockensubstanz ermittelt.

Bei den Kontrollversuchen betrug das Gewicht von 400 Gerstensamen, bevor sie noch zum Keimungsprozeß herangezogen wurden, 16,2733 g, das Trockensubstanzgewicht 14,4503 g. Das Gewicht der 400 Samen, welche der Einwirkung der Radiumemanation ausgesetzt waren, belief sich auf 16,0266 g, das Trockensubstanzgewicht auf 14,3958 g.

Die Menge der Hexosen auf Glucose berechnet von 400 Samen war folgende:

Bei dem Kontrollversuche ohne Radiumemanationswirkung nach 5tägigem Keimungsprozeß betrug sie 0,406 g, oder 2,5%, bei dem Versuche im Emanatorium 0,897 g, oder 5,6%.

Nun schreiten wir zum zweiten Versuche.

Bei dem Kontrollversuche ohne Radiumemanationseinwirkung bezifferte sich das Gewicht von 400 Samen vor dem Versuche auf 16,094 g, das Trockensubstanzgewicht auf 14,1194 g. Unter Einfluß der Radiumemanation betrug das Gewicht von 400 Samen vor dem Versuche 16,0267 g, das Trockensubstanzgewicht 13,997 g. Bei dem Kontrollversuche nach 5tägigem Keimungsprozeß betrug die Menge der Hexosen auf Glucose

berechnet 0,5 g, oder 3,1%, jene unter Einwirkung der Radiumemanation 0,837 g, oder 5,2%.

Was die Bestimmung der Stärke betrifft, wurde diese nach der modifizierten Methode nach Lintner bestimmt. Die Gerstensamen wurden zermahlen, davon 2,5 g abgewogen und in 100-ccm-Kolben gegeben. Dazu wurden 5 ccm 96proz. Alkohol, 10 ccm destilliertes Wasser und 20 ccm konz. Chlorwasserstoffsäure zugesetzt. Nach 30 Minuten wurden wieder 50 ccm Chlorwasserstoffsäure vom spez. Gew. von 1,125 und 4 ccm 8proz. Phosphorwolframsäure zugefügt und der Inhalt des Kolbens mit Chlorwasserstoffsäure vom spez. Gew. von 1,125 bis zur Marke gefüllt. Das Filtrat wurde dann polarisiert. Die gefundenen Zahlen sind nachstehende:

Vor dem Versuche wurde in den Gerstensamen 58,4% Stärke gefunden, was 59,07% Trockensubstanz entspricht. Nach 5tägiger Keimung wurden bei dem Kontrollversuche 58,2%, unter Einfluß der Radiumemanation 49,2% Stärke in der Trockensubstanz gefunden. Der Verlust an Stärke, in Prozenten ausgedrückt, beträgt 15,46%. In einem anderen speziellen Versuche wurde eine um 9% kleinere Menge Stärke gefunden als vor dem Versuche. Daraus erhellt, daß durch die Einwirkung der Polysaccharide spaltenden Enzyme eine Hydrolyse der Stärke stattgefunden hat.

Durch die Amylase wurde die Stärke durch einen hydrolytischen Prozeß in ihre nächst niederen Spaltprodukte Dextrin, Maltose und Glucose zerlegt.

Nun treten wir zum Studium der Wirkung der Radiumemanation auf den Abbau der Eiweißstoffe. Die Versuche wurden in derselben Weise ausgeführt, wie bereits früher angedeutet wurde, nur wurden anstatt 400 Samen 500 Samen im Gewichte von 20,843 g benutzt.

Das Gewicht von 500 Samen vor dem Versuche betrug:

Bei dem Kontrollversuche 20,843 g,
der Gesamtstickstoffgehalt in der Trockensubstanz 1,89%.

Das Gewicht von 500 Samen belief sich vor dem Versuche auf:

In den Emanatorien 20,516 g,
der Gesamtstickstoffgehalt in der Trockensubstanz . . 1,89%.

Vor dem Versuche befanden sich in 100 g der Gerste:

Amidstickstoff 0,512 g
Diaminostickstoff 0,304 g
Monoaminostickstoff 0,914 g
Gesamtstickstoff 1,89%.

Nach 5 tägiger Keimung waren in 100 g Gerste zugegen:

Bei dem Kontrollversuche:

Amidstickstoff 0,608 g
Diaminostickstoff 0,354 g
Monoaminostickstoff 0,803 g
Gesamtstickstoff 1,89%.

In den Emanatorien:

Amidstickstoff	0,908 g
Diaminostickstoff	0,261 g
Monoaminostickstoff	0,622 g
Gesamtstickstoff	1,89%

Diese Zahlen dokumentieren, daß durch Einwirkung der Radiumemanation sich eine bedeutende Menge von Amidstickstoff gebildet hat.

Vom Gesamtstickstoff 1,89 g waren in der ursprünglichen Gerste 0,512 g Amidstickstoff vorhanden, also in Prozenten ausgedrückt 27,08.

Bei dem Kontrollversuche haben sich nach 5 tägiger Keimung 0,608 g von Amidstickstoff gebildet, also vom Gesamtstickstoff 32,16%.

Unter Einwirkung von Radiumemanation wurden 0,908 g Amidstickstoff gefunden, also vom Gesamtstickstoff 48,04%. Es ergab sich also unter Einwirkung der Radiumemanation im Vergleiche zur ursprünglichen Gerste eine Differenz von 0,396 g Amidstickstoff oder 77,34%, im Vergleiche zum Kontrollversuche eine Differenz von 0,3 g oder 49,34%.

Man sieht hier einen bedeutenden Einfluß der Radiumemanation auf den Abbauprozeß der Proteinstoffe durch die eiweißspaltenden Enzyme.

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß die Reservestoffe der Frucht der Gerste, und zwar die Eiweißstoffe und die Stärke, welche in Form von Kolloiden in dem Embryon und Endosperm usw. vorhanden sind, bei Einwirkung der Radioaktivität durch die hydrolytischen Enzyme viel energischer abgebaut werden, als in den Kontrollversuchen, wo die Radioaktivität nicht zur Wirkung gekommen ist. Die Dynamik der Enzymwirkung ist hier durch die Radioaktivität, namentlich bei den Eiweißstoffen zur vollen Geltung gelangt. Die Kinetik der Wirkung der proteolytischen Enzyme zeichnet sich namentlich durch große Quantitäten von Amidstickstoff aus. Vom Gesamtstickstoff wurde durch die Radiumemanation während 5 tägiger Einwirkung 48,04% Amidstickstoff gebildet, bei dem Kontrollversuch bloß 32,16%. Interessant ist die spezifische Wirksamkeit der Amylase auf die Bildung von Hexosen, welche sich jedenfalls sehr günstig bei

Radiumemanation erwiesen hat. Die glucolytischen Enzyme kommen, wie wir gefunden haben, durch den Einfluß der Radiumemanation zur vollen Wirksamkeit. Die Dynamik der enzymatischen Prozesse, welche sich durch eine große Energie durch die Radiumwirkung auszeichnet, übt auf den gesamten Bau- und Betriebsstoffwechsel des Pflanzenorganismus bei weiterer Entwicklung einen großen Einfluß aus.

Einfluß der Radioaktivität auf den Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanzen.

Über die Einwirkung der radioaktiven Wässer auf die Zellvermehrung und das Wachstum der Pflanzen haben wir die ersten Versuche in St. Joachimsthal im Jahre 1912 ausgeführt. Wir benutzten damals Keimlinge, die sich in radioaktivem und nicht-radioaktivem Wasser entwickelt haben. Nach raschem Transport nach Prag wurde zu dem radioaktiven oder nichtradioaktiven Wasser pro Liter 1 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,30 g KH_2PO_4 , 0,25 g KCl und 0,25 g MgSO_4 zugesetzt. Das radioaktive Wasser hatte 300 ME pro 1 Liter, wovon 320 ccm pro 1 Vegetationsgefäß verwendet wurden. Demgemäß befanden sich also in 1 Vegetationsgefäß 96 ME $38\,496 \cdot 10^{-12} = 0,000038$ mg Ra. Da die Radioaktivität stetig abnimmt, kann man rechnen, daß sich die Pflanzen während 46 Vegetationstagen nur 20 Tage lang unter dem Einfluß der Radiumemanation entwickelten, die restlichen 26 Tage aber schon ohne derselben, denn die Aktivität sinkt binnen 20 Tagen auf 1% der ursprünglichen Höhe. Nachdem das radioaktive Wasser jeden 5. Tag neu zugeführt wurde, so übten während der ganzen Vegetationsdauer ca. 384 ME = $153\,984 \cdot 10^{-12} = 0,0001539$ mg Ra ihren Einfluß auf eine Pflanze aus. Pro 1 Pflanze und Tag ergibt das 19 ME = $7619 \cdot 10^{-12} = 0,0000076$ mg Ra. Nach 46 Vegetationstagen besaßen 10 Pflanzen folgendes Trockensubstanzgewicht:

	In radioakt. Wasser:	In nichtradioakt. Wasser:
<i>Pisum arvense</i>	6,873 g	2,137 g
<i>Vicia faba</i>	12,887 g	6,009 g
<i>Lupinus angustifolius</i>	3,793 g	1,845 g
<i>Hordeum distichum</i>	9,085 g	0,906 g.

Die Differenzen in dem Gewicht der Trockensubstanz der Pflanzenmasse, die bei Gegenwart von radioaktivem Wasser

im Vergleiche zu dort, wo nichtradioaktives Wasser zur Verwendung gelangte, erzielt wurden, sind in der Tat ins Auge fallend.

Wir haben diese Versuche in Franzensbad, das ja nur $\frac{1}{2}$ Stunde von Brambach entfernt ist, mit Brambacher Wasser, welches 2100 ME pro 1 l = $842,100 \cdot 10^{-12} = 0,000842$ mg Ra hat, wiederholt. Auch mit Franzensbader Wasser mit 100—150 ME pro 1 l = $40\ 100 \cdot 10^{-12} = 0,000040$ mg Ra bis $60\ 150 \cdot 10^{-12} = 0,000060$ mg Ra stellten wir Versuche an. Das Arrangement dieser Versuche war das gleiche wie jenes bei den schon erwähnten Versuchen mit Joachimsthaler Wässern, nur mit dem einzigen Unterschiede, daß die Keimpflanzen während der ganzen Vegetationszeit in radioaktivem Wasser zur Entwicklung gebracht wurden. Es befanden sich in 700 ccm Nährlösung 70 ME = $28\ 070 \cdot 10^{-12} = 0,000028$ mg Ra. Selbstredend entweicht ja die Radioaktivität des Wassers, und so fanden wir am 1. Tag 70 ME pro 1 l, nach 2 Tagen nur mehr 52 ME, den 3. Tag nur schon 36 ME, und nach 4 Tagen 19 ME; infolgedessen wurde jeden 5. Tag die Emanation erneuert. Es kann angenommen werden, daß während der Versuchsdauer, und zwar in 25 Tagen, ca. 350 ME = $140\ 350 \cdot 10^{-12} = 0,000140$ mg Ra auf eine Pflanze wirkten. Pro eine Pflanze und pro Tag entfallen daher 14 ME = $5614 \cdot 10^{-12} = 0,0000056$ mg Ra.

Wir haben diese Experimente mit Linse (*Lens esculenta*), Erbse (*Pisum sativum*) und mit Weizen (*Triticum vulgare*) bei einer Temperatur von 18—20° C ausgeführt. Nach 25 Tagen wurden pro 100 Pflanzen nachstehende Mengen Pflanzenmasse auf Trockensubstanz berechnet geerntet:

	In radioaktivem Wasser:	In nichtradioak- tivem Wasser:
Bei <i>Lens esculenta</i>	6 g	3,7 g
„ <i>Pisum sativum</i>	21 g	9,7 g
„ <i>Triticum vulgare</i>	8 g	3,1 g.

Aus diesen Resultaten ist ersichtlich, daß durch die Anwendung von radioaktivem Wasser von 70 ME = $28\ 070 \cdot 10^{-12} = 0,000028$ mg Ra eine um 62—158% größere Menge an Pflanzenmasse geerntet wurde.

Wir stellten weiter auch Wasserkulturversuche bei Gegenwart aller Nährstoffe in unserem Glashause an mit 30, 60, 300 und 600 ME pro 1 Liter Nährlösung. Jeden 5. Tag wurde die Emanation erneuert. Diese Versuche, die mit Buchweizen (*Polygonum fagopyrum*) ausgeführt wurden, dauerten 52 Tage. Pro eine Pflanze entfielen demgemäß während 52 Tagen bei Anwendung von 300 ME = $120\ 300 \cdot 10^{-12} = 0,00012$ mg Ra, bei Benutzung von 600 ME = $240\ 600 \cdot 10^{-12} = 0,00024$ mg Ra.

Pro 100 Pflanzen betrug das Gewicht der Pflanzenmasse in der Trockensubstanz:

In radioaktivem Wasser mit 30 ME	13,54 g
„ „ „ „ 60 ME	19,54 g
in nichtradioaktivem Wasser	9,45 g.

Durch den Einfluß des radioaktiven Wassers von 600 ME pro 1 Pflanze während der ganzen Entwicklung wurde der Ertrag um 106,8% und durch Anwendung des Wassers mit 300 ME um 43,2% erhöht.

Bei nicht intensiver Einwirkung der Radioaktivität, wo im ersten Falle pro Tag und Pflanze bloß 5,76 ME = $2309 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000023 mg Ra, im zweiten Falle 11,53 ME = $4623 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000046 mg Ra einwirkten, finden wir einen äußerst günstigen Einfluß auf die Bildung neuer lebender Pflanzenmasse.

Interessant ist ferner, daß eine Dosierung von 300 und 600 ME pro 1 Tag und 1 Pflanze schon nach 50 Vegetationstagen einen schädlichen Einfluß ausgeübt hatte¹⁾. Auf jede Pflanze wirkten in diesem Falle während 50 Vegetationstagen in der ersten Gruppe 15 000 ME = $6\ 015\ 000 \cdot 10^{-12}$ = 0,006 mg Ra und in der zweiten Gruppe bis 30 000 ME = $12\ 030\ 000 \cdot 10^{-12}$ = 0,012 mg Ra ein. Bei einer stärkeren Radioaktivität, wo pro Pflanze und Tag 300 ME $120\ 300 \cdot 10^{-12}$ = 0,00012 mg Ra und im zweiten Falle 600 ME $240\ 600 \cdot 10^{-12}$ = 0,00024 mg Ra einwirkten, wurde durch die Aktivität schon eine toxische Wirkung verursacht.

Nach 50 Vegetationstagen wurde in der Nährlösung mit 600 ME pro Tag und Pflanze die Entwicklung von *Polygonum fagopyrum* sistiert, und nach 64 Tagen ist in den Chlorophyllapparaten schon ein Abbauprozess beobachtet worden. Das Gewicht der Trockensubstanz von 100 Pflanzen betrug bei Anwendung von 300 ME pro Tag und Pflanze 5,34 g, bei Anwendung von 600 ME 2,06 g. Wie wir also sehen, hat die ganze Bildung der Pflanzenmasse eine starke Depression durch die Einwirkung der Radioaktivität erfahren. In nichtradioaktivem

¹⁾ Die Nährlösung wurde jeden Tag erneuert, und in der Nährlösung befanden sich 300 oder 600 ME. Bei den früheren Versuchen wurde jeden 4. oder 5. Tag die Nährlösung erneuert, und die Intensität der Radioaktivität ist nur annähernd angedeutet.

Wasser betrug das Trockensubstanzgewicht von 100 Pflanzen 9,45 g.

Eine neue Serie der Versuche wurde ausgeführt in den Vegetationsgefäßen. Bei diesen Versuchen hat es sich namentlich darum gehandelt, zu eruieren, wie die Radiumemanation auf den Pflanzenorganismus wirkt, wenn der Organismus reich an Kaliumion ist, wie zum Beispiel die Zuckerrübe. Zu diesem Behufe stellten wir weitere Versuche in großen Vegetationsgefäßen mit Sand und Torf an, wo die Zuckerrübe bis zu ihrer vollen Entwicklung weiter beobachtet wurde. Das Gemisch von Sand und Torf, in welchem sich die Zuckerrübe entwickelte, hatte eine Aktivität von $0,385 \cdot 10^{-12}$ pro Gramm. Die Zuckerrübe gedeiht bekanntlich nicht gut im bloßen Sand, weshalb wir als Bodenmaterial ein Gemisch von Sand und Torf verwendeten. Es wurden 80% von Sand mit 20% des Torfes untereinander gut vermengt und mit dem Gemisch die Vegetationsgefäße gefüllt. Jedes Gefäß erhielt 18 kg, und in jedem Gefäß befand sich eine Pflanze. Die Vegetationsgefäße waren glasierte zylindrische Behälter aus Ton, 35 cm hoch und 27 cm im lichten Durchmesser. Diese Experimente wurden in einem Glashause durchgeführt, in welchem auf Schienen bewegliche kleine Rollwagen vorhanden waren, welche die Vegetationsgefäße trugen.

Bei günstigem Wetter wurden diese lowryartigen Wagen mit den Vegetationsgefäßen in einen unmittelbar an das Glashaus sich anschließenden Raum, der zum Zwecke des Schutzes vor allerlei Schädlingen allseitig von Wänden aus dichtem Drahtgeflecht abgeschlossen ist, herausgefahren.

In der Nähe des Bodens war jedes dieser zylindrischen Gefäße mit einer seitlichen Öffnung versehen, die einen einmal gebohrten Stopfen trägt, in dessen Bohrung eine, im rechten Winkel gebogene Glasröhre steckt, um die Luftzirkulation zu ermöglichen. 40 Vegetationsgefäße wurden in 4 Gruppen geteilt. Die erste und zweite Gruppe, bestehend aus je 10 Vegetationsgefäßen, dienten zu Kontrollversuchen. Diese beiden Gruppen wurden mit allen Nährstoffen, nur nicht mit Kalium, gedüngt, und zwar erhielt jedes Vegetationsgefäß 1,6 g Stickstoff in Form von Natriumnitrat, 0,8 g Phosphorsäureanhydrid in Form von Monocalciumphosphat, 1 g Magnesiumsulfat, 1,5 g Natriumchlorid, 0,5 g Ferrophosphat, 0,1 g Aluminiumsulfat und

Tabelle I.

Gewicht von 10 Zuckerrübenexemplaren in g	Durchschn. Gewicht von 1 Zuckerrübenexemplar in g	Zuckergehalt der Zuckerrübe in %
I. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 1051,6	Blätter 105,16	14,83
Wurzeln 1293,6	Wurzeln 129,36	
Trockensubstanz.		
Blätter 216,62	Blätter 21,66	69,95
Wurzeln 274,24	Wurzeln 27,42	
II. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 963,4	Blätter 96,34	13,18
Wurzeln 1121,7	Wurzeln 112,17	
Trockensubstanz.		
Blätter 187,86	Blätter 18,78	56,56
Wurzeln 261,35	Wurzeln 26,13	
III. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 2988,4	Blätter 298,84	17,25
Wurzeln 5672,0	Wurzeln 567,20	
Trockensubstanz.		
Blätter 519,98	Blätter 51,99	84,97
Wurzeln 1151,41	Wurzeln 115,14	
IV. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 2110,7	Blätter 211,07	13,62
Wurzeln 3291,6	Wurzeln 329,16	
Trockensubstanz.		
Blätter 380,13	Blätter 38,01	69,84
Wurzeln 641,86	Wurzeln 64,18	

0,1 g Mangansulfat. Diese angewandten Salze waren alle chemisch rein. Vor Anwendung dieser Nährstoffe wurden bei diesem Versuche pro Vegetationsgefäß 15 g Calciumcarbonat zugesetzt.

Die dritte und vierte Gruppe, bestehend wiederum aus je 10 Vegetationsgefäßen, wurde mit allen Nährstoffen gedüngt, und zwar erhielt jedes einzelne Vegetationsgefäß 1,6 g Stickstoff in Form von Natriumnitrat, 0,8 g Phosphorsäureanhydrid in Form von Monocalciumphosphat, 1 g Magnesiumsulfat, 1,5 g Natriumchlorid, 0,5 g Ferrophosphat, 0,1 g Aluminiumsulfat,

0,1 g Mangansulfat und 2,4 g Kaliumoxyd in Form von chemisch reinem Kaliumchlorid. Die benutzten Salze waren wieder alle chemisch rein. Die erste Gruppe diente zur Kontrolle und wurde täglich mit dem gleichen Quantum reinen Wasser begossen. Zur zweiten Gruppe wurde jeden Tag radiumemanationhaltiges Wasser von $30 \text{ ME} = 12\,030 \cdot 10^{-12} = 0,000012 \text{ mg Ra}$ zugesetzt. Zur dritten Gruppe wurde täglich bloß reines Wasser hinzugefügt, und zur vierten Gruppe wurden wieder dieselben Quantitäten Radiumemanation von 30 ME zugesetzt, wie bei der zweiten Gruppe. Das Radiumemanationswasser wurde seit der ersten Entwicklung der Pflanze zugesetzt, und zwar vom 10. V. bis zum 28. IX., also 172 Tage lang.

Für jede Gruppe, und zwar für die zweite und vierte Gruppe, wurden auf 10 Zuckerrübenpflanzen pro Gruppe $49\,917 \text{ ME} = \text{ca. } 20\,016\,717 \cdot 10^{-12} = 0,02 \text{ mg Ra}$ angewendet, so daß auf 1 Pflanze bzw. 1 Vegetationsgefäß $4991 \text{ ME} = 2\,001\,671 \cdot 10^{-12} = 0,002 \text{ mg Ra}$ entfielen.

Wenn wir in Betracht ziehen, daß die Vegetationszeit 172 Tage beträgt, so entfallen pro Tag und Pflanze ca. $29 \text{ ME} = 11\,629 \cdot 10^{-12} = 0,0000116 \text{ mg Ra}$.

Aus diesen Versuchsergebnissen ist ersichtlich, daß schon in der zweiten Gruppe, wo die Mechanik der Radiumemanation zur Wirkung gekommen ist, der Bau- und Betriebsstoffwechsel eine kleine Depression erfahren hat. Man sieht das ganz deutlich, nicht nur in dem Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und Wurzeln, sondern auch im Zuckergehalt. Bei der Gruppe I und II wurde überhaupt das Kalium nicht verwendet und die Rübe lebte und entwickelte sich bloß aus dem kleinen Quantum Kalium, das im Nährmedium im Boden vorhanden war. In dem Nährmedium, wo Kalium als Nährstoff nicht zugesetzt wurde, hat sich die Zuckerrübe nicht in dem Maße entwickelt, wie bei Gruppe III, wo Kalium in genügenden Mengen vorhanden war. Bei Gruppe II, wo auf 1 Pflanze $4991 \text{ ME} = 2\,001\,671 \cdot 10^{-12} = 0,002 \text{ mg Ra}$ entfielen, war schon ein Rückgang in der Entwicklung konstatierbar. Es ergab sich bei den Kontrollversuchen ein Trockensubstanzgewicht der Blätter pro 10 Pflanzen von 216,6 g, unter Einwirkung der Radiumemanation ein solches von 187,8 g, was eine Differenz von 28,8 g ausmacht. Das Trockensubstanzgewicht der Wurzeln betrug bei den Kontrollversuchen pro

10 Pflanzen 274,24 g, unter Radiumemanationseinwirkung 261,3 g, also im letzteren Fall um 12,94 g mehr. Der Zuckergehalt in der Trockensubstanz belief sich bei den Kontrollversuchen auf 69,95%, durch den Mechanismus der Radiumemanation ist er auf 56,56% gesunken, also um 13,39%.

Noch deutlicher treten diese Differenzen bei Gruppe III und IV zutage, wo das Kalium im Boden reichlich vorhanden war. Bei Gruppe IV zeigte sich schon eine bedeutende Depression in dem Bau- und Betriebsstoffwechsel durch die Radiumemanation. Es stellte sich ein deutlicher Rückgang in der Trockensubstanz der Blätter und der Wurzeln ein, auch der Zuckergehalt ist gesunken. Bei Gruppe III betrug das Trockensubstanzgewicht der Blätter pro 10 Pflanzen 519,98 g, jenes der Wurzeln 1151,41 g, unter Einwirkung der Radiumemanation das der Blätter 380,13 g, der Wurzeln 641,86 g. Durch die Radiumemanation wurde ein um 139,85 g kleineres Trockensubstanzgewicht der Blätter und ein um 509,55 g kleineres Trockensubstanzgewicht der Wurzeln geerntet. Der Zuckergehalt in der Trockensubstanz belief sich bei Gruppe III auf 84,97%, unter Einwirkung der Radiumemanation auf 69,84%, ist also im letzteren Falle um 15,13% gesunken gegenüber der dritten Gruppe, wo keine Radiumemanation zur Einwirkung gelangte.

Wir haben die Versuche weiter fortgesetzt, um uns zu überzeugen, ob die Resultate richtig sind. Für diese Versuche haben wir aber bloß zwei Gruppen angestellt. Für die erste und zweite Gruppe wurden alle Nährstoffe verwendet, also auch das Kalium in genügendem Maße. Es wurden 1,6 g Stickstoff in Form von Natriumnitrat, 0,8 g Phosphorsäureanhydrid in Form von Monocalciumphosphat, 1 g Magnesiumsulfat, 1,5 g Natriumchlorid, 0,5 g Ferrophosphat, 0,1 g Aluminiumsulfat, 0,1 g Mangansulfat und 2,4 g Kaliumoxyd in Form von Kaliumchlorid zugesetzt. Für 10 Vegetationsgefäße, in welchen sich 10 Pflanzen befanden, wurden während der ganzen Vegetationszeit, die sich auf 175 Tage erstreckte, zusammen 52 800 ME angewendet, also pro 1 Pflanze und Vegetationsgefäß 5280 ME und pro 1 Tag ca. $30 \text{ ME} = 12 030 \cdot 10^{-12} = 0,000012 \text{ mg Ra}$.

Auch die Resultate dieser Versuche (Tab. II) haben gezeigt, daß durch die Radiumemanation eine deutliche Depression in

Tabelle II.

Gewicht von 10 Zuckerrübenexemplaren in g	Durchschn. Gewicht von 1 Zuckerrübenexemplar in g	Zuckergehalt der Zuckerrübe in %
I. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 2646,8	Blätter 264,68	17,37
Wurzeln 6323,3	Wurzeln 632,33	
Trockensubstanz.		
Blätter 447,30	Blätter 44,73	77,1
Wurzeln 1424	Wurzeln 142,4	
II. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 1860	Blätter 186	14,19
Wurzeln 4770	Wurzeln 477	
Trockensubstanz.		
Blätter 425,94	Blätter 42,59	58,3
Wurzeln 1159,11	Wurzeln 115,91	

der ganzen Entwicklung stattgefunden hat, und zwar nicht nur in dem Trockensubstanzgewicht der Blätter und Wurzeln, sondern auch im Zuckergehalt. Es ergab sich bei der ersten Gruppe ein Trockensubstanzgewicht der Blätter von 10 Pflanzen von 447,30 g, der Wurzeln von 1424 g, bei der zweiten Gruppe belief sich pro 10 Pflanzen das Trockensubstanzgewicht der Blätter auf 425,94 g, das der Wurzeln auf 1159,11 g, so daß unter Einwirkung der Radiumemanation bei der zweiten Gruppe ein um 21,36 g kleineres Trockensubstanzgewicht der Blätter und ein um 264,89 g kleineres Trockensubstanzgewicht der Wurzeln zu verzeichnen war. Der Zuckergehalt in der Trockensubstanz bezifferte sich bei der ersten Gruppe auf 77,1%, bei der zweiten Gruppe auf 58,3%, also in letzterem Falle war er um 18,8% niedriger. Durch die Radiumemanation wurde der gesamte Bau- und Betriebsstoffwechsel beeinflußt.

Wir haben aber noch eine dritte Reihe der Versuche ausgeführt, und zwar in einem gewöhnlichen angeschwemmten Lehmboden, der eine Radioaktivität von $0,46 \cdot 10^{-12}$ aufwies. Jedes Vegetationsgefäß erhielt 1,6 g Stickstoff in Form von Natriumnitrat, 0,8 g Phosphorsäureanhydrid in Form von Superphosphat und 2,5 g Kaliumoxyd in Form von chemisch reinem Kaliumchlorid. Die Vegetationsperiode dauerte

168 Tage. Für die zweite Gruppe der Vegetationsgefäße wurden pro 10 Vegetationsgefäße 35 600 ME angewendet, so daß auf 1 Vegetationsgefäß, oder 1 Pflanze 3560 ME und pro 1 Tag ca. 21 ME = $8421 \cdot 10^{-12} = 0,0000084$ mg Ra entfielen. Es wurden folgende Resultate erzielt (siehe Tab. III).

Tabelle III.

Gewicht von 10 Zuckerrübenexemplaren in g	Durchschn. Gewicht von 1 Zuckerrübenexemplar in g	Zuckergehalt der Zuckerrübe in %
I. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 2863,8	Blätter 286,38	18,63
Wurzeln 5783,2	Wurzeln 578,32	
Trockensubstanz.		
Blätter 524,07	Blätter 52,40	80,3
Wurzeln 1346,7	Wurzeln 134,67	
II. Gruppe.		
Frische Substanz.		
Blätter 1654,2	Blätter 165,42	14,57
Wurzeln 4030,8	Wurzeln 403,08	
Trockensubstanz.		
Blätter 425,87	Blätter 42,58	64,7
Wurzeln 906,93	Wurzeln 90,69	

Bei der ersten Gruppe wurde ein Trockensubstanzgewicht der Blätter von 10 Pflanzen von 524,07 g, der Wurzeln von 1346,7 g geerntet. Bei der zweiten Gruppe betrug das Trockensubstanzgewicht der Blätter pro 10 Pflanzen 425,87 g, der Wurzeln 906,93 g; demgemäß ist das Trockensubstanzgewicht der Blätter um 98,20 g, das der Wurzeln um 439,77 g bei der zweiten Gruppe gesunken. Der Zuckergehalt in der Trockensubstanz betrug bei der ersten Gruppe 80,3%, bei der zweiten Gruppe 64,7%, ist also in letzterem Falle ebenfalls um 15,6% kleiner.

Aus allen diesen Versuchsergebnissen geht hervor, daß der Mechanismus der Radiumwirkung den ganzen Bau- und Stoffwechsel schädlich beeinflußt hat. Bei allen 3 Versuchen ergab sich eine deutliche Differenz in der produzierten Pflanzenmasse und auch im Zuckergehalt. Diese Versuche haben wir unter Einwirkung von Uran und Thorium, und zwar 0,3011–3,011 mg Uran in Form von Uranylнитrat, oder

1,97—7,9 mg Thorium in Form von Thoriumnitrat und Thoriumchlorid pro 1 kg Boden angestellt. Um das Uran und Thorium nicht in unlösliche Form zu überführen, wurden keine Nährstoffe angewendet, bloß Ammoniumnitrat, und zwar 2 g Stickstoff in Form von Ammoniumnitrat pro 1 Vegetationsgefäß. Alle die von uns in einem Gemisch, bestehend aus Torf und Sand, ausgeführten Versuche dokumentierten, daß das Uran in stärkerer Dosis wie 2—3 mg pro 1 kg Boden auf die Entwicklung schädlich eingewirkt hat; bei einer schwachen Dosis waren gar keine Unterschiede in der Entwicklung der Rübe gegenüber jener bei dem Kontrollversuche zu bemerken. Dasselbe wurde auch bei Thorium gefunden.

Bei einer Menge von 7,9 mg Thorium pro 1 kg Boden, ebenso bei 5,92 mg desselben war schon eine starke Depression in der Entwicklung der Zuckerrübe zu konstatieren. Das gleiche war auch im Zuckergehalt wahrzunehmen. Wir fanden, daß der Zuckergehalt in dem Kontrollversuche, wo kein Thorium zur Anwendung gelangte, in der Trockensubstanz 78,2% betrug, während er bei Thoriumbenützung zwischen 58,4—62,5% schwankte. Die gleichen Beobachtungen machten wir auch bei Anwendung von Uranpecherz (in 1 kg sind 0,00013 g Radium enthalten) und auch mit Erzlaugrückständen (die pro 1 kg 0,000396 g Radium aufweisen). In dieser Beziehung haben wir bei der Zuckerrübe, Kartoffel und Weinrebe eine exklusive Stellung gefunden. Alle 3 Pflanzen assimilieren bekanntlich große Quantitäten von Kaliumion.

Ganz andere Erscheinungen traten bei anderen Kulturpflanzen zutage. Wir haben diese Versuche mit Gerste (*Hordeum distichum*), Buchweizen (*Polygonum fagopyrum*), Mohn (*Papaver somniferum*), Lupine (*Lupinus angustifolius*), Pferdebohne (*Vicia faba*) ausgeführt und gefunden, daß die natürliche Radioaktivität, welche durch Joachimsthaler Uranpecherz, Erzlaugrückständen und durch die natürlichen radioaktiven Wasser entstanden ist, in schwacher Dosis einen äußerst günstigen Einfluß auf die Entwicklung ausgeübt hat. Auch die künstliche Radioaktivität, die durch Emanation des Radiumchlorids erzeugt wurde, hat auf die Bildung neuer lebender Pflanzenmasse vorteilhaft gewirkt.

Ich führe hier einige Versuche an, die im Glashause in großen Vegetationsgefäßen angestellt wurden.

I. Versuche mit Mohn (*Papaver somniferum*). Zu diesem Zwecke wurden 20 Vegetationsgefäße gefüllt mit Lehmboden verwendet. In einem Vegetationsgefäß befanden sich 8 kg Boden. Zu jedem Vegetationsgefäß wurden 1 g Stickstoff in Form von Natriumnitrat, 0,8 g Phosphorsäure in Form von Monocalciumphosphat und 1 g Kaliumoxyd in Form von Kaliumchlorid für beide Gruppen angewendet. Der Boden besaß eine Radioaktivität von $0,46 \cdot 10^{-12}$. 10 Vegetationsgefäße wurden mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen, während die übrigen 10 Vegetationsgefäße zur Kontrolle dienten. Zu den Vegetationsgefäßen, in denen sich 35 Pflanzen befanden, wurden während der ganzen Vegetationszeit, die sich auf 108 Tage erstreckte, 88 200 ME, also pro 1 Pflanze 2500 ME = $1\,002\,500 \cdot 10^{-12}$ = 0,001 mg Ra und pro Tag ca. 23 ME = $9223 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000092 mg Ra benutzt. An Trockensubstanz wurde gerntet:

	Samen	Stroh	Ganze Pflanzen
Mit radioaktivem Wasser	35,33 g	83,58 g	118,91 g
Ohne radioaktives Wasser	16,25 g	63,08 g	79,33 g
Differenz für Radium +	19,08 g	20,50 g	39,58 g
Differenz in % +	117,4%	32,4%	49,8%

Es wurde ein Mehrertrag an Pflanzenmasse erzielt, und zwar an Samen 19,08 g, an Stroh 20,50 g. Demnach ergibt sich also beim Samen ein Mehrertrag in Prozenten ausgedrückt von 117,4 und beim Stroh von 32,4%.

II. Nun schreiten wir zu dem Versuch mit *Lupinus angustifolius*, der in derselben Weise ausgeführt wurde, wie der frühere. Die Versuchszeit dauerte hier 135 Tage. 10 Vegetationsgefäße, in denen sich 48 Pflanzen befanden, wurden 96 000 ME, also einer Pflanze 2000 ME = $800\,000 \cdot 10^{-12}$ = 0,0008 mg Ra, also pro 1 Pflanze und Tag 14 ME = $5614 \cdot 10^{-12}$ = 0,0000056 mg Ra zugeführt, während 10 Vegetationsgefäße zur Kontrolle dienten. —

Der Ertrag an Pflanzenmasse in der Trockensubstanz ausgedrückt war nachstehender:

	Samen	Stroh	Ganze Pflanzen
Mit radioaktivem Wasser	224,91 g	451,25 g	676,16 g
Ohne radioaktives Wasser	136,58 g	284,16 g	420,75 g
Differenz für Radium +	88,33 g	167,09 g	255,41 g
Differenz in % +	64,6%	58,8%	60,7%

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß wir einen Mehrertrag beim Samen von 88,33 g, beim Stroh von 167,09 g zu verzeichnen haben. In Prozente umgerechnet ist das beim Samen 64,6%, beim Stroh 58,8%.

Es ergibt sich daher aus diesen beiden Versuchen, daß durch das Begießen mit radioaktivem Wasser entschieden ein äußerst günstiger Effekt bei der Samenproduktion erzielt worden ist.

III. Ebenso günstige Resultate erzielten wir bei unserem Versuch mit Pferdebohne (*Vicia faba*), der genau so angestellt wurde, wie der I. Versuch. Diese Versuche wurden in 16 Vegetationsgefäßen ausgeführt. Eine Gruppe, bestehend aus 8 Vegetationsgefäßen, diente als Kontrollversuche, die andere Gruppe wurde mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen. Als Nährstoffe wurden 5 g Calciumsulfat und 5 g Kaliumphosphat angewendet. Die Vegetationszeit dauerte 140 Tage, und es wurden 74 160 ME pro 8 Vegetationsgefäße, also pro 1 Vegetationsgefäß 9270 ME benutzt. In jedem Vegetationsgefäß befanden sich 5 Pflanzen, also pro 1 Pflanze $1854 \text{ ME} = 743 \text{ } 454 \cdot 10^{-12} = 0,00074 \text{ mg Ra}$, und pro Tag ca. $13 \text{ ME} = 5213 \cdot 10^{-12} = 0,0000052 \text{ mg Ra}$. Der Ertrag auf 10 Vegetationsgefäßen umgerechnet, war folgender:

	Samen	Stroh	Ganze Pflanzen
Mit radioaktivem Wasser .	223 g	351 g	574 g
Ohne radioaktives Wasser .	167 g	305 g	472 g
Differenz für Radium + .	56 g	46 g	102 g
Differenz in % +	33,53%	15,08%	21,61%

IV. Nun kommen wir zur Gerste (*Hordeum distichum*). Diese Versuche wurden ebenfalls in großen Vegetationsgefäßen mit 24 kg Lehm Boden pro Topf ausgeführt. 10 Vegetationsgefäße dienten wieder zur Kontrolle und 10 Vegetationsgefäße wurden mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen. Pro 1 Vegetationsgefäß wurden folgende Nährstoffe angewendet:

0,4 g N in Form von Natriumnitrat, 0,8 g P_2O_5 in Form von Monocalciumphosphat und 1,2 g K_2O in Form von Kaliumchlorid. Die Vegetationszeit dauerte 148 Tage und es wurden pro 10 Vegetationsgefäße 165 200 ME benutzt, so daß auf 1 Vegetationsgefäß, in welchem sich 8 Pflanzen befanden, 16 520 ME entfielen. Auf eine Pflanze kamen $2065 \text{ ME} = 827 \text{ } 664 \cdot 10^{-12} = 0,000827 \text{ mg Ra}$, pro Tag ca. $14 \text{ ME} = 5614 \cdot 10^{-12} = 0,0000056 \text{ mg Ra}$. Der Ertrag an Pflanzenmasse in Trockensubstanz ausgedrückt, war folgender:

	Frucht	Stroh	Ganze Pflanzen
Mit radioaktivem Wasser .	152,4 g	320 g	472,4 g
Ohne radioaktives Wasser .	104,3 g	241 g	345,3 g
Differenz für Radium + .	48,1 g	79 g	127,1 g
Differenz in % +	46,1%	32,7%	36,8%

Ferner haben wir noch andere Versuche in der Art ausgeführt, daß wir verschiedene Kulturpflanzen nach 65 Vegetationstagen in Vegetationsgefäßen im Glashaus zur Entwicklung brachten und mit einem Wasser von verschiedener Aktivität begossen. Wir konnten konstatieren, daß, sobald ein Vegetationsgefäß, in welchem sich 6—8 kg Erde befanden, mit einem Radiumwasser von 600 ME pro 1 Pflanze täglich begossen wurde,

sich schon nach 50—80 Vegetationstagen ein schädlicher Einfluß einstellte. Namentlich die Blätter der Zuckerrübe, der Kartoffel, der Weinrebe und des Tabaks waren angegriffen, das Chlorophyll war abgebaut und die Blätter haben eine rotbraune Farbe angenommen. Auch bei anderen Pflanzen konnte man nach 60 bis 100 Tagen der Behandlung mit Radiumwasser eine markant toxische Wirkung beobachten. Es waren dies die Gramineen, Leguminosen und Cruciferen, bei denen sich die Blätter rotbraun gefärbt haben, das Chlorophyll in dem Chlorenchym vollständig zersetzt wurde und man eine Plasmolyse beobachten konnte. Daraus ersieht man, daß es hauptsächlich darauf ankommt, die richtige Dosierung der Radiumemanation zu wählen, denn nur durch eine schwache Aktivität lassen sich überall mit Ausnahme bei gewissen Kalipflanzen gute Resultate erzielen.

Die Radiumemanation, welche bekanntlich ein Gas ist, zerfällt unter Abgabe von α -Strahlen. Die sich bildenden Zerfallsprodukte Radium *A*, *B*, *C*, *D*, *E* und *F* sind bekanntlich feste Körper, die sich dann nacheinander umwandeln und hierbei ebenfalls Strahlen emittieren. Alle die von uns angestellten Versuche zeigen, daß eine Radiumemanation in schwacher Aktivität und bei richtiger Dosierung die Karyokinese in der Zelle und überhaupt die Mechanik des ganzen Bau- und Stoffwechsels äußerst günstig beeinflußt. Auf Grund unserer Beobachtungen können wir erklären, daß die Radiumemanation nicht immer in gleichem Maße auf die Entwicklung und Stoffwechselprozesse der einzelnen Pflanzen einwirkt; es ist das ein ganz individuelles Verhalten aller Pflanzengattungen. Gewiß von großer physiologischer Bedeutung ist zu studieren, welche Dosis der Emanation, bzw. welches Optimum sich für den Organismus der Kulturpflanzen am besten eignet. Bestimmte Daten lassen sich freilich derzeit nicht anführen, da unsere Erfahrungen darin noch zu gering sind. Wir konnten ja die Beobachtung machen, daß bei gewissen Vegetationsfaktoren einige Pflanzen auf eine höhere Dosis, andere wieder auf eine schwache Dosierung reagieren. Aus unseren ganzen Studien ist ersichtlich, daß die Zuckerrübe eine eigentümliche Stellung unter allen Kulturpflanzen gegen die Radiumwirkung einnimmt.

Bei unseren Versuchen, wo wir für ein Zuckerrübenexemplar pro Tag ca. $29 \text{ ME} = 11\,629 \cdot 10^{-12} = 0,0000116 \text{ mg Ra}$, bei einem anderen Versuch täglich $30 \text{ ME} = 12\,030 \cdot 10^{-12} = 0,000012 \text{ mg Ra}$ und bei einem nächsten Versuch $21 \text{ ME} = 8421 \cdot 10^{-12} = 0,0000084 \text{ mg Ra}$ anwendeten, konnten wir beobachten, daß im Anfang, und zwar nach 30 Vegetationstagen keine Unterschiede zwischen den Kontrollpflanzen nachweisbar waren. Erst nach 60 Vegetationstagen blieben die Pflanzen in der Entwicklung gegen den Kontrollpflanzen etwas zurück. Nach 95 Vegetationstagen, also in der IV. Periode, konnte man schon eine Depression in der Entwicklung beobachten, welche sich in der V. Periode nach 118 Tagen und in der VI. Periode nach vollendeter Vegetation, also nach 145 Vegetationstagen, deutlich kennzeichnet.

Die Depression in der Bildung neuer lebender Masse ist tatsächlich für die Zuckerrübe und für alle anderen Kalipflanzen charakteristisch.

Wenn wir unsere Versuchsergebnisse vergleichen, finden wir, daß auf 100 g Trockensubstanz der gebildeten Pflanzenmasse während der ganzen Vegetationszeit bei der Zuckerrübe beim ersten Versuch $2672 \text{ ME} = 1,070\,472 \cdot 10^{-12} = 0,00107 \text{ mg Ra}$, bei dem anderen Versuch $3330 \text{ ME} = 1,335\,731 \cdot 10^{-12} = 0,0013 \text{ mg Ra}$ und beim letzten Versuch $4891 \text{ ME} = 1,961\,291 \cdot 10^{-12} = 0,00196 \text{ mg Ra}$ entfallen.

Wenn wir hier mit der Radioaktivität anderer Kulturpflanzen einen Vergleich ziehen, so ergibt sich, daß auf 100 g Trockensubstanz der produzierten Pflanzenmasse von *Vicia faba* $12\,890 \text{ ME} = 5,169\,291 \cdot 10^{-12} = 0,005169 \text{ mg Ra}$, von *Papaver somniferum* $74\,173 \text{ ME} = 29,743\,000 \cdot 10^{-12} = 0,0297 \text{ mg Ra}$, von *Lupinus angustifolius* $14\,200 \text{ ME} = 5,694\,200 \cdot 10^{-12} = 0,005694 \text{ mg Ra}$, und von *Hordeum distichum* $35\,000 \text{ ME} = 14,035\,000 \cdot 10^{-12} = 0,014 \text{ mg Ra}$ entfielen.

Daraus erhellt, daß auf 100 g Trockensubstanz der Zuckerrübe eine viel schwächere Dosierung zur Anwendung kam wie bei den anderen Kulturpflanzen, nachdem wir uns schon bei unseren früheren Versuchen überzeugt haben, daß die Radiumemanation schädlich auf die Entwicklung der Zuckerrübe wirkt. Es ist auch genau ersichtlich, wie empfindlich die Zuckerrübe gegen andere Kulturpflanzen ist, wo auf 100 g Trockensubstanz der gebildeten Pflanzenmasse die dreifache, bei Gerste die zehnfache, bei Mohn sogar die fünfzehnfache Menge Radiumemanation entfiel, als bei der Zuckerrübe. Das sind gewiß äußerst lehrreiche Beispiele, wie ungleich die Radioaktivität wirkt. Wir

konnten überhaupt beobachten, daß bei der Zuckerrübe, Kartoffel, Weinrebe und Tabak durch Einfluß der Radiumemanation das Zellprotoplasma viel früher getötet wurde als bei anderen Kulturpflanzen.

Die Zuckerrübe resorbiert, wie bekannt, bedeutende Quantitäten von Kaliumion. Nach unseren Versuchen¹⁾ wurden in den einzelnen Perioden von 1 Rübenpflanze folgende verschiedene Mengen an Kaliumoxyd resorbiert:

I. Periode	0,00003 g
II. „	0,0042 g
III. „	1,5024 g
IV. „	2,1020 g
V. „	2,3294 g
VI. „	2,3377 g

Also 1 Exemplar der Zuckerrübe bei einem Gewicht der Blätter und Stiele in der Trockensubstanz von 75,86 g und des Wurzelsystems von 138,55 g enthält 2,3377 g Kaliumoxyd. Das Kalium ist, wie ich schon früher hervorgehoben habe, radioaktiv. Nach Campbell ist das Ionisationsvermögen des Kaliums $\frac{1}{1000}$ der β - und γ -Aktivität des Urans. Die Beeinflussung der Radioaktivität auf das Wachstum und die Zellvermehrung der Zuckerrübe ruft gewisse formative Erfolge hervor. Die Rhythmik der Vegetationsprozesse gestaltet sich ganz anders, wie bei den anderen Kulturpflanzen. Wir müssen die Ursache der spezifischen Gestaltung des gesamten Bau- und Betriebsstoffwechsels nur zum Teil in der Radioaktivität des Kaliums suchen. Einen besonderen Einfluß auf die Wachstumstätigkeit unter Einfluß der Radioaktivität hat das Licht mit seinen photochemischen Wirkungen.

Über den Einfluß des Lichtes auf die Wirkung der Radiumemanation bei der Entwicklung der Pflanze.

Die Versuche wurden mit Zuckerrübe (*Beta vulgaris*) im zweiten Vegetationsjahr ausgeführt. Es wurden 40 gleichmäßig entwickelte Rübenwurzeln bei der Ernte aus dem Versuchsfeld herausgenommen und die Blattrosetten ungefähr 5 cm über dem

¹⁾ Siehe Stoklasa - Matoušek, Beitrag zur Kenntnis der Ernährung der Zuckerrübe. Physiologische Bedeutung des Kaliumions im Organismus der Zuckerrübe. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1916.

Rübenkopf abgeschnitten. Über den Winter wurden sie sorgfältig aufbewahrt, damit sie weder erfrieren, noch vorzeitig austreiben. Sie wurden im Keller im Sand eingemietet. Im Frühjahr im Mai wurden sie in geräumige Vegetationsgefäße, die 35 cm hoch waren und 27 cm im Durchmesser hatten, eingesetzt, sodaß auf 1 Vegetationsgefäß eine Rübenwurzel entfiel. Die Vegetationsgefäße waren mit humosem Sandboden gefüllt, welchem alle wichtigen Pflanzennährstoffe, also Stickstoff, Phosphor und Kalium, zugesetzt waren. Eine Gruppe der Vegetationsgefäße, also 16, wurden in eine Dunkelkammer gebracht. Die I. Serie der Gruppe, aus 8 Vegetationsgefäßen bestehend, wurde mit radiumemanationhaltigem Wasser befeuchtet. Es wurden pro 1 Vegetationsgefäß täglich $30 \text{ ME} = 12\,030 \cdot 10^{-12} = 0,00001203 \text{ mg Ra}$ zugesetzt. Die anderen 8 Vegetationsgefäße wurden bloß mit destilliertem Wasser begossen.

Die II. Serie bestand wieder aus 16 Vegetationsgefäßen. 8 Vegetationsgefäße wurden im Vegetationshaus, wo die Sonne vollen Zutritt hatte, mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen, während die anderen 8 bloß mit destilliertem Wasser befeuchtet wurden. In der Dunkelkammer entwickelten sich nach 51 Tagen die etiolierten Herzblätter in den Vegetationsgefäßen, die nicht mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen wurden, ungemein langsam, wogegen sie sich in jenen Gefäßen, zu welchen täglich 30 ME pro 1 Exemplar zugesetzt wurden, üppig entwickelten und große stattliche Rosetten bildeten.

Im Vegetationshaus unter Einfluß des Lichtes, wo die Rübenpflanzen nicht mit radioaktivem Wasser begossen wurden, entwickelten sich neue schöne grüne Herzblätter in sehr reichlicher Masse und erreichten eine Länge von etwa 20—25 cm. Bei den Rübenexemplaren, welche hingegen mit radiumemanationhaltigem Wasser begossen wurden, entwickelten sich die Blätter sehr langsam.

Nun treten wir zu den Resultaten unserer Untersuchungen. Nach 55 Vegetationstagen wurde beobachtet:

I. Gruppe in der Dunkelkammer.

Das Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und des Samensprosses betrug pro 10 Exemplaren:

Mit Radiumemanationbehandlung	48,6 g
Ohne Radiumemanationbehandlung	35,6 g

Im Vegetationshaus:

Ohne Radiumemanationbehandlung	57,2 g
Mit Radiumemanationbehandlung	41,1 g

Durch mikrochemische Beobachtungen wurde nachgewiesen, daß die etiolierte reine Blattsubstanz nicht viel Kalium aufgewiesen hat.

Diese Resultate sind sehr lehrreich! Wir sehen ganz deutlich, daß in der Dunkelkammer, also bei vollständigem Ausschluß des Lichtes, die Wirkung der Radiumemanation auf die etiolierten Pflanzen in günstiger Weise zur Wirkung gekommen ist. Das Gewicht der Trockensubstanz der etiolierten Blätter und des Samensprosses ist in der Dunkelkammer um 13 g größer wie bei den Vegetationsgefäßen, wo die Pflanzen nicht mit Radiumwasser behandelt worden sind. Im Vegetationshaus war unter Einwirkung der Radiumemanation das Trockensubstanzgewicht der Blätter und des Samensprosses um 16,1 g kleiner als ohne Radiumemanation.

Im Vegetationshaus, übte also bei Einwirkung der Sonnenstrahlen durch die photochemischen Wirkungen die Radiumemanation einen schädlichen Einfluß aus. Die Entwicklung der Blätter und des Samensprosses blieb bei Einwirkung der Radiumemanation gegenüber den Kontrollpflanzen zurück.

Wir haben wieder neue Versuche in Emanatorien mit einem Rauminhalte von 66 Liter angestellt. Diese Versuche wurden mit Mutterrüben derart ausgeführt, daß wir ein Vegetationsgefäß mit den Mutterrüben in ein Emanatorium stellten. Die Emanation wurde durch Erzlaugrückstände hervorgerufen. Die Luft im Emanatorium wies im Liter $20 \text{ ME} = 8020 \cdot 10^{-12} = 0,000008 \text{ mg Ra}$ auf. Die Versuche wurden im Winter im Monate November und Dezember und im Frühjahr im Mai und Juni vorgenommen. Es wurde gefunden, daß im Monat November und Dezember unter Einfluß der Radiumemanation sich neue Blattorgane und der Samensproß früher entwickelten als ohne Radiumemanation. Nach 55 Tagen wurde das Trockensubstanzgewicht der Blätter eines Exemplars aus dem Emanatorium von 4,97 g, aus den Kontrollgefäßen, wo keine Radiumemanation vorhanden war, von 3,85 g konstatiert. Die mikroskopische Untersuchung hat ergeben, daß in der etiolierten reinen Blattsubstanz nicht viel Kalium enthalten war.

Im Frühjahr unter Einwirkung der Sonnenstrahlen war gerade das Gegenteil zu beobachten. Wir fanden, daß bei den Mutterrüben ohne Radiumemanation neue Blätter und der Samensproß in üppigerer Weise entwickelt waren, als unter Einfluß der Radiumemanation. Es betrug das Trockensubstanzgewicht der neu entwickelten Blätter pro 1 Exemplar aus dem Emanatorium 5,01 g, aus den Kontrollgefäßen 6,30 g. Es ergaben sich also wieder Differenzen.

Die photomorphotischen Wirkungen sind gewiß durch die Radiumemanation beeinflusst worden. Die formative Tätigkeit, welche durch die Radioaktivität im Dunkeln, also bei Ausschluß des Lichtes, sowie im Winter hervorgerufen wurde, zeigt uns, daß das ein Agens ist, welches auf die Bildung neuer lebender Pflanzenmasse einen Einfluß hat. Im Dunkeln fördert die Radioaktivität das Wachstum neuer Organe, bei Gegenwart von Sonnenstrahlen hingegen wird dasselbe verlangsamt oder ganz sistiert. Namentlich im Dunkeln konnten wir bei *Beta vulgaris* konstatieren, daß durch die Radioaktivität etiolierende breite Blätter eine ziemliche Größe erreicht haben. Das Gewicht ist aber ein Beweis, daß wir es hier mit einem Phänomen zu tun haben, das von hoher physiologischer Bedeutung ist.

Bei den neuen Forschungen über kosmische Radioaktivität kommen wir immer mehr und mehr zur Überzeugung, daß in der Sonne Radioelemente vorhanden sind und diese radioaktiven Strahlungen müssen in einem gewissen Zusammenhange stehen mit dem Einfluß der Radiumemanation auf den Pflanzenorganismus. Wir wissen ja, daß die physikalischen Eigenschaften des radioaktiven Atoms im Sommer und Winter gleich sind, aber die biologische Beeinflussung ist verschieden. Uran und Thorium senden reine α -Strahlen aus, während das Radium α - und β -Strahlen liefert. Das Kalium sendet größtenteils β -Strahlen und ganz geringe Mengen von γ -Strahlen.

Auf das lebende Protoplasma wirken die α -Strahlen am stärksten, dann folgen die weichen β -Strahlen. Die γ -Strahlen haben erst einen Effekt, wenn sie in großen Mengen längere Zeit eingewirkt haben.

Unsere Experimente haben deutlich gezeigt, daß die Radiumemanation toxische Wirkungen in den Organen, welche reich an Kalium sind, hervorruft. Zum mikrochemischen Nachweis des

Kaliums in der Zuckerrübe haben wir die modifizierte Methode von Macallum angewendet.

In der Zuckerrübenpflanze ist das Kaliumion ubiquitär¹⁾. Das meiste Kalium enthält die Blattspreite, weniger der Blattstiel und am wenigsten die Wurzel. In der Blattspreite tritt das Kaliumion am reichlichsten in den subepidermalen Schichten auf. Das Palisadengewebe unmittelbar unter der oberen Epidermis ist am kaliumreichsten. Die chlorophyllhaltige Zelle enthält stets Kalium. In der Epidermis selbst ist, mit Ausnahme der Schließzellen, weniger Kalium enthalten. Der Xylemteil der Gefäßbündel, und zwar sowohl des Blattstieles wie der Blattnervatur, enthält mehr Kalium als der Phloemteil. Auffallend große Mengen von Kalium sind in der sogenannten Zuckerscheide. In der Rübenwurzel steigt die Kaliummenge in der Richtung zum Kopfe. Die Gefäßbündel mit ihrem reichen Kaliumgehalt bilden konzentrische Ringe. Außerdem sind größere Kaliummengen in den unmittelbar unter der Korkschichte liegenden Geweben enthalten.

An verwundeten Stellen häuft sich das Kalium an. Die Wasserkulturen haben gezeigt, daß bei Abwesenheit des Kaliumions in der Nährlösung, der im Samen vorhandene Vorrat an Kalium hauptsächlich in die beleuchteten Teile, meist in die Blattspreite, wandert. Die Wurzel enthält verhältnismäßig weniger Kalium. Etiolierte Blätter fallen durch die geringe, in ihnen enthaltene Kaliummenge auf. Die Gesamtverteilung des Kaliumions in den ohne Kalium gezüchteten, resp. etiolierten Pflanzen, ist im allgemeinen eine ähnliche wie in normalen Pflanzen.

Durch die mikrochemische Analyse wurde tatsächlich festgestellt, daß die Chlorophyllapparate von der Zuckerrübe von allen Organen am reichsten an Kaliumion sind. Wir haben auch an den Blättern anderer Kulturpflanzen, die wir zu unseren Versuchen herangezogen haben, mikrochemische Untersuchungen angestellt und gefunden, daß sich bei *Hordeum distichum*, *Polygonum fagopyrum*, *Papaver somniferum*, *Lupinus angustifolius*, *Vicia faba* und *Pisum sativum* mittels der von uns modifizierten

¹⁾ Julius Stoklasa und Alois Matoušek unter Mitwirkung von E. Senft, J. Šebor und W. Zdobnický, Beiträge zur Kenntnis der Ernährung der Zuckerrübe. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1916.

mikrochemischen Methode nach Macallum im Palisadengewebe der Chlorophyllapparate nicht so große Mengen von Kalium wie bei der Zuckerrübe nachweisen ließen. In den Blättern der Kartoffel, der Weinrebe und des Tabaks wurden große Quantitäten von Kalium vorgefunden und diese Pflanzen sind, wie wir gefunden haben, gegen die radioaktiven Elemente ungemein empfindlich. Auch die chemische Analyse hat dokumentiert, daß die Blätter der Zuckerrübe tatsächlich die größten Mengen an Kaliumion aufweisen. Auf Grund unserer sorgfältigen Untersuchungen wurden in den Blättern der Pflanzen, mit welchen wir Experimente ausführten, folgende Quantitäten an Kalium in der Trockensubstanz der Blätter gefunden:

Beta vulgaris	1,73—2,86%
Solanum tuberosum	2,04%
Nicotiana tabacum	1,83%
Vitis vinifera	1,64%
Pisum arvense	0,88%
Pisum sativum	1,03%
Hordeum distichum	0,78—0,94%
Polygonum fagopyrum	0,69%
Papaver somniferum	0,96%
Lupinus angustifolius	0,84%
Vicia faba	0,92%

Die analytischen Daten zeigen uns, daß die Blätter der Zuckerrübe, der Kartoffel und des Tabaks, sowie der Weinrebe sehr reich an Kalium und, wie wir schon erwähnt haben, gegen die Einwirkung der radioaktiven Strahlen von Uran, Radium, Radiumemanation und Thorium sehr empfindlich sind. Durch die Beobachtung der photomorphotischen Wirkungen bei Gegenwart von Radiumemanation haben wir gefunden, daß in der Dunkelkammer, also im etiolierten Zustande, die Radiumemanation nicht toxisch, im Gegenteil vorteilhaft auf die formative Tätigkeit der Pflanzen einwirkte. Interessant ist, daß die etiolierten Blätter geringere Quantitäten von Kali enthalten. Bei Gegenwart von Licht wirkte die Radiumemanation auf das Zellprotoplasma nachteilig. Daraus muß geschlossen werden, daß die Toxizität jedenfalls mit der Dynamik der photosynthetischen Assimilation, also mit der Produktion der organischen Substanz durch die Assimilation von Kohlendioxyd zusammenhängt. Das natürliche Element Kalium sendet sehr durchdringende Strahlen aus, so

daß man annehmen muß, daß in der chlorophyllhaltigen Zelle, welche ein bedeutendes Quantum von Kalium aufweist, ganz von Strahlen ausgefüllt ist.

Die ausströmenden Strahlen des Kaliums müssen in einem gewissen biologischen Gegensatze durch die α -Strahlen der Radiumemanation schädlich beeinflusst sein. Die Radiumemanation ist das unmittelbare Zerfallsprodukt des Radiums, d. h. ein Atom Radium spaltet sich in Heliumatom (α -Strahlen) und ein Atom Emanation. Aus der Radiumemanation entwickelt sich die induzierte Aktivität.

Unter dem Name „aktiver Niederschlag“ faßt man sämtliche Umwandlungsprodukte, die nach der Emanation kommen, zusammen. Sie verhalten sich durchwegs wie feste Körper. Man unterscheidet gewöhnlich zwischen dem schnell zerfallenden und dem langsam zerfallenden aktiven Niederschlag. Dem schnell zerfallenden aktiven Niederschlag gehören die drei ersten Zerfallsprodukte der Radiumemanation, nämlich Radium A, Radium B und Radium C an.

H. Zwaardemaker¹⁾ erwähnt in seiner Publikation „Die Bedeutung des Kaliums im Organismus“, daß offenbar ein biologischer Gegensatz existiert, der sich mit dem physikalischen Unterschied deckt. Die α - und β -Strahlen sind biologische Antagonisten, physikalisch verschieden.

In der chlorophyllhaltigen Zelle spielen sich entschieden physikalisch-biologische Prozesse ab, wovon wir bis jetzt keine Ahnung gehabt haben.

Ganz richtig betont Rudolf Keller²⁾ in seiner Publikation „Die Elektrizität in der Zelle“, daß die Kraftäußerung im engsten Raume in der organischen Welt nur noch übertroffen wird vom Chlorophyllkorn, das in seinem Punktraum Kohlensäure mit einem Aufwand von sicher über 300 Joules zerlegt und auseinanderhält.

Dieser Autor kommt in dieser Publikation, sowie in seiner jüngst erschienenen „Neue Versuche über mikroskopischen Elektrizitätsnachweis“³⁾ zu einer Ansicht, die ich hier rekapituliere:

„Wenn man einen lebenden Schnitt in eine beliebige Kobaltlösung bringt, nicht in Nitrit, sondern in Chlorür, Chlorid oder Nitrat, so fallen ebenfalls bräunliche Reduktionsprodukte an den Kathoden aus, die ihre Reduktionswirkung an Kobaltsalzen ebenso betätigen wie an Eisensalzen. Man kann diese Niederschläge unter dem Mikroskop auch als gelbbraun

¹⁾ Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 173. 1918.

²⁾ Rudolf Keller, Die Elektrizität in der Zelle. Verlag von Wilhelm Braumüller, Wien-Leipzig 1918.

³⁾ Derselbe, Neue Versuche über mikroskopischen Elektrizitätsnachweis. Verlag von Wilhelm Braumüller, Wien-Leipzig 1919.

bezeichnen. Es hat also schon der erste Teil der Reaktion etwas Unsicheres in dem Punkt, ob bestimmt eine Kaliumverbindung niedergeschlagen wird, zumal auch die Ammoniakverbindung gelb und unlöslich ist. Beim zweiten Teil, der Schwärzung durch Ammonsulfid, ist es aber ganz sicher, daß diese nur die Orte betrifft, an denen Kobaltkationen sich angesammelt haben, d. h. die Kathoden. Ich habe dies einfach dadurch festgestellt, daß ich mit beliebigen Kobaltsalzen, ohne das spezifische Kaliumreagens Nitrit, genau dieselben Bilder erhalte wie Macallum und wie Stoklasa - Matoušek bei allen Geweben, bei denen ich es versuchte. Der richtige Vorgang ist also folgender: Die Kobaltlösung Macallums, die auf das lebende Gewebe einwirkt, geht keineswegs dem Kalium nach, sondern sie differenziert sich autonom nach ihrer elektrischen Natur und der des Gewebes, die Kathoden ziehen Kobalt an und halten es fest, die Anoden stoßen es ab. Bringt man darauf das Sulfid hinzu, so werden die Kathoden ausgefärbt, und zwar etwas stärker als bei meiner Eisenmethode, offenbar weil Kobalt giftiger ist und die Differenzierung durch rascheres Absterben des Gewebes verstärkt wird.

Ich bleibe davon überzeugt, daß Macallums Kaliumorte wirklich Kalium enthalten, wenn auch nicht in solchen Massen, wie die Schwärzungen sie anzeigen würden. Ein so stark positives Element wie Kalium kann im Ionenzustand sich an keinem anderen Ort aufhalten als an den stärksten Kathoden. Es ist nur möglich, daß geschlossene Kugeln von Chlorophyll oder Zellkerne, Aleuronkörner in ihrem Innern Kalium enthalten, das durch eine äußere anodische Zwischenschicht oder Neutralschicht am Reagieren verhindert ist; auch die Analysen der ganzen Pflanzenteile zeigen eine grobe Übereinstimmung mit den Resultaten der mikrochemischen Feststellungen, es ist aber sicher, daß Macallums Methode, zweiter Teil, absolut nicht eine spezifische Reaktion auf Kalium darstellt.“

Wie ich schon hervorgehoben habe, sendet das Kalium β - und γ -Strahlen aus. Die β -Strahlen sind identisch mit Kathodenstrahlen von hoher Geschwindigkeit, die 300 000 km pro Sekunde beträgt. Die Geschwindigkeit der β -Strahlen ist bedeutend größer als die der Kathodenstrahlen und besitzen daher auch ein viel größeres Durchdringungsvermögen. Namentlich durch die Untersuchungen von F. Giesel¹⁾ wurde die magnetische Ablenkung eines Teiles der Strahlen nachgewiesen und durch St. Meyer und E. v. Schweidler²⁾ gezeigt, daß der Sinn der Ablenkung derselbe sei, wie bei Kathodenstrahlen. Unabhängig gelangte bald darauf H. Becquerel³⁾ zum gleichen Resultate.

Nach Becquerel kann man auf die Identität der Träger der β -Strahlen mit dem Träger der Kathodenstrahlen, den Elektronen, schließen.

¹⁾ F. Giesel, Ann. de Chim. et de Phys. **69**, 834. 1899.

²⁾ St. Meyer und E. v. Schweidler, Phys. Z. **f**, 113. 1899; Wien. Ber. **119**, 92. 1900.

³⁾ H. Becquerel, C. R. **129**, 996 u. 1205. 1899; Journ. de phys. (3) **9**, 71. 1900.

Die Befunde von Rudolf Keller sind nur auf die Radioaktivität des Kaliums zurückzuführen, wo die β -Strahlen mit den Kathodenstrahlen fast identisch sind und die gefundenen Kathodenstrahlen zum Teil auf die Wirkung der ausgesandten β -Strahlen zurückgeführt werden können.

Die β -Strahlen sind Elektronen, die mit ihrer großen Geschwindigkeit (fast bis zur Lichtgeschwindigkeit) von dem Kalium ausgeschleudert werden. Sie rufen beim Auftreten auf fluorescenzfähige Substanzen ein gleichmäßiges Leuchten hervor.

Die Radioaktivität des Kaliums kommt in den Chlorophyllapparaten der Zuckerrübe zur vollen Geltung, sodaß man sie im Laufe ihrer Entwicklung genau verfolgen kann. Wenn man die kinetische Energie der β -Strahlen des Kaliums mit der kinetischen Energie der β -Strahlen des Radiums und mit der der α -Strahlen des Urans vergleicht, findet man, daß das Durchdringungsvermögen der Strahlen bei dem Kalium größer ist, als bei Radium.

Der energische Baustoffwechsel der Zuckerrübe kennzeichnet sich in einer progressiven Entwicklung der Chlorophyllapparate. Wir beobachteten, daß sich die Chlorophyllapparate in der ersten Phase der Entwicklung der Zuckerrübe sehr rasch entwickeln im Verhältnisse zum Wurzelsystem. So fanden wir, daß auf 1 g Wurzelsystem in der ersten Phase der Entwicklung der Zuckerrübe 5—6 g Chlorophyllapparate entfallen. Erst später, namentlich in den Monaten August und September, wo sich das Wurzelsystem schon stärker entwickelt hat, sinkt die Entwicklung der Chlorophyllapparate und die Assimilate zirkulieren dann in den Rübenkörper.

Wie die Experimente zeigten, ist die Wirkung der radioaktiven Strahlen in den Phasen, wo die Chlorophyllapparate sich üppig entwickelten und reich an Kaliumion sind, immer am toxischsten. Die Tendenz des Organismus der Zuckerrübe im ersten Stadium ist, so schnell wie möglich die Chlorophyllapparate zur Entwicklung zu bringen und viel Kaliumion zu resorbieren. Das Chlorenchym, welches reich an Chloroplasten ist, findet seine Hauptfunktion in der Zersetzung der Kohlensäure und der Assimilation seines Kohlenstoffs zum Aufbau der Kohlenhydrate. Diese Funktion kann einen mikroskopisch sichtbaren Ausdruck in der Ablagerung kleiner Stärkekörner innerhalb der Chloroplasten finden. Natürlich ist die Kohlensäurezersetzung nicht nur von dem Chlorophyll, sondern auch von dem Lichte abhängig. Berücksichtigt man nun, daß das Palisadenparenchym, da es

an der Oberseite der Blätter liegt, viel besser beleuchtet ist, so ist es klar, daß der Löwenanteil der von den Blättern assimilierten Kohlensäuremenge auf das Palisadenparenchym entfällt. Die Ausbildung dieses spezifischen Assimilationsgewebes ist in den Zuckerrübenblättern nicht überall gleich und hängt von verschiedenen Vegetationsfaktoren ab. Die Assimilationstätigkeit der Blattorgane unterliegt sehr vielen Einflüssen vegetativer, klimatischer und auch physikalischer Natur, daß jede direkte Folgerung in ansteigender Linie (etwa je mehr Blätter oder detaillierter je mehr Blattoberfläche desto mehr Zucker, nach der gegebenen Definition) von vornherein ausgeschlossen erscheinen muß. Die Blattformen sind äußerst verschieden, sowohl in der Stellung, als auch in der Ausbildung und Zahl.

Unseren Beobachtungen gemäß ist die Entwicklung des Gesamtorganismus der Zuckerrübe und überhaupt die Akkumulation des Zuckers in der Wurzel nicht von dem Gewichte der Blätter, sondern von dem Chlorophyllgehalte des Chlorenchyms abhängig. So z. B. fanden wir bei mangelhafter Ernährung der Zuckerrübe, daß die Blattockensubstanz bloß 0,6—0,9% Chlorophyll aufwies, während sie bei Vorhandensein aller Nährstoffe 1,0—1,8% Chlorophyll enthielt.

Bei Gegenwart aller Nährstoffe konstatierten wir nach 60 Vegetationstagen, also bei der III. Periode, ein Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und Stiele einer Rübenpflanze von 30,83 g, der Wurzeln, von 9,85 g, also zusammen 40,68 g. Der Chlorophyllgehalt in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele belief sich auf 1,65%, in folgedessen befanden sich in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 0,5087 g. Von der Gesamtkaliumoxydmenge, welche pro 1 Rübenpflanze 1,5024 g in diesem Stadium beträgt, wurden von den Blättern und Stielen 1,4305 g und bloß 0,0719 g von den Wurzeln aus dem Boden resorbiert. Also in Prozenten ausgedrückt sind von der Gesamtkaliumoxydmenge 95,21% in den Blättern und 4,79% in den Wurzeln vorhanden.

In der IV. Periode nach 95 Vegetationstagen bezifferte sich das Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und Stiele auf 70,86 g, des Wurzelsystems auf 46,52 g, daher zusammen auf 117,38 g. Der Chlorophyllgehalt in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele betrug 1,52%, so daß sich in der Trocken-

substanz der Blätter und Stiele 1,0771 g befanden¹⁾. Von der Gesamtkaliumoxydmenge, die in dieser Periode 2,1020 g beträgt, wurden von den Blättern und Stielen 1,7857 g, von dem Wurzelsystem 0,3163 g K_2O aus dem Boden resorbiert. Es waren daher vom Gesamtkaliumoxyd in den Blättern und Stielen 84,95%, in den Wurzeln 15,05% zugegen.

In der V. Periode, also nach 118 Vegetationstagen, belief sich das Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und Stiele auf 80,42 g, der Wurzeln auf 130,72 g, zusammen auf 211,14 g. Der Chlorophyllgehalt in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele betrug in dieser Periode 1,43%, so daß in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 1,1500 g Chlorophyll vorhanden waren. Von der Gesamtkaliumoxydmenge, die 2,3294 g betrug, wurden von den Blättern und Stielen 1,4797 g, von dem Wurzelsystem 0,8497 g K_2O aus dem Boden resorbiert. Demgemäß befanden sich vom Gesamtkaliumoxyd 63,52% in den Blättern und Stielen und 36,48% in den Wurzeln.

In der VI. Periode, also nach 145 Vegetationstagen, bezifferte sich das Gewicht der Trockensubstanz der Blätter und Stiele auf 75,86 g, des Wurzelsystems auf 138,55 g, also zusammen auf 214,41 g. Der Chlorophyllgehalt in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele betrug in diesem Stadium 0,92%; es befanden sich daher in der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 0,6979 g. Von der Gesamtkaliumoxydmenge, die 2,3377 g betrug, wurden 1,3124 g von den Blättern und Stielen und 1,0253 g von dem Wurzelsystem aus dem Boden resorbiert. Vom Gesamtkaliumoxyd waren also 56,14%, in den Blättern und Stielen und 43,86% in den Wurzeln konstatierbar.

Diese Zahlen sind sehr lehrreich! Wir fanden, daß der Organismus der Zuckerrübe bei der Entwicklung von Chlorophyllapparaten, wo die Trockensubstanz der Blätter und Stiele die reichste Menge Chlorophyll enthält, bestrebt ist, die größte Menge von Kalium aus dem Boden zu resorbieren. So sehen wir, daß bis zur VI. Periode in den Blättern und Stielen immer der Kaliumgehalt, sowie Chlorophyllgehalt steigt, um die größte Menge von

¹⁾ Wir bestimmten das Chlorophyll nach jener Methode, welche in unserer Arbeit, betitelt: Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. Beihefte zum Botan. Centralbl. 30, Abt. I, Heft 2. 1913. genau beschrieben wurde.

Zucker zu produzieren. Dann finden wir plötzlich einen Umschwung. Der Chlorophyllgehalt der Blätter sinkt, da sich schon die Assimilate in den Wurzeln abgelagert haben und auch der Kaliumgehalt ist ein kleinerer geworden und nähert sich dem Quantum, welches in dem Wurzelsystem vorhanden ist.

Wenn wir all die von uns durch langjährige Experimente gewonnenen Zahlen überblicken, finden wir einen vollen Zusammenhang zwischen dem Mechanismus der endothermen Assimilationsprozesse und der chemischen Aufspeicherung der Lichtenergie und Umwandlung der kinetischen Energie in potentielle Energie.

Wir wollen zunächst einmal versuchen, uns eine Vorstellung davon zu machen, wie groß die von der Rübenpflanze bei der Photosynthese gespeicherten Energiemengen, in Calorien ausgedrückt, sind. Dies zu berechnen, ist nicht schwer, da uns ja die Verbrennungswärme der Assimilate bekannt ist; die zu ihrer Synthese erforderliche Energie hat natürlich denselben absoluten Wert. Angenommen, es liege Glucose vor, dann entspricht ein Molekül $C_6H_{12}O_6$ 6 Molekülen CO_2 . Die entsprechenden Molekulargewichte stehen im Verhältnis $180,12 : (44 \cdot 6) = 0,682$. Nun hat 1 g Glucose die Verbrennungswärme 3760. Wenn die Pflanze 1 ccm CO_2 (auf 0° und 760 mm Druck bezogen) assimiliert, so gewinnt sie damit, da 1 ccm CO_2 0,001965 g wiegt, und $0,001965 \cdot 0,682 = 0,001340$ g Glucose entspricht, $0,001340 \cdot 3760 = 5,0384$ g Calorien an Energie.

Von großem Interesse war, zu erfahren, wie sich die Mechanik der photochemischen Assimilation in den Blättern der Zuckerrübe, in einem Nährmedium bei Gegenwart aller Nährstoffe im Vergleiche zu dem Falle, wo das Kalium fehlte, gestaltete. Studien über die Menge der assimilierten Kohlensäure wurden zuerst von U. Kreusler¹⁾ ausgeführt.

Das Prinzip seiner Methode besteht darin, daß die Kohlensäure in dem zu den Blättern geleiteten und im abgeleiteten Gasstrom ermittelt wird. Der Vergleich zwischen dem Kohlensäuregehalt des Luftstroms, der über die Blätter im Dunkeln geleitet worden ist, und dem Strom, der über die belichteten Blätter geht, gibt ohne Einfluß der Atmung den Betrag des assimilierten Kohlendioxydes. Die Methode nach Kreusler hat auch

¹⁾ U. Kreusler, Landwirtsch. Jahrb. 14, 913. 1885; 16, 711. 1887; 17, 161. 1888; 19, 649. 1890.

Willstätter¹⁾ bei seinen Untersuchungen über die Ermittlung der Menge der assimilierten Kohlensäure zur Anwendung gebracht.

Unsere Versuche nahmen wir auch nach der modifizierten Methode von Blackman und Matthaei²⁾, Brown und Escombe³⁾ vor und fanden, daß bei Anwesenheit aller Nährstoffe im Nährmedium 1 qdm, bei einer Temperatur von 22—24° C, durchschnittlich aus 6 Versuchen während 1 Stunde im diffusen Tageslichte 3,578 ccm Kohlendioxyd assimilierte. Dies entspricht 18,0274 g-Calorien. Bei Annahme, daß pro Tag durchschnittlich 9 Stunden die Assimilation vor sich geht, so werden pro 1 qdm 162,25 g-Calorien produziert. Bei den Rübenblättern, wo im Nährmedium Kaliumoxyd fehlte, wurden von 1 qdm bei diffusum Tageslicht während der gleichen Zeit bei 22—24° C durchschnittlich aus 7 Versuchen 1,051 ccm Kohlendioxyd assimiliert, was 5,2954 g-Calorien entspricht und in 9 Stunden 47,66 g-Calorien ausmacht.

Hier ergeben sich gewiß in der ganzen Dynamik der Photosynthese bedeutende Unterschiede, welche genau dokumentieren, daß dem Kalium bei den fundamentalen Prozessen der Photosynthese eine hervorragende Rolle zukommt. Die autotrophe Assimilation des Kohlendioxyds scheint also von dem Kaliumgehalt des Chlorenchyms abhängig zu sein.

Das Kalium, das in der chlorophyllhaltigen Zelle verhältnismäßig in großen Quantitäten vertreten ist, sendet durchdringende β - und γ -Strahlen in der Weise aus, daß die ganze chlorophyllhaltige Zelle mit Strahlen gefüllt ist, was ein Phänomen von großer Bedeutung ist. Der photochemische Effekt des Kaliums ist zwar nicht groß, verdient aber volle Beachtung, wenn man bedenkt, daß das Rubidium 90 Tage, das Kalium 50 Tage und das Uranium 1 Tag zur Schwärzung der photographischen Platte fordert. Die photochemische Wirkung, sowie die Bedeutung der Radioaktivität hat einen nennenswerten Einfluß auf die ganze

¹⁾ R. Willstätter und A. Stoll, Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wissenschaften, Physikal.-mathem. Kl. XX, 15. IV. 1915.

²⁾ E. F. Blackman und Gabrielle Matthaei, Proc. Roy. Soc. (B) **76**, 402—459. 1905.

³⁾ F. F. Blackman und A. M. Smith, Proc. Roy. Soc. (B) **83**, 401. 1911; F. Brown und F. Escombe, Proc. Roy. Soc. (B) **76**, 29, 44. 1905. Die Beschreibung unserer modifizierten Methode, sowie die diesbezüglichen analytischen Daten erscheinen in einer speziellen Arbeit.

Dynamik der Photosynthese. Daß tatsächlich die toxische Wirkung des Kaliumions unter starkem Einfluß der Radiumemanation bei der Photosynthese zur Geltung kommt, geht daraus hervor, daß der Einfluß der Radioaktivität auf die Stoffwechselprozesse der Bakterien, namentlich der Bakterien, welche elementaren Stickstoff assimilieren, wie z. B. der *Azotobacter chroococcum* deutlich zutage tritt. *Azotobacter chroococcum* ist reich an Kaliumion. In der Trockensubstanz wurde gefunden:

P_2O_5	4,93—5,2%
K_2O	2,41—2,65%
Reinasche	8,2 —8,6%

Von den Ammonisationsbakterien, zu welchen *Bac. mycoides* zählt, ist in der Trockensubstanz zugegen:

P_2O_5	4,07%
K_2O	2,27%
Reinasche	7,50%

Von den Denitrifikationsbakterien bei *Bac. fluorescens liquefaciens* war in der Trockensubstanz konstatierbar:

P_2O_5	5,32%
K_2O	0,83%
Reinasche	6,48%

Die Versuche, die ich mit Straňák und Hromádko in großem Maßstabe ausgeführt habe, dokumentierten, daß die Radiumemanation von $80-150 \text{ ME} = 32\,080 \cdot 10^{-12} = 60\,150 \cdot 10^{-12} = 0,000\,032 - 0,000\,06 \text{ mg Ra}$ pro 1 Liter auf die Entwicklung der Bakterien nicht schädlich gewirkt hat, im Gegenteil die Assimilationspotenz des elementaren Stickstoffs steigt bei *Azotobacter chroococcum* ungemein. Eine Wachstumsverzögerung der Bakterien konnte bei dieser Dosierung nicht beobachtet werden.

Wir haben auch in den Emanatorien gefunden, daß die Radiumemanation selbst in schwacher Aktivität ungemein günstig auf die Bakterien, welche elementaren Stickstoff assimilieren, und auf die Stickstoffanreicherung des Bodens wirkt.

Aus den Versuchsergebnissen erhellt, daß die Radiumemanation auf die chlorophyllose Zelle der Bakterien, trotzdem sie reich an Kaliumion ist, keine toxischen Wirkungen hervorruft.

Die toxische Wirkung wird in der chlorophyllhaltigen Zelle erzeugt bei der Produktion der organischen Substanz durch die Assimilation von Kohlendioxyd, also bei der photosynthetischen Assimilation. Durch Beeinträchtigung der Dynamik der Photosynthese leidet natürlich auch der ganze Bau- und Betriebsstoffwechsel und die Bildung der formativen und plastischen Zellbestandteile. Die Assimilationsfähigkeit der grünen Zelle geht, wie wir sehen werden, bei Gegenwart von Kalium vor sich. Bei Vorhandensein von Radiumemanation findet zwischen den α -Strahlen der Radiumemanation und den weichen β -Strahlen des Kaliums eine Gegenwirkung statt. Die biologische Radioaktivität, welche sich durch fortwährende Herbeischaffung der elektrischen Ladung charakterisiert, verläuft nicht normal. Es existiert ein biologischer Gegensatz zwischen den α - und β -Strahlen. Es sind das biologische Antagonisten, die physikalisch verschieden sind.

Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III.

Von

Julius Stoklasa.

(Unter Mitwirkung von J. Šebor, V. Zdobnický, E. Napravlil und
J. Hromádko.)

(Aus der chem.-physiol. Versuchsstation an der böhm.-techn. Hochschule
in Prag.)

(Eingegangen am 15. April 1920.)

Willstätter und Stoll schreiben bei ihren Untersuchungen über die Assimilation bekanntlich dem Magnesium eine besondere Aufgabe in der chlorophyllhaltigen Zelle zu, was sich gemäß unseren Erfahrungen als nicht am Platze erweist.

Durch unsere exakten Wasserkulturversuche¹⁾ wurde nachgewiesen, daß, wenn im Nährmedium von den Aschenbestandteilen Phosphor und Kalium fehlt, sich die Pflanzen überhaupt nicht entwickeln können. Ganz andere Verhältnisse herrschen bei der Vegetation, wo sich in der Nährlösung kein Magnesium befand. Die Pflanzen blieben allerdings gegenüber den Normalpflanzen in ihrer Entwicklung zurück, jedoch ihre Blätter waren ziemlich gut entwickelt und sehr schön grün gefärbt. Auch die Palisadenzellen waren reich an Chlorophyllkörnern. Überhaupt ließ das Aussehen der Pflanzen darauf schließen, daß sie sich nicht, wie dies bei jenen in der Nährlösung ohne Phosphor und Kalium der Fall war, in einem pathologischen Zustande befinden.

Berechnen wir nun auf Grund unserer Untersuchungen, wieviel Magnesium zur Bildung des Chlorophylls in den Blättern

¹⁾ Julius Stoklasa, Johann Šebor und Em. Senft, Beihefte z. Botan. Centralbl. 30, Abt. I, Heft 2. 1913.

beispielsweise von Zea Mais (die ein bestimmtes Gewicht aufweisen) gebraucht wird.

Wir haben eine Reihe von Versuchen mit Zea Mais in einer Nährlösung mit und ohne Magnesium angestellt, um genügend Material von Blättern zu erhalten. Unsere diesbezüglichen Versuche wurden in 48 Vegetationsgefäßen ausgeführt und die Resultate sind auf 100 Pflanzen berechnet. Das Gewicht von 100 ganzen Pflanzen, auf Trockensubstanz berechnet, betrug 137,9 g.

In der Nährlösung mit Magnesium haben sich bei 100 Pflanzen von Zea Mais 75,6 g reine Blatt-Trockensubstanz gebildet.

Wir können auf Grund unserer Bestimmungen annehmen, daß in der Blatt-Trockensubstanz von Zea Mais durchschnittlich 1,4% Chlorophyll vorhanden sind. Folgedessen befinden sich in 75,6 g Blatt-Trockensubstanz 1,058 g Chlorophyll. Nehmen wir nun an, daß das Chlorophyll 3,53% Magnesium enthält, so ist für den Chlorophyllaufbau in der Zelle der Blätter 0,0373 g Magnesium erforderlich. Wir fanden in der reinen Blatt-Trockensubstanz 0,036% Magnesiumoxyd oder 0,0217% Magnesium.

In der reinen Blatt-Trockensubstanz im Gewichte von 75,6 g sind also 0,0272 g Magnesiumoxyd, oder 0,0164 g Magnesium vorhanden.

Nach Willstätters Annahme wären 0,0373 g Magnesium für den Aufbau des Chlorophylls erforderlich. Wir fanden aber bloß 0,0164 g.

Wenn das Gewicht der Blatt-Trockensubstanz 75,6 g beträgt, so muß die ganze Menge von Magnesium, die sich auf 0,0164 g beläuft, nicht ausschließlich im Chlorophyll vorhanden sein, vielmehr verteilt sich dieselbe auch auf andere Zellbausteine.

Es sei noch erwähnt, daß Zea Mais eine Pflanze ist, welche nicht nur für die Entwicklung der Blätter, sondern auch der anderen Organe verhältnismäßig viel Magnesium braucht.

Ähnliche Resultate haben wir nicht nur in der reinen Blattsubstanz von Zea Mais, sondern auch von Beta vulgaris, Vitis vinifera und Nicotiana tabacum gefunden.

Die Hypothese, daß das Chlorophyll durch seinen Gehalt an Magnesium befähigt ist, eine bicarbonatähnliche dissoziierende Verbindung mit Kohlendioxyd zu bilden, welche Anschauung auch E. Reinau¹⁾ in seiner Abhandlung „Kohlensäure und Pflanzen“ vertrat, ist nicht stichhaltig.

¹⁾ E. Reinau, Chem.-Ztg. Nr. 88, 91, 94, 97, 98. Kötten 1919.

Schon A. Lieben¹⁾ hat in seiner Arbeit „Über die Reduktion der Kohlensäure bei gewöhnlicher Temperatur“ im Jahre 1895 das Problem der Assimilation von Kohlendioxyd durch die chlorophyllhaltige Zelle zu lösen versucht und hat zum erstenmal darauf hingewiesen, daß das Kaliumbicarbonat, das in Entstehung begriffen ist, sehr leicht und immer durch naszierenden Wasserstoff zu Ameisensaurem Salz reduziert wird. Lieben konnte bei vielen seiner Versuche durch Reduktion des in Entstehung begriffenen Magnesiumbicarbonats durch naszierenden Wasserstoff überhaupt keine oder nur Spuren von Ameisensäure nachweisen. Auch Wislicenus ist der Meinung, daß Kaliumbicarbonat sich am besten zur Bildung von Formiat eignet.

Durch unsere Versuche wurde gefunden, daß durch Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd, Magnesiumhydroxyd und Wasserstoff, welcher letzterer sich in statu nascendi befand, aus Magnesiumbicarbonat man nie Ameisensäure, Formaldehyd und überhaupt eine Zuckerbildung nachweisen kann. Dasselbe wurde bei Anwendung von Ferroverbindungen anstatt Wasserstoff beobachtet. Die Resultate unserer Forschungen befinden sich in dem von mir und Matousek bei Fischer, Jena, herausgegebenen Buch: Über die physiologische Bedeutung des Kalium-Ions im Organismus der Zuckerrübe.

Fragen wir uns jetzt, was für eine physiologische Funktion das Magnesium im Chlorophyll hat?

Nach den Untersuchungen von Luigi Bernardini und Giuseppe Morelli, O. Loew, L. Bernardini und G. Corso, L. Bernardini und A. Siniscalchi, Plato und J. Tribot²⁾ ist anzunehmen, daß das Magnesium im Pflanzenorganismus vorwiegend dazu bestimmt ist, die Phosphorsäure in die Nucleoproteide des Zellkerns, sowie in die Chlorophyllorgane einzuführen, weil die Phosphorsäure am leichtesten aus Magnesiumphosphat abspaltbar ist. Das Magnesium muß man als treuen Begleiter des Phosphors bei dem Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanzen ansehen.

Das Chlorophyll besteht aus drei verschiedenen Arten von Verbindungen:

¹⁾ Adolf Lieben, Monatshefte f. Chemie. Wien 1895.

²⁾ Siehe Atti, R. Accad. dei Lincei 1912; Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 148; Staz. sperim. agrar. ital. 41, 42 u. 43; Landw. Jahrbücher 1902: Landwirtschaftl. Versuchstation 1892.

a) Dem Phäophorbin und dessen Metallverbindungen, die von Willstätter und seinen Mitarbeitern festgestellt wurden. Dieselben sind in Alkohol und Äther, nicht in Petroläther löslich.

b) Dem Phäophytin und den Phäophytiden, die in Äther fast unlöslich, in Alkohol und Petroläther löslich sind.

c) Die Chlorolecithinen oder Phäophorbinphosphatide, das sind Verbindungen von Phäophorbin oder Phäophytin mit Phosphoglyceriden, wie Hoppe-Seyler, Gautier und Stoklasa angenommen haben¹⁾. Dieselben sind ebenso wie deren Metallverbindungen in allen drei Lösungsmitteln löslich. Vielleicht kommen auch Phäophytin-Glyceridester, ohne Phosphorsäuregehalt, Chlorophyllane vor!

Die Phosphorsäure ist an Glyceridreste von ungesättigten Säuren oder Oxysäuren gebunden. Im Frühjahr und Sommer bilden sich die ungesättigten Säuren, daneben verläuft eine Oxydation zu Oxysäuren, die auch am Präparate sowie an den aus demselben gewonnenen Säuren weiter fortschreitet. Dabei spielt wahrscheinlich das Phäophorbin die Rolle eines Katalysators, und zwar im Sonnenlichte eines im Sinne der Reduktion, im Dunkeln im Sinne einer Oxydation. Die Metallverbindungen enthalten vorwiegend Magnesium, doch ist auch Kalium und Calcium zugegen.

Wenn man die frisch zerschnittenen Blätter einem Druck von 300 Atmosphären aussetzt, so enthalten die Säfte immer Phosphor und Kalium, aber nur kleine Quantitäten von Magnesium. Die gequollene Zellhaut des Wurzelsystems, die negativ elektrisch ist, zieht die Kationen der dissoziierten Salzlösungen an und verwandelt sich in Hydraten, die unter gleichzeitiger Reduktionswirkung an die Orte des Verbrauches weitergeleitet werden. Das Kalium-Ion wird in der chlorophyllhaltigen Zelle in Form von Carbonaten gebunden und das Kaliumcarbonat ist eigentlich dasjenige Agens, welches die Kohlensäure der Luft, die durch die Spaltöffnungen zu den Chloroplasten dringt, absorbiert und in Bicarbonat umwandelt. Auf diese Weise kann man sich auch erklären, daß bei starker Insolation und Wärme das Kohlendioxyd in der chlorophyllhaltigen Zelle zurückgehalten wird.

Die Löslichkeit von Kohlendioxyd in Wasser bei 760 mm Kohlendioxyddruck beträgt in 1 Liter Wasser 0,2 Gewichtspro-

¹⁾ Willstätter vertrat in seiner Publikation „Untersuchungen über das Chlorophyll“ die Ansicht, daß bei der Darstellung des Chlorophylls der Farbstoff durch die Pflanzensäure des Extraktes und das Erwärmen in alkoholischer Lösung gelitten hat und von Beimengungen nicht frei war. Diese Anschauung entspricht nicht den Tatsachen. Wir haben bei der Darstellung des Chlorophylls stets die Pflanzensäure neutralisiert; das Chlorophyll wurde nicht abgebaut.

zent. Nun entspricht aber einem Befunde von $\frac{24}{100\,000}$ CO₂ in der Luft nur ein Partialdruck derselben von 0,282 mm, also löst sich bei einem Gehalte von nur 24 CO₂ in der Luft auch nur $760 : 0,282 = 2x = 0,0074$ g CO₂ in einem Liter Wasser, oder die Konzentration ist tatsächlich nur 0,00074proz., bzw. 0,0017 normal, also etwa 2 Tausendstel normal.

Daß in der grünen Blattzelle mit dem Chlorophyll eine Kohlensäureverbindung entsteht, wie sich Willstätter und Stoll das vorstellten, ist kaum anzunehmen. Bei dieser kleinen Ausnützung der kinetischen Energie der Sonne, wo bekanntlich die zur Assimilationsarbeit benutzte Energie ca. 1% der auffallenden Gesamtstrahlung der Sonne, die manchmal unter $\frac{1}{3}$ rückt, aber auch über den dreifachen Betrag steigen kann, wäre die chlorophyllhaltige Zelle auf diejenigen Quantitäten angewiesen, die von dem Zellsaft zurückgehalten werden, was für den ganzen Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanzen nicht ausreichen würde. Bei den submersen Wasserpflanzen geht die Produktion der organischen Substanz durch die Assimilation von Kohlensäure in Form von Bicarbonaten vor sich, wie sowohl unsere Versuche als auch jene von Raspail¹⁾, Draper²⁾, Cohn³⁾, Hanstein⁴⁾ Hassack⁵⁾, Grafe⁶⁾, Nathanson⁷⁾, Angelstein⁸⁾ usw. nachgewiesen wurde. Die Pflanze hat die Fähigkeit, die Bicarbonate aktiv zu verwenden und erreicht dadurch eine reichere Zufuhr von Kohlendioxyd als in Wasser gleicher Kohlendioxydtension ohne Bicarbonate. Von anderen Autoren und auch von uns wurde festgestellt, daß alle Pflanzen, mit welchen man operierte, imstande sind, wenn 1,0 g Kaliumbicarbonat in 1 Liter kohlen-säurefreies Wasser aufgelöst sind, das Kaliumbicarbonat zu verwerten und Sauerstoffblasen auszuscheiden.

¹⁾ Raspail, *Nouv. système de chim. org.* 1833.

²⁾ Draper, *Ann. de Chim. et de Phys.* (3) **11**, 223. 1844.

³⁾ Cohn, *Abhandl. d. schles. Ges.* **2**, 52. 1862.

⁴⁾ Hanstein, *Botan. Ztg.* 1873, S. 964.

⁵⁾ Hassack, *Unters. a. d. bot. Inst. Tübingen* **2**, 472.

⁶⁾ Viktor Grafe, *Biochem. Zeitschr.* **32**, Heft 2. 1911.

⁷⁾ Nathanson, *Ber. über die Verhdlg. d. Kgl. sächs. Ges. d. W. math.-phys. Kl.* **59**, 1907. — *Stoffwechsel der Pflanzen*, Verlag von Quelle u. Meyer in Leipzig 1910.

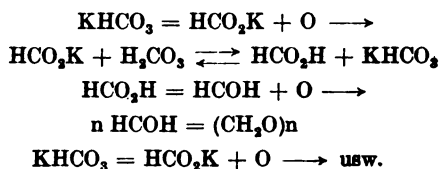
⁸⁾ Udo Angelstein, *Untersuchungen über die Assimilation submerser Wasserpflanzen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, Breslau 1910.

Die Versuche waren derart arrangiert, daß in hohen Glas-cylindern verschiedenartige Pflanzen vegetierten. Alle Pflanzen, welche für unsere Experimente zur Anwendung gelangten, wurden in einer Nährlösung, wo alle Nährstoffe, namentlich das Phosphat-Ion reichlich vorhanden waren, zur Entwicklung gebracht und erst nach 40 Vegetationstagen zum Versuche herangezogen. Das hierzu nötige Nährmedium wurde auf diese Weise hergestellt, daß wir absolut kohlenstoffreies Wasser benutzten. In 1 Liter wurden 1,0 g Kaliumbicarbonat oder 1 g Magnesiumbicarbonat aufgelöst, 0,5 g Kaliumnitrat zu der Nährlösung zugesetzt und kohlendioxidfreie Luft zugeleitet. Die Nährlösung wurde jeden 6. Tag erneuert. Die Vegetationsgefäße befanden sich bei zwei Gruppen der Versuche auf festem Kaliumhydroxyd, welches den Zweck hatte, das ausgeatmete Kohlendioxid zu absorbieren. Zur ersten Gruppe wurde Kaliumbicarbonat, zur zweiten Gruppe Magnesiumbicarbonat und zur dritten Gruppe eine Nährlösung benützt, die frei von Bicarbonaten war. Für die vierte Gruppe wurde atmosphärische Luft mit Kohlendioxid zugeführt. Nach 53 Tagen konnten wir wahrnehmen, daß dort, wo Kaliumbicarbonat vorhanden war, eine neue Produktion der Pflanzenmasse in demselben Maße stattgefunden hat, wie bei der vierten Gruppe. Weiter war von großem Interesse, zu konstatieren, daß dort, wo Magnesiumbicarbonat zugegen war, sich die Produktion an Pflanzenmasse nicht in der Weise gestaltete, als bei Gegenwart von Kaliumbicarbonat. Wenn wir anstatt Kaliumbicarbonat Magnesiumbicarbonat zusetzen, so wird Sauerstoff nicht ausgeschieden und es findet auch keine nennenswerte Erhöhung der Produktion an Pflanzenmasse statt. Das ist ein Beweis dafür, daß die Hypothese von Willstätter und Stoll betr. der Rolle von Magnesiumcarbonat nicht zutreffend ist.

Über diese Versuche werde ich demnächst einen ausführlichen Bericht publizieren.

Die photosynthetische Assimilation der Kohlensäure in der chlorophyllhaltigen Zelle kann man sich in folgender Weise vorstellen: Die Kohlensäure, die durch die Spaltöffnungen dringt, wird von der chlorophyllhaltigen Zelle sofort absorbiert und das vorhandene Kaliumcarbonat wird in Kaliumbicarbonat umgewandelt. Das Kaliumbicarbonat gelangt dann in das Protoplasma der Gewebelemente. Die Reduktion des Kaliumbicarbonats, das

in seiner Entstehung begriffen ist, wird durch die Lichtenergie bewirkt. Der Mechanismus dieser photochemischen Reaktion geht wie folgt vor sich¹⁾:



Wie wir gefunden haben, kann sich das Magnesium an der Photosynthese nicht beteiligen, sondern nur das Kalium. Wir müssen annehmen, daß das Chlorophyll bei der Zersetzung des Kaliumbicarbonats unter Einwirkung der Sonnenstrahlen intensiv mitwirkt und daß der Formaldehyd, der sich aus Ameisensäure bildet, sich sehr rasch zu Kohlenhydraten kondensiert. Hier finden wir die Erklärung, warum keine großen Quantitäten von Formaldehyd in den frischen grünen Blättern konstaterbar sind. Die Bildung der Ameisensäure aus Kaliumbicarbonat, sowie die weitere Zersetzung der Ameisensäure zu Formaldehyd ist ein rein endothermischer Prozeß, wo die Sonnenenergie in potentielle Form aufgespeichert wird.

In Berücksichtigung unserer bei den biologischen Vorgängen in der chlorophyllhaltigen Zelle erhaltenen Resultate wirft sich zuerst die Frage auf, ob dort genügende Mengen an Kalium vorhanden sind. Bei unseren mikrochemischen Studien über die Lokalisation des Kali-Ions in den Blättern verschiedener Kulturpflanzen haben wir nicht nur stets das Kalium-Ion in den chlorophyllhaltigen Zellen vorgefunden, sondern auch konstatieren können, daß die Lamina eine ganz charakteristische Verteilung desselben aufweist. Das unmittelbar unter der oberen Epidermis befindliche Palisadengewebe enthält das meiste Kalium; in den daruntergelegenen Geweben nimmt der Kaliumgehalt ab und steigt wieder im Schwammparenchym unter der unteren Blattepidermis. In den einzelnen Zellen kommt das meiste Kalium in der Umgebung der Chromatophoren vor. Auf quantitativem Wege konnten wir sogar in Chlorophyllpräparaten 0,57% K_2O vorfinden.

¹⁾ Siehe Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien. Biochem. Zeitschr. 1910—1913.

Die Wirkung der Lichtstrahlen bei der Photosynthese ist im Palisadengewebe unterhalb der oberen Blattepidermis am stärksten und diese Zellen enthalten auch in der Tat am meisten Chromatophoren und das meiste Kalium¹⁾ als unentbehrliches Reagens bei der Photosynthese. Je tiefer in das Mesophyll hinein, um so schwächer wird die Wirkung der Lichtstrahlen und der Chromatophoren-, sowie der Kaliumgehalt der einzelnen Zellen nimmt ab. In der Zellschicht unterhalb der unteren Epidermis wird die Intensität des Lichtes, das hier von unten eindringen kann, stärker, der Kaliumgehalt nimmt zu, aber nicht in dem Maße, wie bei der oberen Epidermis.

Gewiß ein großer Einfluß auf die Dynamik der photosynthetischen Assimilation wird durch die Radioaktivität des Kaliums hervorgerufen. Das Kalium ist radioaktiv und besitzt eine atomistische Eigenschaft, welche kein anderes biogenes Element aufweist. Diese hochwichtige Eigenschaft des Kaliums tritt stark in den Vordergrund. Obzwar die Radioaktivität des Kaliums sehr schwach ist und ausschließlich auf β - und γ -Strahlung beruht, muß man das bei der Mechanik des Stoff- und Gasaustausches und bei der Produktion der organischen Substanzen durch die Assimilation der Kohlensäure in Betracht ziehen. Namentlich die Radioaktivität des Kaliums spielt eine bedeutende Rolle bei der photosynthetischen Assimilation der Kohlensäure in der chlorophyllhaltigen Zelle. Bei dem Kalium wurde auch eine geringe photochemische Reaktion nachgewiesen. Man braucht aber dazu eine längere Expositionszeit. Wenn man bedenkt, wie die Zelle bei den biochemischen Prozessen mit ganz minimalen Quantitäten arbeitet, so kommt gewiß die geringe Radioaktivität des Kaliums zur vollen Geltung. Die Pflanzenzelle ist überhaupt für die Radioaktivität ungemein empfindlich. Wir haben auf Grund unserer Untersuchungen gefunden, daß auf 100 g Trockensubstanz der Samen binnen 36 Stunden $90 \text{ ME} = 36\,090 \cdot 10^{-12} = 0,000036 \text{ mg Ra}$ eine deutliche Reaktion auf das Erwachen des Embryos und auf die Bildung der neuen lebenden Masse ausüben.

Bei den Versuchen mit Gerste haben wir eine günstige Wir-

¹⁾ Nach Haberlandt wirken die konvexen Zellen der Epidermis wie Sammellinsen, und es dürfte nicht unwahrscheinlich sein, daß sich das Kalium gerade in ihren Brennpunkten häuft.

kung der Radiumemanation in den großen Emanatorien verzeichnen können, wo eine Radioaktivität der Luft von $13,1 \text{ ME} = 5253,1 \cdot 10^{-12} = 0,000005 \text{ mg Ra}$ herrschte; in den kleinen Emanatorien, wo nicht genügende Mengen von Sauerstoff vorhanden waren, wirkten $7,05 \text{ ME} = 2827 \cdot 10^{-12} = 0,0000028 \text{ mg Ra}$ schon schädlich und hemmten den ganzen Keimungsprozeß und die Entwicklung der Pflanzen. Dasselbe konnten wir bei anderen Versuchen mit *Pisum sativum*, *Vicia faba* und *Phaseolus vulgaris* in kleinen Emanatorien konstatieren, wo $26,6 \text{ ME} = 10\,666,6 \cdot 10^{-12} = 0,0000106 \text{ mg Ra}$ eine hemmende Wirkung auf den Keimungsprozeß hervorriefen, während $41,7 \text{ ME} = 16\,721,7 \cdot 10^{-12} = 0,0000167 \text{ mg Ra}$ einen günstigen Einfluß auf den Keimungsverlauf ausübten, nachdem wieder genügende Quantitäten von Sauerstoff in großen Emanatorien zugegen waren.

Wenn der Sauerstoff dann den kleinen Emanatorien in genügenden Mengen zugeführt wird, wie bei den Versuchen mit *Pisum sativum*, *Vicia faba* und *Zea mays* haben $26 \text{ ME} = 10\,426 \cdot 10^{-12} = 0,0000104 \text{ mg Ra}$ den Keimungsprozeß nicht beeinträchtigt, im Gegenteil begünstigt. Unsere Versuche sprechen ganz deutlich, daß ein bestimmter Zusammenhang zwischen der Wirkung der Radiumemanation und der Sauerstoffkonzentration besteht.

Auch die Radioaktivität des Kaliums hat auf den ganzen Keimungsprozeß günstig gewirkt; es haben 28—92% bei verschiedenen Samen der Kulturpflanzen die Keimfähigkeit erhöht und auch das Wachstum der Pflanzen gefördert. Wenn die Radioaktivität einen so günstigen Einfluß auf die Wirkung der Enzyme bei dem Keimungsprozeß der Samen ausgeübt hat, so ist auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Radioaktivität des Kaliums auf die Enzyme, welche sich bei der assimilatorischen Leistung der Blätter beteiligt, ebenfalls zur Geltung kommt.

Willstätter nimmt nämlich an, daß außer dem Chlorophyll ein zweiter innerer Faktor, dessen Natur enzymatisch sein soll, für den Assimilationsvorgang bestimmend sei; er glaubt, daß es sich dabei um ein Enzym handelt, das den Zerfall eines aus Chlorophyll und Kohlensäure gebildeten Zwischenproduktes unter Abgabe von Sauerstoff bewirkt. Das Enzym ist aber bis jetzt weder isoliert noch nachgewiesen worden.

Durch unsere Untersuchungen wurde gefunden, daß die photosynthetische Assimilation der Kohlen-

säure entschieden durch die Radiumemanation un-
gemein unterstützt wird. Da in chemischer und physio-
logischer Hinsicht die Radiumemanation der Wirkung der ultra-
violetten Strahlen sehr ähnlich ist, warf sich die Frage auf, ob
es nicht möglich wäre, auch durch Radiumemanation eine Zucker-
synthese hervorzurufen¹⁾, um so mehr als ja schon nach den Ar-
beiten von Thiele bekannt war, daß sich durch die Einwirkung
der ultravioletten Strahlen aus Kohlensäureanhydrid Kohlen-
oxyd bildet. Das gleiche konnten Ramsay und Cameron,
sowie Herschfinkel auch bei Einwirkung der Radiumemanation
beobachten.

Um endgültig zu ermitteln, ob durch Einwirkung starker
Radiumemanation dieselben Prozesse verlaufen wie unter Ein-
wirkung der ultravioletten Strahlen auf das Kohlendioxyd,
Kaliumhydroxyd bei Gegenwart von Wasserstoff oder Ferro-
verbindungen stellten wir diesbezügliche Versuche an Ort und
Stelle, also in der Radiumfabrik in St. Joachimsthal unter Mit-
wirkung von Direktor Dr. Ulrich an, und benutzten hierzu
0,466 g Radiumchlorid. Es ist mir nun unter Mithilfe meiner
Mitarbeiter, Dozent Dr. Šebor und Dr. Zdobnický, tatsächlich
gelungen, nach 56stündiger Einwirkung der Radium-
emanation bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd aus
Kohlensäureanhydrid und Ferrihydroxyd oder Wasser-
stoff, der in statu nascendi entstanden ist, Zucker
herzustellen; es war dies eine Hexose. Dieser Befund
eröffnet uns eine ganz neue Perspektive über die Be-
deutung des Radiums in der Produktion der Zellbau-
steine in den Chlorophyllapparaten.

Schon F. L. Usher und J. H. Priestley²⁾ sind zur Über-
zeugung gekommen, daß durch Einwirkung von α - und β -Strahlen
der Radiumemanation und durch ultraviolette Strahlen eine Zer-
setzung von wässriger Lösung von Kohlendioxyd hervorgerufen
wird, was wir bei unseren Versuchen bei Gegenwart von Kalium-
hydroxyd nicht konstatieren konnten.

Diese Forscher haben ferner gefunden, daß durch Einwirkung
von 0,001 ccm Emanation auf 200 ccm kohlen säure gesättigt-

¹⁾ J. Stoklasa, J. Šebor und V. Zdobnický, *Compt. rend. de l'Acad. des Sc.* 156, Nr. 8. 1913.

²⁾ F. L. Usher und J. H. Priestley, *Proc. Roy. Soc. Ser. B.* 84, 101. 1911.

tes Wasser innerhalb 4 Wochen eine merkliche Menge Formaldehyd größtenteils in polymerer Form sich gebildet hat. Auch bei eintägiger Belichtung von kohlenensäurehaltigem Wasser mit ultravioletten Strahlen trat neben Spuren von Wasserstoffsperoxyd eine leicht nachweisbare Menge Formaldehyd auf, hauptsächlich als Polymeres.

Interessant ist, daß auch B. Moore und T. A. Webster¹⁾ konstatiert haben, daß unter der sensibilisierenden Wirkung von kolloidem Uranhydroxyd und Eisenhydroxyd kleine Quantitäten von Formaldehyd aus Kohlensäure entstehen können.

Bei den ganzen photosynthetischen Prozessen treten die photodynamischen Eigenschaften des Chlorophylls in den Vordergrund.

Es gelingt sehr leicht, nachzuweisen, daß die Chlorophyllorgane in Alkohol lösliche photodynamisch wirkende Substanzen enthalten, wobei wir das Chlorophyll nach den Untersuchungen von Hausmann²⁾ zumindest als einen der in Betracht kommenden Sensibilisatoren betrachten müssen. Der alkoholische Blattextrakt hat demnach eine photodynamische Wirkung.

Die Möglichkeit, daß das Chlorophyll als photodynamisch wirkender Lichtüberträger in den Mechanismus der Kohlensäureassimilation eingreife, ist zuerst von v. Tappeiner³⁾ erwogen, durch die experimentellen Untersuchungen von W. Hausmann nachgewiesen worden. Die photodynamische Wirkung des Chlorophylls wird sich in stark abgeschwächter Form in den Chloroplasten der Pflanze abspalten.

Es ist nach den Untersuchungen von Becquerel, Timiriazeff und Engelmann bekannt, daß die Chlorophylllösungen fähig sind, die photographische Platte zu sensibilisieren.

Die strahlende Energie der Sonne, welche in der chlorophyllhaltigen Zelle die Synthese des organischen Materials aus anorganischer Substanz bewirkt, steht im Zusammenhange mit den β - und γ -Strahlen, welche das Kalium aussendet. Das Kalium sendet Strahlen aus, welche die ganze chlorophyllhaltige Zelle durch-

¹⁾ B. Moore und T. A. Webster, Proc. Roy. Soc. Ser. B. **87**, 163. 1913.

²⁾ W. Hausmann, diese Zeitschr. **16**, 294. 1909; **30**, 276. 1910.

³⁾ H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer, Monogr. Leipzig 1907.

dringen und sich gewiß bei der ganzen Photosynthese und bei der Produktion der organischen Substanz durch die Assimilation von Kohlensäure beteiligen.

Aus den grundlegenden Arbeiten von Neuberg¹⁾ ist auch zu ersehen, daß die katalytischen Lichtreaktionen, welche bei der photosynthetischen Assimilation eine hervorragende Rolle spielen, sehr in Betracht gezogen werden müssen.

Wenn man berücksichtigt, daß die Radioaktivität des Kaliums bei dem Aufbau neuer lebender Masse, bei dem Keimungsvorgang der Samenpflanzen, so tief eingreift, so ist zu erwarten, daß die β - und γ -Strahlungen bei dem Mechanismus der photochemischen Reaktion, welche sich in der chlorophyllhaltigen Zelle bei Gegenwart von Kalium abspielen, sich in vollem Maße beteiligen.

Auf Grund unserer Untersuchungen läßt sich annehmen, daß dieser fundamentale endothermische Vorgang und die photosynthetische Assimilation der Kohlensäure die Zersetzung des Kaliumbicarbonates unter Einwirkung des Lichtes zu Ameisensäure, Sauerstoff und Kaliumcarbonat ist, sowie die weitere Zersetzung der Ameisensäure zu Formaldehyd und Sauerstoff. Bei diesem photosynthetischen Prozeß muß auch die Radioaktivität des Kaliums zur vollen Geltung kommen.

¹⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305. 1908; **27**, 271; **29**, 279. 1910; **61**, 315; **67**, 63. 1914; **71**, 219. 1915. Siehe auch C. Neuberg, „Beziehungen des Lebens zum Licht“. Monogr. Allgemeine mediz. Verlagsanstalt, Berlin 1913.

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. Durrig - San Francisco, 22
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. Härl - Budapest, E. Hägglund - Aabo, 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, H. Sachs - Heidelberg, S. Salaskin - St. Petersburg, A. Scheunert - Berlin, N. Sieber - St. Petersburg, S. P. L. Sørensen - Kopenhagen, K. Spiro - Liestal, E. H. Starling - London, J. Stoklasa - Prag, W. Straub - Freiburg i. B., A. Stutzer - Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler - München, H. Thoms - Berlin, P. Trendelenburg - Rostock, O. Warburg - Berlin, W. Wiechowski - Prag, A. Wohl - Danzig, J. Wohlgemuth - Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertundachter Band

Viertes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 4. September 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. 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.

108. Band.	Inhaltsverzeichnis.	4., 5. u. 6. Heft.
		Seite
Verzár, Fritz und Josef Bögel.	Untersuchungen über die Wirkung von akzessorischen Nahrungssubstanzen	185
Verzár, Fritz und Josef Bögel.	Weitere Untersuchungen über Stoffwechselregulierung bei Bakterien	207
Rosenthal, F. und P. Holzer.	Beiträge zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitszuständen	220
Köhler, Erich.	Untersuchungen über den Gang der alkoholischen Gärung der Hefe	235
Salkowski, E.	Über die Konservierung von Blut mit Allylalkohol	244
Schnabel, Alfred.	Über die Bestimmung zell- und keimchädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege. (1. Mitteilung: Optochin)	258
Hymans van den Bergh, P. Muller und J. Broekmeyer.	Das lipochrome Pigment in Blutserum und Organen, Xanthosis, Hyperlipochromämie	279
Schuhbauer, Franz.	Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Die Einwirkung der Kieselsäure auf den tierischen Organismus	304
Breest, Fr.	Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Über die Resorption der Kieselsäure	309
Holde, D.	Über Anhydride höherer Fettsäuren als synthetische Neutralfette	317
Autorenverzeichnis		324

Untersuchungen über die Wirkung von akzessorischen Nahrungssubstanzen.

Von

Fritz Verzár und Josef Bögel.

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

(Eingegangen am 18. Mai 1920.)

Mit 15 Abbildungen im Text.

Die Stoffwechselfysiologie hat im Laufe der letzten Jahre tiefgreifende Änderungen erfahren. Außer den bisher bekannten und in ihrer Bedeutung in jeder Hinsicht erforschten Nahrungsstoffen, wie Eiweiß, Fett, Kohlenhydrate, Salze und Wasser, wurden Substanzen bekannt, die in keiner Diät längere Zeit fehlen dürfen, wenn es nicht zu schweren Störungen kommen soll. Hopkins sprach zuerst von „akzessorischen Nahrungsfaktoren“ [Hofmeister¹]; spätere Autoren reden von „Ergänzungstoffen“ (Schlagenauer), „Ergänzungsnährstoffen“ (Boruttau), „Extraktstoffen“ (Aron) oder „protektiven Substanzen“ [McCollum²]. Der letzte Namen deckt wohl am besten die charakteristische Eigenschaft dieser unbekanntesten Stoffe: ihre Schutzwirkung vor verschiedenen Schädigungen. Bezüglich der Literatur dieser Substanzen sei auf das Referat von Hofmeister¹, McCollum²) und Sjollemas³) verwiesen.

Man unterscheidet hauptsächlich zwei Gruppen von Substanzen, welche von den amerikanischen Autoren kurz als A- und B-Substanzen bezeichnet werden. Diese Bezeichnung präjudiziert nichts und ist deshalb, so lange wir nicht mehr über die Natur dieser Stoffe wissen, praktisch

¹) Hofmeister, Über qualitativ unzureichende Ernährung. Ergebn. d. Physiol. v. Asher-Spiro **16**, 520. 1918.

²) McCollum, The newer knowledge of nutrition. New York 1919.

³) Sjollemas, Nieuwe gezichtsputten in de Voedingsleer. Utrecht, II. Aufl. 1918.

Als A-Substanz wird eine ihrer Natur nach bisher ganz unbekannte Substanz bezeichnet, welche besonders an die Fettfraktion der Milch, also an die Butter gebunden ist. Dieselbe Substanz oder wenigstens ebenso wirkende Substanzen kommen im Ei und in Vegetabilien in den grünen Blättern vor. Diese fettlösliche A-Substanz ist zum Wachstum durchaus nötig. Ohne dieselbe bleibt die Entwicklung junger Tiere stehen; aber auch erwachsene Tiere erkranken bei längerdauerndem Mangel an dieser Substanz (Xerophthalmie usw.).

Die B-Substanz ist identisch mit Funks Vitamin. An Stelle des letzteren Namen, der nach Hofmeister, Mc Collum u. a. die chemische Natur dieses Stoffes ebensowenig deckt, wie die Verallgemeinerung des Vitaminbegriffes bzw. der Avitaminosen gerechtfertigt ist, wird von Hofmeister der Name Antineuritin und für eine gegen Skorbut wirksame Substanz Antiscorbutin empfohlen. Während man in Amerika und England so neben B-Substanzen noch C-, usw. Substanzen unterschieden hat, glaubt speziell Mc Collum und Mitarbeiter, daß es nur eine B-Substanz gibt, die zum Leben durchaus unentbehrlich ist. Diese ist überall dort vorhanden, wo unsere Nahrungsmittel reich an Zellen, besonders an jungen Zellen sind, während sie in den Reservestoffen fehlt. Deshalb findet man sie auch besonders in den Kleberzellen des Reiskorns, jedoch nicht im geschälten Reis; in den Kleberzellen des Weizens, Roggens usw., in den grünen Blättern und bei animalischen Nahrungsmitteln besonders in den zellreichen Drüsen (z. B. Leber).

Von der A-Substanz ist — soweit uns bekannt — chemisch nur so viel geklärt, daß sie immer bei der Fettfraktion und deshalb wohl fettlöslich ist. Wie aus Stepps Versuchen hervorgeht, scheint die Substanz auch alkohol- bzw. alkohol-ätherlöslich zu sein.

Von der Natur der B-Substanz wissen wir bedeutend mehr. Sie ist alkohol- und wasserlöslich. Seit Funks Forschungen ist man auch ihrer chemisch reinen Darstellung schon sehr nahegekommen. Funk glaubte sie krystallinisch rein hergestellt zu haben; auch Suzuki¹⁾ und Mitarbeiter haben eine als Oryzanin bezeichnete B-Substanz aus Weizenkleie hergestellt und unlängst arbeitete Uhlmann²⁾ mit einem Vitaminpräparat „Orypan“. Die Substanz scheint nahe verwandt mit den Pyridinen, speziell mit Nicotinsäure zu sein.

Bezüglich der biologischen Wirkung dieser Substanzen wissen wir nichts Sicheres. Wodurch wirken sie, weshalb sind sie unentbehrlich? Sie scheinen bereits in so geringer Quantität wirksam zu sein, daß sie keinesfalls als Energiequellen in Betracht kommen. — Man dachte auch daran, daß sie nur die Rolle haben, gewisse im Stoffwechsel entstehende oder in der Nahrung befindliche Stoffe zu entgiften. Glaubhafter schien jedoch, daß sie — ähnlich wie viele Aminosäuren — als Bausteine gewisser

¹⁾ Vgl. Hofmeister, l. c.

²⁾ Uhlmann, Beitrag zur Pharmakologie der Vitamine. Zeitschr. f. Biol. 68, 419. 1918; Zentralbl. f. Bioch. u. Bioph. 20, 105. Uhlmanns Versuche wurden uns erst nach Abschluß dieser Versuche bekannt.

unentbehrlicher Körpersubstanzen gebraucht werden. Aber auch dem steht die auffallende Tatsache gegenüber, daß bekanntlich außerordentlich geringe Mengen schon genügen, um die pathologischen Erscheinungen fast momentan zu heilen. So heilen z. B. schon einige Milligramm B-Substanz beriberikranke Hühner und mangels A-Substanz im Wachstum stehengebliebene Ratten beginnen sogleich zu wachsen, wenn nur einige Gramm Butter verfüttert sind.

Man muß da auf den Gedanken kommen, daß diese Substanzen entweder selbst eine starke physiologische Reizwirkung haben müssen oder aber vielleicht Bausteine einer sehr wirksamen Substanz (Hormons oder Antikörpers?) sind. Diese zwei Möglichkeiten scheinen bisher kaum geprüft zu sein. Wir wollen im folgenden nur die erstere Möglichkeit untersuchen: enthalten die an diesen Körpern reichen Nahrungssubstanzen einen physiologisch stark wirksamen Stoff?

Man kann an diese Frage auf zweierlei Wegen herantreten. Entweder versucht man diese Substanzen rein darzustellen und untersucht dann die Wirkung dieser „reinen“ Substanzen, so wie es z. B. Uhlmann machte. Oder man geht von den Nahrungsmitteln aus, die erfahrungsgemäß die Substanzen enthalten und untersucht, ob in den Extrakten stark wirksame Stoffe vorhanden sind. Beide Wege müssen begangen werden. Wir haben vorerst den letzteren versucht.

Versuchsplan: Wir haben deshalb Extrakte aus je einer Substanz gemacht, die in besonders großer Quantität den A-, bzw. aus solcher die den B-Körper enthält und untersuchten, welche Wirkung diese Extrakte auf verschiedene physiologische Funktionen haben.

Verschiedene Möglichkeiten bestehen. Wenn sich keinerlei Substanzen nachweisen lassen, die irgendwelche Organfunktionen beeinflussen, so ist wohl die lebenswichtige Wirkung in anderer Richtung zu suchen. Ließe sich aber in den Extrakten ein sehr wirksamer Stoff nachweisen, so könnte vielleicht durch Fraktionieren der aktiven Substanz nähergekommen werden.

Demnach wurde geprüft, welche Wirkung Extrakte von Nahrungsmitteln haben, die besonders reich an der Substanz A und von solchen, die reich an B sind. Der Hauptrepräsentant der Substanz A (fettlöslicher, Wachstum fördernder Faktor) ist Butter bzw. die Fettfraktion der Milch. An B-Substanz ist besonders Weizenkleie sehr reichhaltig, aus welcher sie mit Alkohol

und Wasser extrahierbar ist. Suzuki, McCollum usw. benutzten Weizenkleie, während Funk von Reiskleie ausging. Auch wir benutzten Weizenkleie. Unsere Versuche teilen sich demnach in solche mit Butterextrakt (A) und Weizenkleienextrakt (B).

Wir untersuchten: 1. Die Wirkung auf die Vasomotoren im Laewen-Trendelenburgschen Froschpräparat; 2. dasselbe am Kaninchenohr; 3. auf das isolierte Froschherz; 4. auf den Blutdruck von Warmblütern; 5. die allgemeine Giftwirkung beim Frosch; 6. die Wirkung auf den isolierten Nerv- und Muskel; 7. auf den isolierten Darm; 8. die Pupille; 9. auf Drüsensekretion (Pankreassaft, Galle, Speichel) und 10. die Zuckerausscheidung des pankreas-diabetischen Tieres. Wir werden diese Versuchsreihen nacheinander beschreiben und am Schluß summieren, welche Wirkung den einzelnen Extrakten zukommt.

Herstellung der Extrakte: Wir haben insgesamt 30 verschiedene Extrakte geprüft, wobei sowohl verschiedenes Material, als auch dasselbe Material auf verschiedene Weise extrahiert, geprüft wurde. Es zeigte sich bald, daß für unsere Zwecke Äther- und Aceton-Extrakte aus Butter, alkoholische und wässrige Extrakte aus Mehl — die zum Vergleich herangezogen wurden — keine Bedeutung haben. Wir übergehen deshalb alle mit diesen gemachten Versuche und beschreiben nur die alkoholischen und alkoholisch-wässrigen Butter- und Kleienextrakte. Die Extrakte wurden nach den folgenden Rezepten hergestellt und mit den folgenden Bezeichnungen versehen:

Butterextrakte: A 1. 50 g frische, reine Butter wurden mit 50 ccm 96 proz. Alkohol extrahiert, 2 Stunden geschüttelt, dann 24 Stunden lang bei 15° oder 37° stehengelassen und abgesaugt.

A 2. 200 g Butter wurden mit 200 g Alkohol extrahiert und auf dem Wasserbade bis zu 20—24 ccm eingedampft.

A 3. Extrakt A 1 wurde auf dem Wasserbad zu Sirupkonsistenz eingedampft und dann bis zur Ausgangsmenge in Ringerlösung wieder gelöst.

A 4. Extrakt A 2 wurde auf dem Wasserbade ebenso eingedampft und dann in ebensoviel Ringerlösung wieder gelöst.

A 1 wäre kurz als alkoholischer, A 2 als konz. alkoholischer, A 3 als alkoholisch-wässriger, A 4 als konz. alkoholisch-wässriger Butter-Extrakt zu bezeichnen.

Kleienextrakte. B 1. 10 g Weizenkleie werden mit 50 ccm 70proz. Alkohol extrahiert. 2 Stunden geschüttelt, dann 24 Stunden lang bei 15° bzw. 37° stehengelassen.

B 2. 100 oder 200 g Weizenkleie wurden mit ebensoviel Alkohol extrahiert und auf 40 ccm eingedampft.

B 3. Extrakt B 1 wurde auf dem Wasserbad bis zu Sirupkonsistenz eingedampft und dann bis zur Ausgangsmenge in Ringerlösung gelöst.

B 4. Extrakt B 2 wurde auf dem Wasserbade ebenso eingedampft und in ebensoviel Ringerlösung gelöst.

Wir bezeichnen hier auch B 1 als alkoholischen, B 2 als konz. alkoholischen, B 3 alkoholisch-wässrigen, B 4 als konz. alkoholisch-wässrigen Kleienextrakt.

Die alkoholischen Extrakte gaben bereits in 0,5proz. wässriger Lösung Opaleszenz und nach längerem Stehen, besonders die konz. alkoholischen, auch Fällung. Die wässrigen Extrakte gaben das nicht. Die Wirkung an verschiedenen Präparaten wird an einzelnen Beispielen demonstriert.

Versuche am Laewen-Trendelenburgschen Frosch-Präparat.

Wir haben die Wirkung auf Vasomotoren sowohl am Kalt- als auch am Warmblüter untersucht. Wir machten unsere Versuche zuerst am Laewen-Trendelenburgschen Präparat, wobei wir der oft beschriebenen Originalmethodik folgten. Zur Durchströmung wurde Ringerlösung benutzt, zu welcher die Extrakte hinzugesetzt wurden. Umschalten eines T-Hahnes gestattete fast momentanen Wechsel der Flüssigkeit. Es wurden insgesamt 17 gut gelungene Versuche gemacht, wobei in jedem mehrere Extrakte geprüft wurden.

Wie aus den als Beispiel angeführten Protokollen hervorgeht, zeigten die Extrakte charakteristische und konstante Eigenschaften. A-Extrakt (Butter) wirkt regelmäßig vasodilatatorisch; B-Extrakt (Kleie) dagegen vasoconstrictorisch. Aus dem A-Extrakt ließ sich der vasodilatatorische Körper auch mit Wasser extrahieren, dagegen aus dem B-Extrakt der Vasoconstrictorkörper nicht. Sowohl die Vasodilatator- als die Vasoconstrictorwirkung kann, wenn der Extrakt nicht zu lange durchgeflossen ist, rückgängig gemacht werden. Die Wirkung erscheint rasch und klingt, nach Wiedereinschalten der Ringerlösung, nur langsam ab.

In Tabelle I sind 7 Versuche als Beispiel für die Wirkung der Extrakte wiedergegeben.

Der A-Extrakt (Butterextrakt) hat eine recht bedeutende Vasodilatatorwirkung. Eine $\frac{1}{2}$ proz. A 1-Lösung gab gelegentlich schon 150% Zunahme der Durchflußmenge. Die gute Wasserlöslichkeit der Vasodilatatorsubstanz wird demonstriert, indem eine 2proz. Lösung des eingedampften alko-

Fortsetzung auf S. 192.

Tabelle I.

Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung	Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung
Versuch XVIII. 23. XII. 1919.					Versuch XL. 3. II. 1920.				
5 ^h 5'	Ringer	290	19	Alkoholisch. Butter- extrakt in Ringer- lösung	12 ^h 27'	0,5% A 2	—	—	Konz. alkoholisch. Butter- extrakt
20			19		30			33	
22	0,5% A 1		—		40			35	
25			46		42	Ringer		—	
30			48		45			22	
35	Ringer		54		55			22	
53			44		57	0,5% B 2		—	Vasocostr. Wirkung von Klei- extrakt
6 ^h 0			44		1 ^h 0			7	
3	0,5% A 1		—		Versuch XL. 3. II. 1920.				
5			44		5 ^h 10'	Ringer	175	16	
10			70	20			15		
11	Ringer		—	22	0,5% A 2		—	Konz. alkoh. Butter- extrakt in Ringerlösg. Starkes Ödem	
15			54	25			20		
40			36	35			35		
42	0,5% A 1		—	40			28		
45			45	45			22		
53			66	50			12		
57			75	52	Ringer		—		
59	Ringer		—	6 ^h 0			4		
7 ^h 5		265	45	10		255	30		
10			38	15			32		
15			36	20			32		
16	0,5% A 1		—	22	0,5% A 2		—		
20			45	25			65		
25			60	30			67		
30			60	Versuch XIV. 19. XII. 1919.					
35			60	10 ^h 39'	Ringer	330	6		
Versuch XLIV. 11. II. 1920.					55		5		
10 ^h 35'	Ringer	210	22	11 ^h 0			5	Alkoholisch. Kleieextrakt	
45			22	2	0,5% B 1		—		
47	2% A 4		—	5			5		
55			30	14			2		
56			35	15	Ringer		—		
57	Ringer		—	21			5		
11 ^h 0			34	40			12		
15			30	41	0,5% alk. Mehlextr.		—	Alkoholisch. Mehlextrakt	
20			29	45			15		
22	2% A 4		—	55			17		
25			34	12 ^h 0			18		
30			36	21			8		
32	Ringer		—	23	0,5% B 1		—	Alkoholisch. Kleieextrakt	
40			32	25			7		
45			30	30			3		
47	6% A 4		—	35	Ringer		3		
50			37	43			3		
55			50	2 ^h 55	0,5% alk. Mehlextr.		—	Alkoholisch. Mehlextrakt	
57	Ringer		—				—		
12 ^h 0			36				—		
25			24				—		

Tabelle I (Fortsetzung).

Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung	Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung
Versuch XVI. 20. XII. 1919.					Versuch XXVIII. 19. I. 1920.				
3 ^h 3'			2		2 ^h 3'	Ringer	230	13	
53			5		10			13	
58	Ringer		—		12	1% B 1		—	Alkohollsch. Kleleextrakt
4 ^h 8			6		15			7	
15			6		30			5	
17	0,5% B 1		—	Alkohollsch. Kleleextrakt	32	Ringer		—	
22			5		35			6	
5 ^h 0			2		3 ^h 5		280	9	
Versuch XVI. 20. XII. 1919.					15			14	
12 ^h 4'	Ringer	275	16		25			15	
8			—		27	0,1% B 2		—	Konz. alkohollsch. Kleleextrakt
8	0,1% B 1		16		30			13	
13			14		35			7	
19			9		37	Ringer		—	
20	Ringer		—		45			11	
26			14		4 ^h 0			11	
28			16		2	0,1% B 2		—	
29	0,01% B 1		—		5			8	
30			17		20			6	
1 ^h 2			16		27	Ringer		—	
3	Ringer		—		35			7	
10			16		5 ^h 0			10	
2 ^h 5			10		Versuch XXV. 7. I. 1920.				
7	0,5% alk. Mehlextr.		—		3 ^h 30'	Ringer	145	15	
10			10		40			14	
30			8		42	1% B 3		—	
33	Ringer		—		45			15	
37			8		55			18	
45			8		57	Ringer		—	
47	0,5% alk. Mehlextr.		—		4 ^h 0			20	
50			14		20			14	
55			14		30			14	
57	Ringer		—		32	1% B 3		—	
3 ^h 3			13		35			15	
25			8		40			16	
30			8		55			14	
31	0,1% B 1		—		57	Ringer		—	
35			8		5 ^h 0			14	
47			8		2	1% B 1		—	
48	0,5% B 1		—		5			7	
50			8		7	Ringer		—	
4 ^h 9			4		10			4	
10	Ringer		—		40			7	
18			6		45		195	16	
38			4		55			18	
					57			19	
					6 ^h 25			19	
					27	5% B 3		—	

• Tabelle I (Fortsetzung).

Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro mm	An- merkung	Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro mm	An- merkung
6 ^h 30'	Ringer		23		7 ^h 5'	Ringer		22	
40			25		10			32	
42			—		12			—	
45			23		15			20	
7 ^h 0			18		20			19	
2	1% A 1	—	—						

holischen Extraktes (A 4) noch 50%, eine 6proz. 100% Zunahme der Tropfenzahl bewirkt. So ändert sich z. B. in Versuch XVIII nach 0,5% A 1 die Tropfenzahl von 19 auf 48, 44 auf 70, 36 auf 75. Durch den konzentrierteren A 2-Extrakt (Versuch XL) von 15–35, 32–67. Der wässrige Extrakt A 4 (Versuch XLIV) gibt in 2proz. Lösung 22 auf 35 und in 6proz. 30 auf 50.

Die Vasoconstrictorwirkung der B 1-Extrakte betrug in 0,5proz. Lösung bis zu 200% (z. B. in Versuch XIV von 5–2, 8–3, 6–2) und bei dem konzentrierten alkoholischen Extrakt schon in 0,1proz. Lösung 100% Abnahme (in Versuch XXVIII von 15–7, 11–6). Dampft man den letzteren Extrakt ein und löst wieder in Wasser (bzw. Ringerlösung), so erhält man nun keine Vasoconstriction, dagegen eine schwache Vasodilatation. In 5proz. Lösung beträgt sie etwa 25% (z. B. in Versuch XXV von 14–20, 14–16, 19–25).

Einige Kontrollversuche zeigten, daß in feinstem Weizenmehl (das zur selben Kleie gehörte) mit Alkohol keine Vasoconstrictorsubstanz, dagegen eine alkohol- und wasserlösliche Dilatatorsubstanz extrahierbar ist. Demnach hat diese Vasodilatatorsubstanz sicher nichts mit den von uns gesuchten Körpern zu tun. (Versuch XIV 12–18 in alkoholischer, 3–6 in wässriger Lösung.)

Versuche am Kaninchenohr.

Einem eben getöteten Kaninchen wurden die Ohren abgeschnitten und in die zentrale Arterie eine Kanüle eingeführt. Die Methodik ist in letzter Zeit öfters beschrieben worden. Durchströmt wurde mit Ringerlösung von Zimmertemperatur, durch welche Luft perlte. Die Zahl der abfließenden Tropfen wurde gezählt. Umschalten eines T-Hahnes gestattete auch hier rasche Änderung der Flüssigkeit.

Die Wirkung der Extrakte stimmt vollständig mit jener am Laewen-Trendelenburg-Präparat überein. Der A-Extrakt hat auch hier Vasodilatatorwirkung, während B-Extrakt vasoconstrictorisch wirkt.

Der A 1-Extrakt gab in den Versuchen XXXIV, XXXVII und XXX in 1proz. Lösung Erhöhung der Tropfenzahl von 20–24, 30–37, und in 2proz. Lösung von 32–35, 57–72. Der B 1-Extrakt war wirkungslos, dagegen hatte der konzentrierte B 2-Extrakt deutliche Wirkung, und zwar

gab er in Versuchen XXXVII, XXX in 0,5proz. Lösung eine Abnahme der Tropfenzahl von 24—8, 63—29, 17—3.

Hier sei auch einer Kontrolle gedacht, die natürlich auch am Froschpräparat gemacht wurde, indem die Wirkung von 2proz. Alkohol geprüft wurde. Dieser wirkt schwach vasoconstrictorisch. Das kann unsere Resultate nicht beeinflussen, denn die Vasoconstrictorwirkung der B-2-Extrakte ist schon in 0,5% sehr deutlich, und A-Extrakte wirken gerade umgekehrt.

Die am Frosch gefundenen Resultate gelten also ebenso auch für den Warmblüter.

Tabelle II.

Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung	Zeit	Lösung	Druck mm	Tropfen pro Minute	An- merkung
Versuch XXXVII. 27. I. 1920.					3 ^h 42'	1% A 1		—	
10 ^h 45'	Ringer	445	24		45			35	
55			24		50			37	
57	0,5% B 2		—		Versuch XXX. 20. I. 1920.				
11 ^h 0			8		3 ^h 25'	Ringer	440	32	
2	Ringer		—		30			32	
5			3		32	2% A 1		—	
35			5		35			35	
37	1% A 1		—		40			34	
40			5		45			35	
12 ^h 33			12		50			33	
43			12		55			31	
45	Ringer		—		56	Ringer		—	
49			13		4 ^h 0			31	
59			13	Versuch unterbrochen	25			34	Versuch unterbrochen
2 ^b 48		420	20		50			57	u. geändert
50			20		55			57	
52	1% A 1		—		57	2% A 1		—	
55			24		5 ^h 0			72	
Versuch XXXIV. 23. I. 1920.					5			67	
3 ^h 0'	Ringer	445	30		10			59	
10			30		12	Ringer		—	
12	2% Alkoh.		—	Kontroll-Versuch	15			57	
15			18		25			63	
20			8		30			63	
22	Ringer		—		32	0,5% B 2		—	
25			9		35			29	
30			22		36	Ringer		—	
35			30		40			18	
40			30		6 ^h 25			35	
			30		7 ^h 38			35	

Versuche am isolierten Froschherz.

Wir benutzten zur Durchströmung die Methode von Symes¹⁾. Die Flüssigkeit floß in den Ventrikel durch eine Kanüle mit kurzem Gummiansatz, die an eine I-Kanüle geschaltet wurde. Dadurch wird er-

¹⁾ Symes, Journ. of physiol. XXV, 43. 1912.

reicht, daß ein Überdruck nicht möglich ist, denn die Flüssigkeit entweicht dann nach oben. Der horizontale Ast stand mit Davyflaschen in Verbindung, in welchen Ringer- bzw. Extrakt-Ringerlösung war. An insgesamt 19 Herzen wurden jedesmal verschiedene Extrakte geprüft.

Sowohl die A- wie die B-Extrakte sind giftig, jedoch ist die Wirkung von beiden restituierbar. Die einfachen alkoholischen Lösungen sind fast ungiftig, konzentrierte alkoholische A-2- und B-2-Lösung ist dagegen von 0,5% an giftig. Der wässrige Extrakt A 4 ist wirksam, dagegen ist — in Übereinstimmung mit den am Laewen-Trendelenburgschen Präparat gemachten Erfahrungen — der wässrige Kleieextrakt B 4 unwirksam. Demnach geht die auch für das Herz giftige Substanz nicht in die wässrige Lösung über. Die folgenden Kurven erläutern das.

Versuch XXXIX (Abb. 1) zeigt die Giftwirkung eines 1% A-2-Extraktes (konzentrierter alkoholischer Butterextrakt) und die fast momentane Restitution nach Ringerlösung.

Daß es sich dabei nicht um Alkoholwirkung handelt, zeigt Versuch X (Abb. 2), in welchem 1 und 2% Alkohol noch wirkungslos und erst 4% Alkohol giftig wirkt, aber selbst dann noch nicht so giftig wie 0,5% Butterextrakt.

Versuch XLII (Abb. 3) zeigt die Wirkung eines B-2-Extraktes in 1proz. Lösung. Die Wirkung zeigt sich erst nach 10 Minuten in einer Verkleinerung der Kontraktionen.

In Versuch VII (Abb. 4) wird demonstriert, daß die wirksame Substanz der Butter auch in Wasser löslich ist. Der A-4-Extrakt gibt in 10proz. Lösung rasche, aber ganz restituierbare Giftwirkung.

Umgekehrt geht die Giftsubstanz der Kleie nicht in den wässrigen Extrakt über, wie das Versuch X (Abb. 5) zeigt, in welchem B 4 wirkungslos ist. Gelegentlich wurde allerdings nach wiederholter Anwendung auch dieser Extrakt giftig (Versuch LII).

Endlich ist in Versuch X (Abb. 6) ein Fall beschrieben, in welchem ein A 1-Extrakt eine scheinbar restituierende Wirkung hatte. Das Herz schlug aus unbekanntem Gründen unregelmäßig (Pulsus alternans). Der verdünnte alkoholische A-1-Extrakt änderte in 0,5proz. Lösung sogleich den Rhythmus, welcher normal wurde, während er auf Ringerlösung wieder unregelmäßig wurde. 0,5% Alkohol hatte diese Wirkung nicht.

Ein B-1-Extrakt gab gelegentlich Herzbeschleunigung. Demnach ist alkoholischer Butter- und Kleieextrakt, besonders ersterer giftig auf das isolierte Froschherz. Die giftige Substanz der Butterextrakte geht auch in Wasser über, jene der Kleieextrakte jedoch nicht.

Wirkung auf den Blutdruck.

Es wurden 5 Versuche, und zwar 3 an Hunden und 2 an Kaninchen ausgeführt. Die Tiere waren mit Morphin bzw. Urethan und ACE narkotisiert. Sie lagen während des Versuches auf einem erwärmten Operationstisch. Die Tiere wurden gleichzeitig auch zur Beobachtung der Wirkung



Abb. 2



Abb. 1.



Abb. 8.



Abb. 5.



Abb. 4.



Abb. 6.

der Extrakte auf die Sekretion verschiedener Drüsen benutzt (S. 202). Die Art. carotis der linken Seite war mit einem Hg-Manometer verbunden, das auf einem Kymographion registrierte. Die Extrakte wurden intravenös durch die rechte V. jugularis injiziert.

Die A-Extrakte (Butter), und zwar sowohl alkoholische wie wässrige, gaben Blutdrucksteigerung, welcher meist eine kurze Blutdrucksenkung während der Injektion vorausging. Die B-Extrakte (Kleie) gaben auch Blutdrucksteigerung, jedoch nur in alkoholischer Lösung, und die wirksame Substanz ging ebenso wie in den Versuchen am Froschpräparat und Herz nicht in die wässrige Lösung über. Die an isolierten Organen gewonnenen Erfahrungen erklären wohl die blutdrucksteigernde Wirkung der B-Extrakte, nachdem dort gezeigt war, daß es sich um Vasoconstrictorwirkung handelt. Dagegen läßt sich die Wirkung der A-Extrakte so nicht erklären.

Als Beispiel seien die folgenden Kurven angeführt:

Versuch IV (Abb. 7) an einem 5000 g schweren Hund zeigt die Wirkung eines A 4 (konzentrierter alkoholisch-wässriger Butterextrakt). Während der Injektion von 10 ccm Extrakt sinkt der Blutdruck, dann steigt er, besonders nach der zweiten Injektion. Hierauf wurde eine Registrierung bei schnellem Trommelumgang gemacht, in welcher auch die Pulsbeschleunigung zu sehen ist. Der alkoholische konzentrierte A-2-Extrakt hatte dieselbe Wirkung (Versuch XXVI).

Versuch XXVI (Abb. 8) an einem 2500 g schweren Kaninchen zeigt die Blutdrucksteigerung während der Injektion von 10 ccm eines B-2-Extraktes (konzentrierte alkoholische Kleie) in 10proz. Lösung.

Versuch LI (Abb. 9) an einem Hund zeigt, daß die wirksame Substanz des B-Extraktes in Wasser (Ringer) nicht übergeht. Dagegen gab kurz darauf der wässrige A-Extrakt, ebenso wie in Versuch IV, deutliche Blutdrucksteigerung. (1. Injektion 10 ccm B 4, 2. und 3. Injektion je 10 ccm A 4 bei \square).

Die allgemeine Giftigkeit der Extrakte.

Die im vorigen Abschnitt behandelte Wirkung auf den Blutdruck von Säugern zeigt auch, daß die Extrakte hier nur sehr vorübergehende Wirkung haben und so gut wie ungiftig sind. Wir haben auch Giftigkeitsprüfungen an Fröschen vorgenommen, welchen wir diese Extrakte subcutan injizierten (Versuche LIII, LIV, LVII). Dabei wurde das allgemeine Verhalten, Reizbarkeit, Stellung, Atmung, Pupillen usw. beachtet. Die Versuche sind an Winterfröschen ausgeführt bei einer Zimmertemperatur von ca. 15° C.

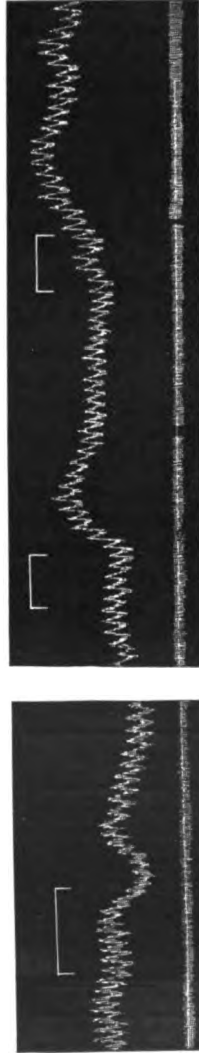
In Versuch LIII wurde drei Fröschen je 1, 5, 8 ccm A-4-Extrakt injiziert. Das letzte Tier saß etwa eine Stunde lang mit abwärts gesenktem Kopf und geschlossenen Augen und reagierte träge. Nach 4 Stunden waren diese Erscheinungen verschwunden. Die Tiere blieben am Leben. Drei weitere Frösche erhielten je 1, 5 und 10 ccm B-4-Extrakt. Das zweite und dritte Tier reagierte mehrere Stunden lang nur träge auf Reize. Das 5-ccm-Tier konnte während 1–2 Stunden auf den Rücken gelegt, sich nicht



Abb. 7.



Abb. 8.



umwenden. Die Tiere waren nach 24 Stunden ganz normal und blieben am Leben.

In Versuch LXVII gaben zwei Tiere mit B-4-Extrakt (5 bzw. 10 ccm) dasselbe Resultat wie die vorigen. Dagegen hatte bei zwei anderen Fröschen $\frac{1}{2}$ ccm bzw. 1 ccm B-2-Extrakt (konzentrierte alkoholische Kleie) schon nach 15 Minuten eine stark lähmende Wirkung. Sie ließen sich aus der Rückenlage nicht mehr zurückdrehen und reagierten kaum auf Reize. Der Cornealreflex blieb bestehen. Nach 48 Stunden waren die Tiere normal (Alkoholwirkung?).

Die Extrakte gefährden also das Leben selbst in sehr großen Quantitäten nicht. Die konzentrierten alkoholischen B-2-Extrakte gaben starke Lähmungserscheinung, die den wässerigen Extrakten fehlen (Alkoholwirkung?). Die wässerigen A- und B-Extrakte sind ganz ungiftig.

Wirkung auf die Reizbarkeit von Nerv und Muskel.

Die Wirkung auf die Reizbarkeit von Nerv und Muskel wurde am Gastrocnemius-Ischiadicus-Präparat und am Sartorius des Frosches untersucht. Die in bekannter Weise isolierten Präparate kamen in Ringerlösung, zu welcher die entsprechenden Extrakte hinzugesetzt wurden. Von Zeit zu Zeit wurde die Reizschwelle kontrolliert. (Edelmann-Induktorium, 1 Acc. im primären Kreis, Öffnungsschläge. Angabe der Reizschwelle in Millimeter Rollenabstand.)

Versuch XL mit A-Extrakt gab das folgende Resultat (Tabelle III). (Der Extrakt war aus 250 g Butter mit 250 g 90 proz. Alkohol extrahiert worden, dann auf 40 ccm eingedampft und enthielt nun nur Spuren von Alkohol. Er wurde zu Ringerlösung hinzugesetzt.)

Tabelle III.
Vers. XL. A-Extrakte.

Stunden	N. ischiadicus						M. gastrocnemicus						M. sartorius						Präparat Extrakte in %
	0	0,5	1	2	5	10	0	0,5	1	2	5	10	0	0,5	1	2	5	10	
0	82,5	89	89	92	87,5	87,5	25	24,5	21	27	24	22	27	26	26	26	30,5	16,5	
8	41	40	42,5	40,5	47,5	32,5	23,5	24	22	24	23,5	25,5	16	21	28,5	28	26	0	
21	86	87	41,5	38	26	11	19	23	21	22	14	11	22	24	24	0	17	0	
28	88	26	29	25	25	0	21	23	17	18,5	11	11	22	23	22	0	0	0	
45	28	22,5	26,5	0	0	0	18,5	21,5	9	0	0	0	9	6	18	0	0	0	
54	26	81	0	0	0	0	17	20	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
69	25	10	0	0	0	0	10	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Vers. XLVIII. B-Extrakte.

Stunden	B 2					B 4					B 2					B 4					Extrakte in %		
	0	0,5	1	1	5	10	0	0,5	1	1	5	10	0	0,5	1	1	5	10	0	0,5		1	1
0	28,5	—	32	24,5	35	—	15,5	13,5	14	16	15	15	15,5	16,5	14	12	18,5	15,5					
0,45	40	42,5	38,5	40	40	41	19,5	19	17	22,5	21	17,5	27,5	22,5	20	27,5	30,5	29					
30	48	37,5	42,5	42,5	39	—	17,5	17	18	17,5	19,5	16	18,5	17,5	17	18,5	25,5	24,5					
18	43	40	42	40	35	0	17,5	15	19	17,5	17	13	18,5	17,5	19,5	19	21,5	30					
27	39	41	41	39	42,5	0	19	17	17,5	19	13	19,5	19,5	22,5	19	20	22,5	28					
43	38	35	34,5	25	24,5	0	19	17	17	17	17	17	17,5	15	20,5	11	20	21	16,5				
67	34	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0					

Wie man sieht, behalten die Kontrollpräparate ihre direkte und indirekte Reizbarkeit 3 Tage lang. 1% Extrakt ist fast ungiftig und erst 10% gibt bereits innerhalb 24 Stunden deutliche Giftwirkung, d. h. ein Verschwinden der Reizbarkeit.

In Versuch XLVIII mit B-Extrakt hebt der konzentrierte alkoholische B-2-Extrakt in $\frac{1}{2}$ –1 proz. Lösung die Reizbarkeit selbst in 2 Tagen nicht auf, während der alkoholische wässrige B-4-Extrakt in 10 proz. Lösung rasch die Reizbarkeit des Nerven vernichtet.

Die giftigen Konzentrationen sind so hoch (10%!), daß die Giftwirkungen nicht als spezifisch gelten können, so daß also die Extrakte auch in ihrer Wirkung auf Nerv und Muskel als ungiftig betrachtet werden müssen.

Wirkung auf den Darm.

Die Versuche wurden an isolierten Kaninchen- und Katzendärmen ausgeführt, die nach der Methode von Magnus in Tyrodelösung suspendiert waren. Die beständig durch die Flüssigkeit perlende Luft wurde durch Druckflaschen betrieben. Das Gefäß, in welchem das Darmstück war, hatte ein Volum von 150 ccm. Das ganze stand in einem Wasserbad von 38° C. Von den zahlreichen Einzelversuchen an den Därmen von 5 Kaninchen und 2 Katzen sind hier einige Kurven wiedergegeben. Nachdem zuerst die normalen Kontraktionen registriert waren, wurden die Extrakte hinzugesetzt.

Kontrollversuche mit Alkohol zeigten, daß 1–1½% Alkohol (Versuche IX, XXXI, Abb. 10) erregend wirkt, während 2–8% rasche Hemmung der Kontraktionen gibt. Höhere Konzentrationen der alkoholischen Extrakte sind also nicht anwendbar.

A - Extrakte. In Versuch XXXV hat der konzentrierte alkoholische A-2-Extrakt in 0,2–0,3 proz. Lösung stark giftig gewirkt (Abb. 11). In Tyrodelösung wurde die Wirkung jedoch vollkommen restituiert. Der A-1-Extrakt wirkte erst in 1 proz. Lösung hemmend auf die Bewegungen (Versuch XXXI).

B - Extrakte. Der B-1- (alkoholische Kleie-) Extrakt hatte wiederholt — besonders bei schlecht arbeitenden Präparaten — eine ordnende Wirkung auf die Kontraktionen. 1½–2 proz. Lösungen wirken jedoch schon hemmend, was aber auch Alkoholwirkung sein kann (Versuch XXXI, 1, 2, 3 und Versuch XXXII, Abb. 12 und 13).

Bei einem nach Weiland¹⁾ mit Darmextrakt behandelten Katzendarm, der ganz regelmäßig arbeitete, hatte schon ½% B-1-Extrakt hemmende Wirkung (Versuch XVII, Abb. 14). Der konzentrierte B-2-Extrakt war bereits in 0,2 proz. Lösung stark giftig (Versuch XXXV, 3, Abb. 15). Aber auch hier ist die Wirkung restituierbar.

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß die alkoholischen konzentrierten Butter- und Kleieextrakte auf die Darmbewegung stark giftig sind. Nur bei den verdünnten B-1-Extrakten kam gelegentlich eine die Bewegung ordnende Wirkung zur Beobachtung.

¹⁾ Arch. f. ges. Phys. 147, 171. 1912.



Abb. 10.



Abb. 11.

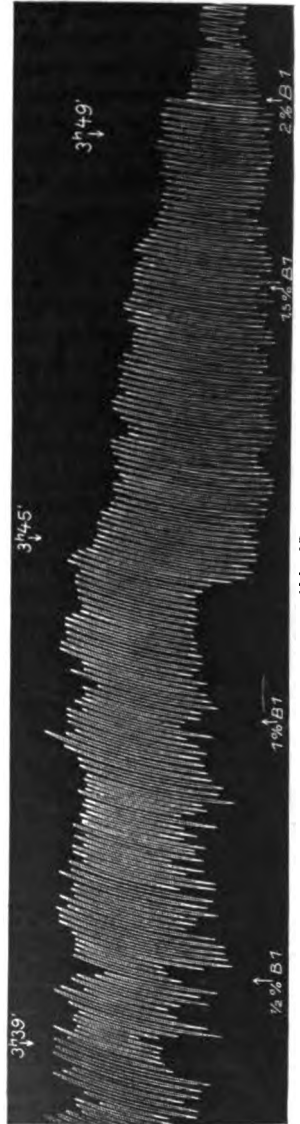


Abb. 12.



Abb. 13.



Abb. 14.

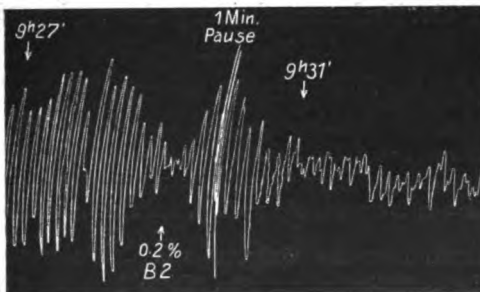


Abb. 15.

Wirkung auf die Pupille.

Wir haben die Wirkung sämtlicher Extrakte am Kaninchenauge geprüft, indem wir sie innerhalb einiger Stunden mehrmals einträufelten. Als Kontrolle diente das andere Auge. Niemals zeigte sich irgendwelche Wirkung, abgesehen von einer conjunctivalen Hyperämie, die auf die Reizwirkung des Alkohols zurückführbar ist.

Auch an isolierten Froschbulbi haben wir nach Ehrmanns Methode diese Wirkung untersucht. Zu den enucleirten, in Paraffinschälchen befindlichen Bulbi kam der mit Ringerlösung gemischte Extrakt (Versuche LVII, LVI, LI, XLIX). Es wurden in jedem Versuch 6—8 Bulbi gleichzeitig beobachtet. Kontrollen wurden mit Ringerlösung und mit Alkohol aufgestellt.

Keinerlei charakteristische Wirkung war zu beobachten. Nach 24 Stunden waren alle Pupillen stark dilatiert. Manchmal schien es, daß das bei den Vergifteten etwas früher eintrat. Irgendeine spezifische Wirkung ist jedoch nicht vorhanden.

Wirkung auf Drüsensekretion.

Bei den drei Hunden, an welchen wir auch die Wirkung dieser Extrakte auf den Blutdruck untersucht haben (S. 196), wurde gleichzeitig auch die Sekretion des Pankreassaftes, der Galle und des Speichels kontrolliert. Es wurde diesen in Morphin-ACE-Narkose befindlichen Tieren je eine Kanüle in den Ductus submaxillaris, Ductus pancreaticus und Ductus choledochus eingeführt und mittels einem mit Wasser gefülltem Schlauche mit einer in $\frac{1}{10}$ ccm kalibrierten Pipette verbunden, wobei darauf geachtet wurde, daß das Sekret keinem Druck ausgesetzt sei. Die Injektion der Extrakte erfolgte in die V. jugularis. Vor der Injektion wurde $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde lang die Sekretion gemessen, und nach der Injektion weiter genau bestimmt.

In keinem Falle, weder durch die A- noch durch die B-Extrakte, konnte eine Änderung in der Gallen-, Speichel- oder Pankreassekretion bemerkt werden (Versuche IV, XX, LI), doch ist die Zahl unserer Versuche zu gering um, nach den schönen Untersuchungen von Uhlmann und Bickel (cit. bei Uhlmann), hieraus Schlüsse zu ziehen und es sollen diese Versuche noch ergänzt werden.

Wirkung auf die Zuckerausscheidung des pankreasdiabetischen Hundes.

(Versuche mit Dr. O. Weszeczky und stud. med. G. Martos.)

Wir haben einleitend ausgeführt, daß die Wirkung der unbekanntenen A- und B-Substanzen vielleicht darin bestehen könnte, daß sie auf die innere Sekretion in irgendeiner Weise wirken. In dieser Hinsicht schien uns der Befund von Boruttau¹⁾ wichtig, nach welchem in der Rinden-

¹⁾ Boruttau, Über das Verhalten von Ergänzungsnährstoffen II. Über spezifische antidiabetische Stoffe. Diese Zeitschr. 88, 420. 1918; vgl. Zentralbl. f. Bioch. u. Bioph. 20, 23; 19, 2133.

schicht der Haferkörner ein Stoff enthalten sei, welcher bei innerlicher Darreichung sowohl beim pankreasdiabetischen Hund wie am diabetischen Menschen die Zuckerausscheidung beträchtlich herabsetze. Es liegt nahe, hier an diese akzessorischen Nahrungssubstanzen zu denken, besonders an den B-Stoff, der ja auch in der Rindenschicht dieser Körner vorhanden ist. Wir prüften deshalb unsere Extrakte auch in dieser Richtung, indem wir sie Hunden injizierten, deren Pankreas entfernt worden war und die Wirkung auf die Zuckerausscheidung beobachteten. Wie die folgenden Protokolle zeigen, war das Resultat negativ.

1. Hund P. 5000 g. Am 15. I. totale Pankreasextirpation. Erhält täglich 500 g Küchenabfall und Wasser nach Belieben. Der 24stündige Urin wurde gesammelt und der Zucker mittels Polarisation und Titration nach Pavy bestimmt. Bauchwunde heilt per primam.

Tabelle IV.

Tag nach der Operation	Tagesmenge Urin ccm	Tagesmenge Zucker g	Injektion usw.
4	310	17,6	
5	420	19,7	
6	460	23,5	
7	340	18,2	
8	370	18,5	
9	410	24,4	
10	720	46,3	Morgens 15 ccm A-2-Extrakt in 100 ccm Ringer subcutan
11	285	11,6	
12	610	31,3	
13	479	26,1	Morgens 20 ccm A-2-Extrakt in 100 ccm Ringer subcutan
14	595	11,8	
15			Morgens tot aufgefunden

Sektion: Pankreas fehlt vollkommen. Keine Wundeiterung. An der Stelle der subcutanen Injektion Nekrose.

Epikrise: Die Abnahme des Zuckers am 11. Tag ist nur scheinbar. Nimmt man den Mittelwert des 10. und 11. Tages 29,0 g, so zeigt sich

Tabelle V.

Tag nach der Operation	Tagesmenge Urin ccm	Tagesmenge Zucker g	Injektion usw.
4	330	28,7	
5	290	15,5	
6	210	18,3	
7	320	22,3	Am Anfang des Tages Injektion von 10 ccm B 2 in 100 ccm Ringer
8	230	16,0	
9	160	10,0	
10			Stirbt im Laufe des Tages

kein Unterschied gegenüber der Vor- und Nachperiode. Die Abnahme am 14. Tag ist eine prámortale Erscheinung.

2. Hund Q. 4000 g. Am 15. I. totale Pankreasektirpation. Erhált täglich 330 g Küchenabfall und Wasser nach Belieben. Geringe Naht-eiterung der Wunde. Sonst wie bei Hund P.

Epikrise: Keine wesentliche Abnahme der Zuckerausscheidung nach der Injektion. Die Abnahme am 9. Tag ist prámortal.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Wir gingen von dem Gedanken aus, daß die Wirkung der akzessorischen Nahrungssubstanzen (protektiven Substanzen), die energetisch nicht zu erklären ist und bei denen es besonders auffallend ist, daß sie einesteils absolut unentbehrlich, andererseits aber schon in kleinsten Dosen wirksam sind, vielleicht so zu erklären wäre, daß sie irgendwelche starke physiologische Wirkung haben.

Man könnte sich diese Wirkung z. B. so vorstellen, daß sie direkt als Reiz auf gewisse Organe wirken, oder so, daß sie Reize für die Bildung lebenswichtiger Stoffe sind.

Es gelang uns nicht, in den einfachen Extrakten aus Nahrungssubstanzen, welche als die typischen Vertreter des A- und B-Stoffes betrachtet werden, Körper nachzuweisen, welche solche charakteristische Wirkungen hätten, daß damit ein Anhaltspunkt zur Erklärung der Wirkung dieser Stoffe gewonnen werden könnte.

Ein Bedenken gegen diese Versuche ist, daß in den Extrakten evtl. die A- und B-Substanz gar nicht vorhanden war. Trotzdem wir derzeit über keine eigenen Versuchsreihen mit Ernährungsversuchen verfügen, muß auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse wohl angenommen werden, daß sowohl der A- wie der B-Stoff in die alkoholischen Extrakte übergang, und der B-Stoff auch in die wässerigen. Wir hoffen durch „Ernährungsversuche“ unsere Untersuchungen noch ergänzen zu können.

Es ist ferner auch daran zu denken, daß evtl. zu wenig von den A- und B-Substanzen in den Extrakten vorhanden war. Dabei sei wieder daran erinnert, wie äußerst geringe Quantitäten des A-Stoffes schon das Wachstum möglich machen und wie wenig B-Substanz zum Heilen der Vogel-Beriberi schon genügt. Und andererseits wieder haben wir die Extrakte in so großen Konzentrationen angewandt, als es überhaupt nur möglich war, bis

starke Giftwirkungen eintraten. Besonders in den konzentrierten A-2- und B-2 Extrakten war wahrscheinlich viel von den Substanzen vorhanden.

Bei der Interpretation der Versuche stört es jedenfalls sehr, daß wir nichts darüber aussagen können, ob die Giftwirkung von den gesuchten Substanzen, oder irgendwelchen anderen in den Extrakten vorhandenen Körpern her stammt. Diese Schwierigkeit konnten wir natürlich nicht umgehen, denn wir haben ja gerade nach stark wirksamen Extraktstoffen geforscht.

Trotzdem die Untersuchung möglichst vieler Organfunktionen einigermaßen zur Hoffnung berechtigt, daß eine starke physiologische Wirkung entdeckt worden wäre, kann es natürlich immer noch sein, daß die Wirkung in irgendeiner anderen Reizwirkung liegt und uns somit entgangen ist.

Uhlmann (l. c.) hat gezeigt, daß die von ihm benutzten Vitaminpräparate Pilocarpin ähnliche Wirkungen haben. In seiner Arbeit (S. 44) ist gelegentlich auch angeführt, daß in den Rohextrakten Substanzen vorhanden sind, die umgekehrt wirken oder die Wirkung verdecken, was unsere Resultate erklären könnte. Unsere Versuche sind durchaus in keinem Widerspruch mit seinen, denn während er nach der Wirkung der Reinsubstanz forschte, suchten wir nach einer auffallenden Wirkung, die schon in den einfachen Extrakten zu finden wäre.

Die Prüfung der Wirkung der verschiedenen Extrakte führte zu den folgenden Resultaten:

Eine allgemeine Giftwirkung ist bei Fröschen, bei subcutaner Einverleibung fast nicht vorhanden; auch bei Säugern ist sie intravenös oder subcutan verabreicht nicht nachweisbar. Bei isolierten Organen, wie Herz und Darm äußert sich die Giftwirkung in einer Aufhebung der Kontraktionen, die aber wieder restituierbar ist. Am Nervmuskelpräparat heben die Extrakte die Reizbarkeit erst in sehr hohen Konzentrationen bzw. nach Tage langer Einwirkung auf. Eine Giftwirkung ist hier praktisch nicht vorhanden.

Keine Wirkung hatten unsere Extrakte auf Drüsensekretion und Pupille sowie auf die Zuckerausscheidung des pankreasdiabetischen Hundes.

Reizwirkungen konnten besonders am Laewen-Trendelenburg-Präparat sowie am Kaninchenohr beobachtet

werden. In ganz regelmäßiger Weise gaben die alkoholischen B-Extrakte (Kleie) eine starke Vasoconstriction sowohl am Frosch, wie am Warmblüterorgan. Die Wirkung, welche bereits in sehr schwachen Lösungen auffallend ist, geht in die wässerigen Extrakte nicht über. Das spricht dagegen, daß die Vasoconstrictorsubstanz identisch wäre mit der alkohol- und wasserlöslichen B-Substanz.

Die A-Extrakte (Butter) geben regelmäßig Vasodilatation. Die Wirkung geht auch in den wässerigen Extrakt über. Hier spricht jedoch gerade das dagegen, daß die Vasodilatatorsubstanz identisch wäre mit der fettlöslichen (Alkohol-Äther extrahierbaren) A-Substanz.

Wir haben also in Kleieextrakten eine alkohollösliche und wasserunlösliche Vasoconstrictorsubstanz und in Butterextrakten eine alkohol- und wasserlösliche Vasodilatatorsubstanz gefunden. Die Löslichkeitsverhältnisse sprechen jedoch nicht dafür, daß es sich dabei um die von uns gesuchten A- und B-Substanzen handeln könnte.

Hier ist auch der Blutdruck steigernden Wirkung dieser Extrakte zu gedenken, ferner der Reizwirkung aufs Herz, die sich gelegentlich in einer Beschleunigung äußert, während im allgemeinen nur Hemmung, besonders durch die A-Extrakte beobachtet wird. Auch am Darm zeigte sich nur selten eine geringe Reizwirkung, gewöhnlich aber nur Hemmung.

Wir hoffen diese Fragen noch weiter bearbeiten zu können.

Weitere Untersuchungen über Stoffwechselregulierung bei Bakterien.

Von

Fritz Verzár und Josef Bögel.

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

(Eingegangen am 18. Mai 1920.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

In einer früheren Arbeit¹⁾ haben wir den Zusammenhang verschiedener Stoffwechselprozesse bei *Bac. coli comm.* untersucht. Im ersten Teil wurde die Beeinflussung verschiedener Stoffwechselprozesse durch Giftwirkung, im zweiten Teil die Beeinflussung der Indolbildung durch Säurebildung und im dritten Teil die Beeinflussung der Säure- und Alkalibildung behandelt. Die vorliegende Untersuchung schließt sich an jene an. Es werden die in jener Arbeit bei *B. coli comm.* geprüften Säure- und Alkalibildungsprozesse nun auch bei anderen Bakterien untersucht (Teil IV), ferner der zeitliche Ablauf des Gaswechsels (Teil V) und endlich die in der früheren Arbeit bereits in Angriff genommene Analyse der Giftwirkungen weiter verfolgt (Teil VI).

Teil IV. Säure- und Alkalibildung bei verschiedenen Bakterien.

In unserer früheren Arbeit haben wir in Übereinstimmung mit früheren Autoren demonstrieren können, wie die titrierte Säurebildung von *B. coli comm.* bis zu einem Maximum steigt. Ist viel Zucker vorhanden, so wird so viel Säure gebildet, daß dieses Säuremaximum konstant bleibt, bis die Bakterien absterben. Ist jedoch weniger als 0,6% Zucker vorhanden, so wird nach Vergärung des ganzen Zuckers Alkali gebildet. Wir haben gezeigt, daß die Säurebildung unabhängig ist von dem Grade der titrierten

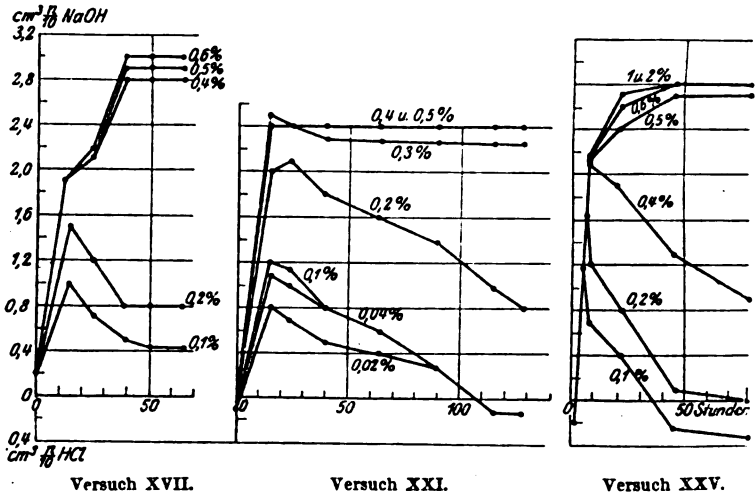
¹⁾ Untersuchungen über den Zusammenhang von verschiedenen Stoffwechselprozessen bei *B. coli comm.* Diese Zeitschr. **91**, 1—45. 1918.

Acidität bzw. Alkalität am Anfang des Versuchs, sowie von der Neutralisierung der gebildeten Säure; ferner, daß die Alkalibildung immer durch eine gewisse Acidität des Milieus ausgelöst wird. Wir haben dieselben Verhältnisse nun auch bei *Bac. paratyphi* B, *Streptococcus hämolyticus* und *Bac. proteus* (Stamm X 19 von Weil - Felix) geprüft.

Unsere Resultate sind in Kurvenform wiedergegeben. Die Originalkurven wurden auf Millimeterpapier gezeichnet, wobei ein Millimeter der Abszisse die Zeit, eine Stunde, und die Ordinate die Reaktion der Kulturlösung ausgedrückt in $\frac{1}{10}$ NaOH bzw. $\frac{1}{10}$ HCl auf 10 ccm Bouillon verbraucht, bedeutet; 1 mm = $\frac{1}{10}$ ccm $\frac{1}{10}$ -Lösung. Die Versuche wurden im übrigen genau nach derselben Methodik ausgeführt wie in der früheren Arbeit (Teil III).

1. *Bac. paratyphi* B.

Versuch XVII und XXI (Abb. 1) zeigen die Änderung der Reaktion in einer Bouillonkultur von zwei verschiedenen Paratyphusstämmen, wenn der Bouillon verschiedene Konzentrationen an Traubenzucker enthielt.



Die Züchtung fand bei diesen Versuchen immer bei 37° C statt. Die Prozentzahlen über den Kurven geben die Zuckerkonzentration an. Beide Versuche geben in guter Übereinstimmung das folgende Resultat: Bis zu einer Zuckerkonzentration von 0,2% folgt auf die anfängliche Säurebildung eine Alkalibildung, bzw. der Bouillon wird weniger sauer. Bereits in einer

0,3 und 0,4 Proz. Zuckerlösung wird ein Säuremaximum erreicht, welches zwischen 2,3 und 2,9 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH liegt und dann konstant bleibt. Während in gewöhnlichem Bouillon die Bacillen lange am Leben bleiben, gehen sie nach Erreichung dieses Säuremaximums rasch zugrunde. Ebenso bleiben sie auch lange am Leben bei einer so geringen Zuckerkonzentration, die zu keiner konstanten Säuerung führt (Versuche XVI, XXIX). In 1 Proz. Traubenzuckerbouillon (was, wie aus der bakteriologischen Literatur ersichtlich, auch sonst schon oft untersucht wurde) starben ab *Bac. paratyphi* B in 2 Tagen, *Bac. coli* comm. in 3 Tagen, *Streptococcus haemol.* in 9 Tagen und *Bac. proteus* X 19 in 14 Tagen.

Die Ausgangsreaktion ist in Versuch XVII etwas sauer, in Versuch XXI etwas alkalisch. Die Geschwindigkeit der Alkalibildung scheint bei Versuch XXI etwas größer zu sein als bei dem anderen Stamm in Versuch XVII. Ein Parallelversuch (XVIII) gelang ebenso.

Zum Vergleich fügen wir die Kurven von einem Versuch mit *Bac. coli* hinzu. Es ist das ein Parallelversuch zu Versuch XXXI der früheren Arbeit. In diesem Versuch XXV wird im Gegensatz zu *Bac. paratyphi*, wie man sieht, auch noch in 0,4% Traubenzucker, nach anfänglicher Säurebildung Alkali gebildet. Bei *Bac. paratyphi* B wird das Säuremaximum in 0,3% Zucker erreicht und beträgt im Mittel 2,6 ccm $\frac{n}{10}$ -NaOH. Bei *B. coli* geschieht dasselbe erst in 0,5% Zucker, und es wird eine etwa gleich große, in vielen Fällen aber eine höhere Acidität erreicht.

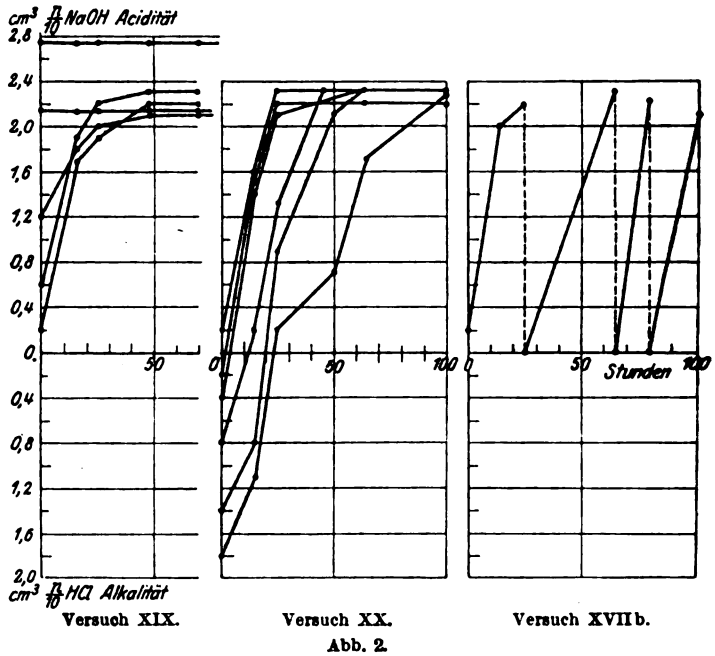
2. Säurebildung bei verschiedener Ausgangsreaktion.

Wie Versuch XIX (Abb. 2) und XX zeigen, ist ebenso wie bei *Bac. coli* das Säuremaximum unabhängig von der Ausgangsreaktion, wenn genügend Zucker vorhanden ist. Aus Versuch XIX geht auch hervor, daß, wenn die Bouillon saurer ist als das Säuremaximum, überhaupt keine Säurebildung stattfindet. Die Bacillen sterben dann ab. Michaelis und Marcora¹⁾ haben gezeigt, daß *Bac. coli* einen charakteristischen Aciditätsgrad in Milchzuckerlösungen verursacht. Dieser entspricht einer H-Ionenkonzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ und ist der höchste Aciditätsgrad, den das Bacterium auf die Dauer ertragen kann. Jedoch stimmt dieses Resultat, welches ebenso in unseren Versuchen von 1918 zu sehen ist, nicht überein mit dem von Whyatt²⁾, der in Versuchen, die sich mit ähnlichen Fragen befassen, unsere Versuche jedoch nicht kennt, zu finden glaubt, daß „eine Änderung in der Anfangsreaktion des Mediums auch eine Änderung der Endreaktion der Kultur zur Folge hat, welche in derselben Richtung liegt, aber von geringerer Größe ist“. Dabei dürfte es sich um Verschiedenheiten der Säurewirkung und der undissoziierten Säuremoleküle handeln. Wir haben im Sinn, unsere Versuche noch mit Messungen der aktuellen Acidität zu ergänzen, um diese Frage zu klären.

¹⁾ L. Michaelis und F. Marcora, *Zeitschr. f. Hyg.* **14**, 170. 1912.

²⁾ F. I. S. Whyatt, The effect of acids, alkalis and sugars on the growth and Indol production of *B. coli*. *Biochemical Journ.* **13**, 1. 1919.

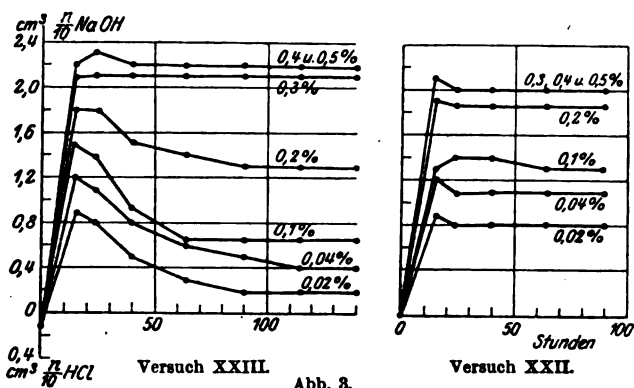
Versuch XVII (Abb. 2) zeigt ferner, daß nach Neutralisierung der in 1 proz. Traubenzuckerbouillon gebildeten Säure immer wieder dasselbe Säuremaximum erreicht wird, natürlich nur so lange, als gärfähiger Zucker in der Lösung vorhanden ist. Dasselbe haben wir auch für *Bac. coli* nachgewiesen.



Alle diese Versuche wurden in 1 proz. Traubenzuckerbouillon bei 37° C ausgeführt. Die Ausgangsreaktion und die Änderung der Reaktion im Laufe des Versuches ist aus den Kurven ohne weiteres ablesbar. In der dritten Kurve bedeuten die punktierten Linien, daß an jener Stelle der Bouillon mit $\frac{1}{10}$ NaOH neutralisiert wurde. Die Reaktionsbestimmungen geschahen immer in Proben von 10 ccm

8. *Bac. proteus* (Stamm X 19, Well-Fellx).

Dieser zeigt in Versuch XXIII (Abb. 3) und ebenso in einem hier nicht wiedergegebenen Parallelversuch (XXV) sehr ähnliche Verhältnisse wie *Bac. paratyphi*. Das Säuremaximum wird in 0,3 proz. Traubenzucker erreicht. Unterhalb dieser Grenze wird nach Vergärung des ganzen zur Verfügung stehenden Zuckers, durch die saure Reaktion des Milieus ein Alkalibildungsvorgang ausgelöst, welcher zur Neutralisierung der Säure führt, ebenso wie bei *Bac. coli* und *Bac. paratyphi*. Wir müssen bemerken, daß die Alkalibildung nicht bei gleichen Reaktionen aufzuhören scheint. Dieser Teil der Kurven müßte aber noch den Gegenstand weiterer Untersuchung bilden, auch bezüglich der anderen Bakterien und soll mit Messung der H⁻ Konzentration ergänzt werden.

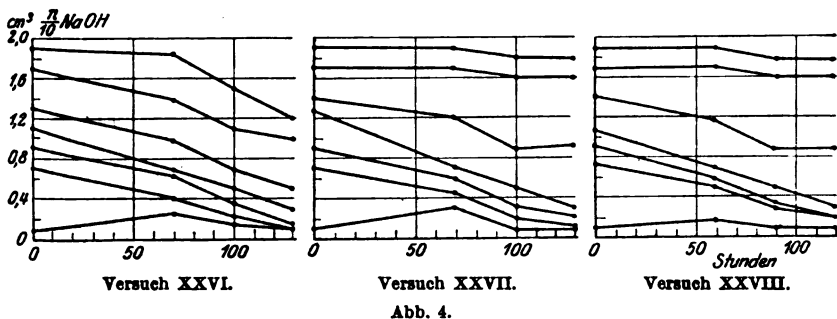


4. Streptococcus hämolyticus.

Das Säuremaximum wird hier [Versuch XXII (Abb. 3) und ebenso Parallelversuch XXIV] in 0,3proz Traubenzuckerlösung erreicht. Bei geringerer Zuckerkonzentration wird natürlich eine geringere Acidität erreicht. Im Gegensatz jedoch zu den bisher untersuchten Bakterien löst hier die saure Reaktion keinen Alkalibildungs- bzw. Neutralisierungsprozeß aus. Allerdings sieht man am Gipfel der Kurven eine geringe unbedeutende Senkung, dann aber geht die Kurve in gerader Linie weiter.

5. Alkalibildung in zuckerfreiem saurem Bouillon.

Wie gezeigt wurde, löst die aus Zucker gebildete Säure sowohl bei Bac. coli wie bei Bac. paratyphi und Bac. proteus einen Neutralisierungsprozeß aus. Das geschieht aber auch dann, wenn der Bouillon durch Salzsäure angesäuert wird. Den Verlauf der Alkalibildung unter solchen Umständen



zeigt Versuch XXVI bei Bac. coli, Versuch XXVII bei Bac. paratyphi und Versuch XXVIII bei Bac. proteus (Abb. 4). Wie man sieht, bildet Bac. coli noch in so saurem Bouillon Alkali, in welchem die beiden anderen das nicht mehr tun. Die geringe Zunahme der Acidität in fast neutraler Lösung stammt jedenfalls daher, daß der Bouillon nicht ganz kohlehydratfrei war. Die Unterschiede in der noch wirksamen höchsten Konzentration hängen damit zusammen, daß Bac. coli die höchsten Säuregrade verträgt.

Teil V. Der zeitliche Ablauf des Gaswechsels bei *Bac. coli* und paratyphi.

Es existieren bereits eine größere Anzahl Untersuchungen über den Gaswechsel von Bakterien. Bezüglich der Literatur sei auf den Artikel von Gottschlich im Handb. der pathog. Organismen¹⁾ verwiesen. Wir haben eine einfache Methode versucht, um einen Überblick über den zeitlichen Ablauf des Gaswechsels in einer Bakterienkultur zu gewinnen.

Wir benutzten das Barcroft'sche Kompensationsmanometer. Auf die eine Seite des Apparates kamen 3 ccm Bouillon, welcher mit einer Öse Kultur beimpft wurde. In das Kompensationsgefäß kamen 3 ccm destilliertes Wasser. Dann wurde der Apparat vorschriftsgemäß in ein Wasserbad gestellt. Die Temperatur des letzteren schwankte um 20° C. Kleine Temperaturschwankungen sind bei diesem Kompensationsapparat von keinem Einfluß auf das Resultat²⁾.

Die Züchtung wurde deshalb bei so niedriger Temperatur vorgenommen, weil dabei der Stoffwechsel langsamer ist und Einzelheiten leichter zu beobachten sind.

6. Gasbildung und Gasverbrauch von *Bac. coli* comm.

In Versuch V und IV (Abb. 5) sind die Resultate von 6 Proben registriert. Die Kurven entstanden so, daß auf der Ordinate im Original 10 mm 1 Stunde bedeuteten und auf der Abszisse 1 mm je 1 mm Skalendifferenz des Barcroft'schen Kompensationsapparates entsprach. Die publizierten Kurven sind entsprechend verkleinert. Versuch V zeigt die Volumzunahme bei der Gärung, Versuch IV die Volumabnahme bei der Atmung.

Bei der Gärung des Traubenzuckers wird bekanntlich mehr CO₂ gebildet, als dem aufgenommenen Sauerstoff entspricht. Der RQ ist viel größer als 1. Im Apparat findet dementsprechend eine Volumzunahme statt. Diese wurde 6 Tage lang stündlich und nachts etwa 8stündlich abgelesen. Hatte sich eine Druckdifferenz von mehreren Millimetern innerhalb einer gewissen Periode ausgebildet, so wurden die Hähne des Manometers geöffnet, um einen Druckausgleich zu erhalten. Dann wurde sogleich wieder geschlossen und die neuere Änderung des Druckes beobachtet. Die Züchtung fand in 1 proz. Traubenzuckerbouillon statt.

Züchtet man *Bac. coli* in gewöhnlichem Bouillon, so findet man bekanntlich, daß ebenso wie bei höheren Organismen der O₂-Verbrauch größer ist als die CO₂-Bildung, d. h. der RQ ist kleiner als 1. Es muß also im Apparat eine Volumabnahme zustande kommen. Die Kurve des Gasverbrauches muß also im Vergleich zur Gärungskurve unter der Abszisse liegen. Wir haben aber des besseren Vergleiches halber auch diese Kurven im selben System über die Abszisse gezeichnet. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, daß die Volumänderung sowohl bei den Gärungskurven als auch bei der Atmung nicht die absoluten Werte des O₂-Verbrauches und der

¹⁾ Kolle-Wassermann 1, 99.

²⁾ S. Münzer u. Neumann, diese Zeitschr. 81, 319. 1917.

CO₂-Bildung wiedergibt, sondern nur die Differenz CO₂ - O₂, welche bei der Gärung positiv, bei der Atmung negativ ist. Trotzdem also quantitative Angaben keine Bedeutung haben, sei angegeben, daß 100 mm der Abszisse ca. 0,4 ccm Gas entsprechen. Während der Gärung von 3 ccm Bouillonkultur wurden also ca. 1,4 ccm Gas gebildet und bei der Atmung wurde etwa ebensoviel Gas verbraucht.

Alle diese Kurven zeigen innerhalb der ersten 24 Stunden einen langsamen Anstieg; dann — vom Ende des ersten Tages an — steigen die Kurven steil an, um sich vom Ende des dritten Tages an wieder abzuflachen, und am 5. Tage zeigt sich sowohl bei der Gärung als bei der Atmung

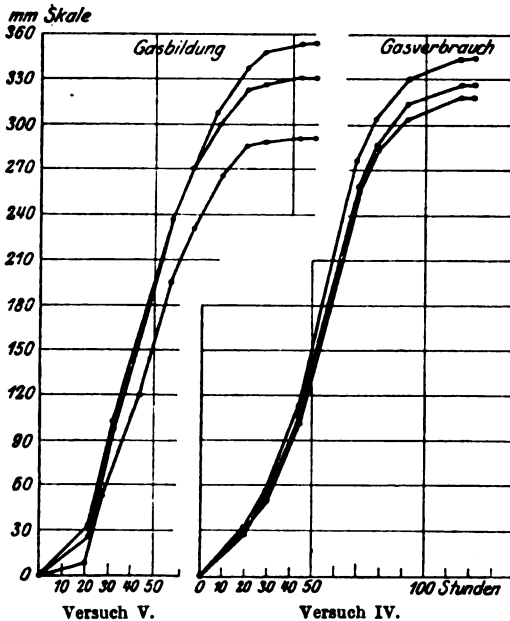


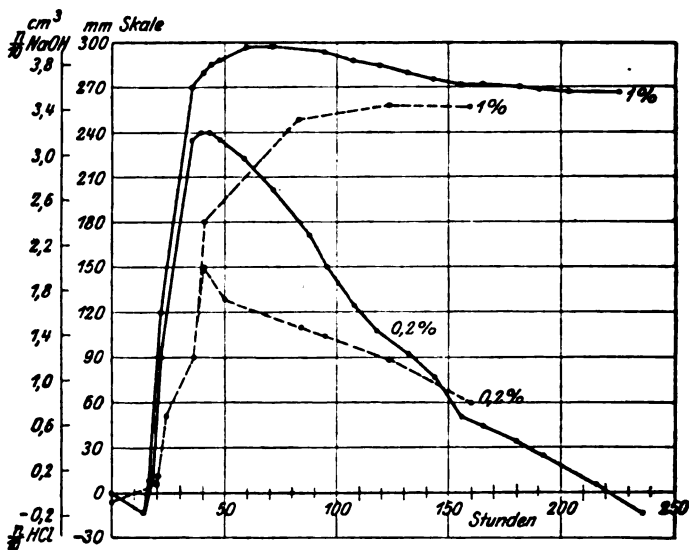
Abb. 5.

keine Volumänderung mehr. Wir können derzeit noch nicht darauf eingehen, inwiefern das Aufhören des Gaswechsels eine Folge des Absterbens der Kultur oder des Aufhörens der Vermehrung der Bakterien oder von anderen Gründen ist. Das Konstantbleiben des Volumens könnte natürlich auch dadurch bedingt sein, daß der RQ gleich 1 wäre, d. h. CO₂ - O₂ = 0. Aus anderen Versuchen wissen wir aber, daß davon keine Rede sein kann. Die Kurve der Gasbildung verläuft in einer nach oben konkaven, jene des Gasverbrauches dagegen in konvexem Bogen. Nach anderen Versuchen, von welchen einige im nächsten Abschnitt erwähnt werden, findet am Anfang der Gärung eine charakteristische Volumabnahme statt, die jedoch in diesen Versuchen nicht registriert ist. Siehe Versuch XIII, XV, VII. Die Ursache ist, daß zuerst die Atmung über die Gärung überwiegt und erst gegen Ende des ersten Tages der Gärungstypus hervortritt.

7. Vergleich der Gasbildung in verschiedenen konzentriertem Zuckerbouillon mit der Säure- und Alkalibildung.

In Teil III der vorigen und Teil IV dieser Arbeit wurde gezeigt, daß in 1proz. Traubenzuckerbouillon nur Säure gebildet wird, während in verdünnterem, z. B. 0,2% Traubenzucker nach der Vergärung des Zuckers eine Alkalibildung stattfindet bzw. die produzierte Säure wieder neutralisiert wird. Von dieser Alkalibildung wurde in Teil III nachgewiesen, daß sie nur bei Sauerstoffzutritt erfolgt. Es war von Interesse zu untersuchen, wie sich der Gaswechsel im Vergleich zum Alkali- und Säurebildungsprozeß verhält.

In Versuch VII (Abb. 6) und ebenso in einem Parallelversuch Nr. X ist das registriert. Die Gasbildung wurde ebenso wie in dem vorigen Ver-



Versuch VII.

Abb. 6. — Säurebildung. - - - Gasbildung.

sich gemessen. Die Kurven unterscheiden sich jedoch insofern von den vorigen, als hier die später einsetzende Volumabnahme in entgegengesetzter Richtung eingezeichnet ist wie die Volumzunahme, so daß die Kurven also ein korrektes Bild über die Volumänderung im Apparat geben. Die Prozentzahlen geben die Traubenzuckerkonzentration des Bouillons an. In 1% wird das Säuremaximum erreicht und die Acidität bleibt dann konstant. In 0,2% wird nach der Säure Alkali gebildet. Diese Kurven entstanden auf dieselbe Weise, wie in Teil IV. Wie man sieht, findet in 1proz. Zucker nur Gasbildung statt und das Maximum wird etwa zur selben Zeit erreicht, wenn das Säuremaximum erreicht ist. Diese Kurve zeigt nach dem Erreichen des Maximums, beim Übergang in das Plateau, eine unbedeutende Senkung. Im 0,2proz. Zucker tritt gleichzeitig mit der Alkalibildung an Stelle der Volumzunahme eine Volumabnahme auf; es erscheint also an

Stelle des Gärungstypus der Atmungstypus. Mit anderen Worten heißt das, daß während der Säurebildung viel mehr CO_2 als O_2 gebildet wird, während der Alkalibildung dagegen viel mehr O_2 verbraucht wird, als der CO_2 entspricht. Es ist hier also nachgewiesen, daß die Alkalibildung mit großem Sauerstoffverbrauch einhergeht.

8. Gasverbrauch und Gasbildung von *Bac. paratyphi* B.

In Versuch IX a (und ebenso in den Parallelversuchen IV und VI) ist die Gasbildung und der Gasverbrauch von *Bac. paratyphi* B untersucht (Abb. 7). Die Kurven sind sehr ähnlich mit jenen von *Bac. coli* comm. in Teil VI 6. Auch die Methodik war dieselbe.

9. Zusammenhang zwischen Gaswechsel und Bewegung bei *Bac. paratyphi* B.

Bac. paratyphi B gehört bekanntlich zu den rasch beweglichen Bakterien. Bei höheren Organismen geht mit der Bewegung (Muskelarbeit) eine außerordentliche Steigerung des O_2 -Verbrauches und der CO_2 -Bildung Hand in Hand. Wir stellten uns nun die Frage, ob auch bei Bakterien die Bewegung von deutlichem Einfluß auf den Gaswechsel ist. Es wurde sowohl der Zusammenhang mit der Gärung, als auch mit der Atmung untersucht.

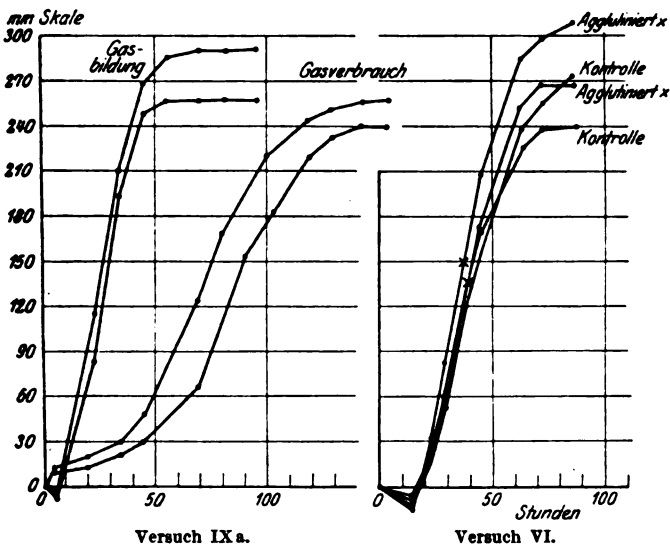


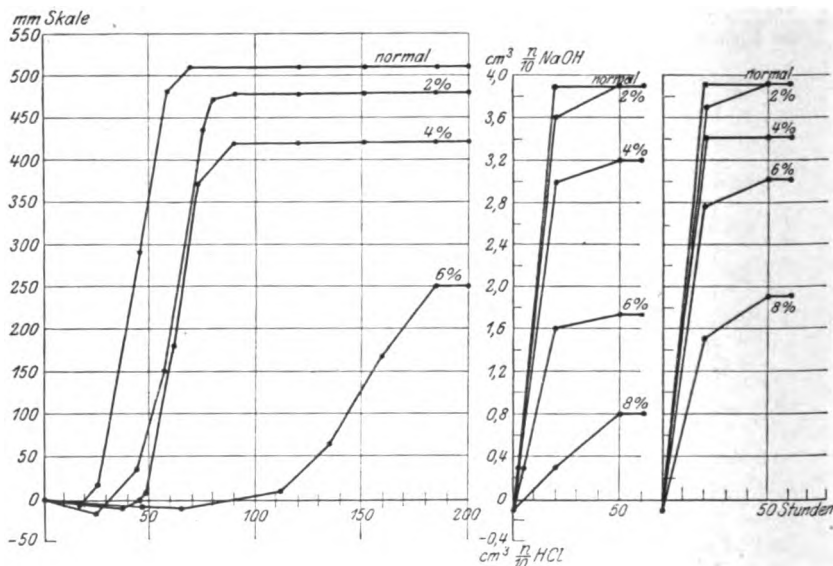
Abb. 7.

Wir besitzen eine Möglichkeit, die Bewegung der Bakterien aufzuheben, ohne ihre Lebensfähigkeit sonst zu beeinträchtigen, so daß man sie mit spezifischem Serum agglutiniert. Dadurch werden sie sogleich unbeweglich, ballen sich zu Klümpchen zusammen und sinken zu Boden. Die Bewegung verschwindet aber sofort. Wir gingen so vor, daß der Gaswechsel im Barcroft'schen Apparat beobachtet wurde.

In Versuch VI (Abb. 7) ist der Zusammenhang mit der Gasbildung in Traubenzuckerbouillon wiedergegeben. Nachdem die Gasbildung eine gewisse Konstanz erreicht hatte, wurde bei +0,1 ccm agglutinierendes Paratyphus-B-Serum (Titer 1 : 10 000) hinzugefügt. Das gab starke Agglutination der Kultur in einigen Minuten. Wie man aus der Kurve sieht, ändert sich die Gasbildung nicht und geht auch fernerhin parallel mit derjenigen in den zwei anderen Apparaten, in denen nicht agglutiniert wurde. (Ebenso zeigte sich auch kein Unterschied im Gasverbrauch bei Züchtung in gewöhnlichem Bouillon, wenn während der Züchtung agglutiniert wurde, jedoch sind diese Versuche noch nicht abgeschlossen.)

Teil VI. Die Wirkung von Alkoholen, Chloroform und Formaldehyd auf Gaswechsel und Säurebildung von *Bac. coli comm.*

In Teil I der früheren Arbeit haben wir untersucht, wie verschiedene Stoffwechselprozesse durch verschiedene Konzentrationen eines Giftes beeinflusst werden. Es wurde gezeigt, daß Gifte die einzelnen Stoffwechselprozesse von *Bac. coli* in sehr verschiedenen Konzentrationen hemmen. Es



Versuch XIII und XV.

Abb. 8.

Versuch XXI. Versuch XXII.

war von Interesse, diese Verhältnisse auch quantitativ zu verfolgen. Wir haben deshalb vorerst für Äthyl- und Methylalkohol, Chloroform und Formaldehyd die Wirkung auf Gasbildung und Säurebildung quantitativ verfolgt.

Versuch XIII und XV (Abb. 8) zeigen die Wirkung von Äthylalkohol auf die Gasbildung in 1proz. Traubenzuckerbouillon. Aus den früheren

Versuchen ging hervor, daß diese erst bei 12% Alkohol vollständig gehemmt wird. Wie man aus den Kurven sieht, haben schon weit geringere Konzentrationen von 2%, 4%, 6% eine deutlich hemmende Wirkung. Diese äußert sich auf zweierlei Weise. Erstens dadurch, daß die Gasbildung verzögert wird, und zweitens darin, daß das Maximum der Gasbildung um so geringer wird, je mehr Alkohol vorhanden ist. Die Kurven liegen fast parallel untereinander, d. h. die Gasbildung verläuft um so langsamer, je größer die Alkoholkonzentration.

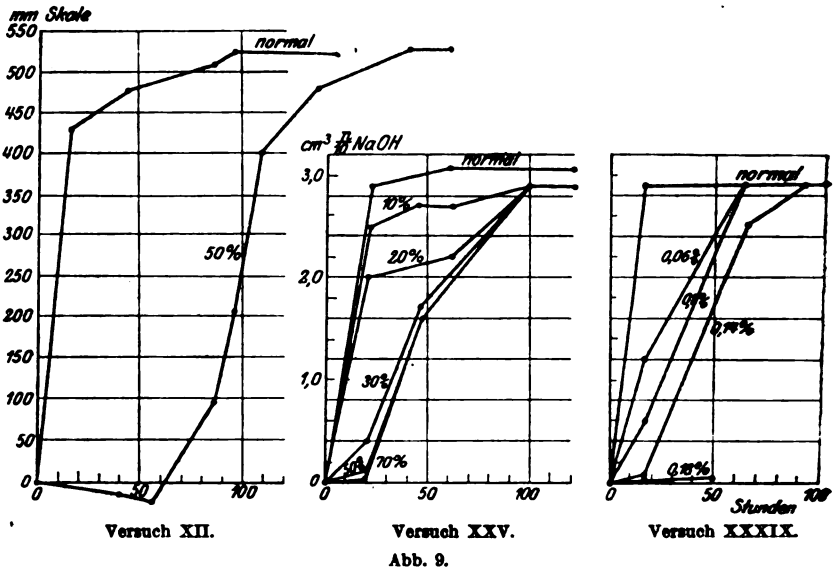
Sehr schön zeigen sich dieselben Wirkungen von Äthylalkohol (Versuch XLI) sowie von Methylalkohol (Versuch XLII) auf die Säurebildung aus Traubenzucker. Unsere Methode war dieselbe wie in den früheren Säurebildungsversuchen. Die Prozentzahlen bei den Kurven bedeuten die Alkoholkonzentrationen. Wie man sieht, hat der Alkohol auch auf die Säurebildung eine doppelte Wirkung. Erstens verzögert er den Säurebildungsprozeß, und zwar um so mehr, je mehr Alkohol vorhanden ist. Zweitens ist das erreichte Säuremaximum um so niedriger, je mehr Alkohol vorhanden ist. Nachdem die Entwicklung eines Säuremaximums, oberhalb welchem keine Säure mehr gebildet werden kann, so zu erklären ist, daß das Stoffwechselprodukt, die Säure, als Gift die weitere Säurebildung hemmt, so wird man dieses Verhalten so deuten müssen, daß sich die Giftwirkung der Säure mit der Giftwirkung dieser Alkohole summiert. Während die gebildete Säure erst bei 3,9 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH Acidität weitere Säurebildung hemmt, tritt das z. B. bei 6% Äthylalkohol schon bei 1,7 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH und bei Methylalkohol bei 3 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH ein. Sehr deutlich geht aus diesen Versuchen auch die geringere Giftigkeit des Methylalkohols hervor¹⁾.

Die Wirkung von Chloroform ist in Abb. 9 wiedergegeben. Bouillon wurde durch Schütteln mit Chloroform gesättigt und dann in verschiedenen Konzentrationen zu gewöhnlichem Bouillon hinzugesetzt, so daß verschiedene Sättigungsgrade entstanden. Diese sind in Prozenten an den Kurven vermerkt. In Versuch XII ist die Wirkung von Chloroform auf die Gasbildung in 1proz. Traubenzuckerbouillon registriert; man sieht, daß diese nicht gänzlich aufgehoben, sondern nur äußerst verzögert wurde, dann aber im Gegensatz zur Alkoholwirkung dasselbe Maximum erreicht wurde, wie ohne Chloroform.

In einer anderen Versuchsreihe (Versuch XXXV) wurde die Wirkung von Chloroform auf die Säurebildung aus 1proz. Traubenzuckerbouillon geprüft. Es sei bemerkt, daß nicht alle Versuche hier wiedergegeben sind. Man sieht deutlich, daß das Chloroform die Säurebildung um so mehr verzögert, in je größerer Konzentration es vorhanden ist. Dagegen ist auch hier, ganz parallel zur Gasbildung, und im Gegensatz zu der Wirkung der Alkohole, das erreichte Säuremaximum ebenso groß wie normal. Die Giftwirkung des Chloroforms summiert sich also nicht mit jener der Säure.

Das dritte Gift, welches untersucht wurde, ist Formaldehyd. [Nur die Wirkung auf die Säurebildung ist untersucht (Versuch XXXIX, Abb. 9).]

¹⁾ Siehe z. B. Verzá r, Über die Wirkung von Methyl- und Äthylalkohol auf die Muskelfaser. Archiv f. d. ges. Physiol. 128, 398. 1909.



0,18% hemmt diese vollständig. Niedrigere Konzentrationen verlangsamen die Säurebildung in charakteristischer Weise, wobei aber dasselbe Säuremaximum erreicht wird, wie ohne Gift. Also auch dieses Gift zeigt einen charakteristischen Unterschied gegenüber den Alkoholen.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Untersuchung schließt sich an unsere frühere an. In Teil IV wurde gezeigt, daß der bei *Bac. coli* comm. studierte zeitliche Ablauf der Säure- und Alkalibildung in ganz ähnlicher Weise auch bei *Bac. paratyphi* B und bei *Bac. proteus* X 19 abläuft. In 1% Traubenzucker wird ein Säuremaximum erreicht. Bei geringeren Zuckerkonzentrationen folgt auf die anfängliche Säurebildung eine Alkalibildung. Unterschiede zeigen sich jedoch 1. in dem titrierten Säuremaximum, 2. in der Zuckerkonzentration, welche bereits nach Säurebildung auch Alkalibildung gibt. Diese Grenzen liegen bei den beiden letzteren Bazillen niedriger als bei *Bac. coli*¹⁾.

Streptococcus haemolyticus dagegen bildet aus Traubenzucker nur Säure, jedoch niemals Alkali.

¹⁾ Nach Roux und Yersin sowie Madsen wird auch bei Diphtheriebacillen nach anfänglicher Säuerung eine Abnahme der Acidität und dann eine zunehmende Alkalität beobachtet. (Gottschlich, l. c. S. 119.)

Die bei *Bac. coli comm.* gefundene Unabhängigkeit der titrierten Säurebildung von der titrierten Ausgangsreaktion wurde auch für *Bac. paratyphi B* und *Bac. proteus* konstatiert. Der erreichte Säuregrad ist unabhängig davon, welche Acidität oder Alkalität am Anfang des Versuches herrscht.

In Teil V ist die Gasbildung im Traubenzuckerbouillon und der Gasverbrauch in gewöhnlichem Bouillon mit Hilfe des Barcroft'schen Apparates registriert. Die Versuche sind mit *Bac. coli comm.* und *Bac. paratyphi* ausgeführt, und zeigen einen charakteristischen Verlauf.

Ein Vergleich des Gaswechsels mit der Säure und Alkalibildung bei *Bac. coli comm.* zeigt, daß gleichzeitig mit der Säurebildung Gas gebildet wird, während mit der Alkalibildung ein starker O_2 -Verbrauch einsetzt.

Es konnte ferner gezeigt werden, daß bei Paratyphus-Bacillen zwischen der Beweglichkeit und der Gasbildung kein nachweisbarer Zusammenhang besteht.

In Teil VI wurde in Fortsetzung der in Teil I aufgeworfenen Fragen die Wirkung von einigen Giften auf den Gaswechsel von *Bac. coli* studiert. Es läßt sich sehr schön demonstrieren, daß Äthyl- und Methylalkohol, Chloroform und Formaldehyd diese Stoffwechselprozesse schon in Konzentrationen auffallend verlangsamten, welche noch weit von der ganz hemmenden Dosis entfernt sind.

Die Alkohole haben noch eine andere Wirkung im Gegensatz zu den beiden anderen Giften. Ihre Giftwirkung summiert sich nämlich mit jener der aus Traubenzucker gebildeten Säure, wodurch ein um so geringeres Säuremaximum erreicht wird, je mehr Alkohol vorhanden ist. Die geringere Giftigkeit des Methylalkohols ist auch dabei deutlich. Dieser Befund dürfte für die Analyse von Giftwirkungen von Bedeutung sein.

Beiträge zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitszuständen.

Von

F. Rosenthal und P. Holzer.

(Aus der Medizinischen Klinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 20. Mai 1920.)

Die Untersuchungen von Tallquist und Faust über die lipide hämolytische Substanz in den Proglottiden des breiten Bandwurms und die Auffindung der koktostabilen Hämolysine durch Korschun und Morgenroth haben die Anschauungen über die Genese der perniziösen Anämie und anderer schwerer anämischer Krankheitsprozesse lange Zeit hindurch weitgehend beeinflußt. Man kann die Forschungsrichtung, die von diesen Arbeiten ihren Ausgangspunkt nimmt, kurz dahin zusammenfassen, daß die Fragestellung nach der Natur des einwirkenden Krankheitsprozesses bei den schweren Anämien verschiedenster Ätiologie sich auf den Nachweis stark hämolytisch wirksamer Lipoiden vom Bau der kochbeständigen Hämolysine konzentriert, und daß in der Bildung dieser Lipoidsubstanzen vom Typus der Ölsäure die letzte einheitliche Ursache der in ihren Erscheinungsformen noch so verschiedenen schweren Anämien erblickt wird. — Man kann bereits auf Grund der morphologisch-histologischen Charaktere der verschiedenen Blutkrankheiten ohne weiteres behaupten, daß nur eine einseitige serologische Gedankenführung zu solchen Anschauungen einer wesensgleichen Ätiologie der Anämien gelangen konnte. Das Blutbild der Perniciosa auf der einen Seite und die morphologischen Kriterien der gewöhnlichen Carcinomanämie oder Ankylostomumanämie noch so schweren Grades auf der anderen Seite tragen in so ausgesprochener Weise den Stempel verschiedenartiger Pathogenese, daß schon allein dieses histologische Moment gegen eine unitaristische Betrachtung

tungsweise der schweren menschlichen Anämien unter dem Gesichtswinkel der Ölsäuretheorie spricht.

Geht man im einzelnen den experimentellen Grundlagen der Ölsäuretheorie, wie sie sich in den Arbeiten von Flury und Schminke über die chronische Ölsäurevergiftung am Hunde finden, nach, so wird man mit Recht gegen diese Untersuchungen einzuwenden haben, daß die mit chronischer Ölsäurefütterung experimentell erzeugten Anämien das typische Bild der echten perniziösen Anämie vermissen lassen. Was in diesen Versuchen an Blutveränderungen in die Erscheinung tritt, sind die Zeichen einer nicht erheblichen sekundären Anämie mit mäßiger Verringerung der Erythrocyten und herabgesetztem Färbeindex beim Fehlen jedes für die Perniciosa charakteristischen Blutbefundes. Ist somit das Fundament der Ölsäuretheorie der Anämien nach dieser experimentellen Richtung an sich schon ein recht dürftiges, so sind noch überdies in jüngster Zeit diese Befunde von Flury und Schminke durch Beumer in eingehenden Nachprüfungen überhaupt in Frage gestellt. Weder ließen sich nach viermonatlicher Ölsäurefütterung Zeichen von einer hämolytischen Wirkung der Ölsäure im Serum oder Blutbild nachweisen, noch konnte die von Schminke und Flury beobachtete erworbene relative Ölsäurefestigkeit der Erythrocyten mit partieller Abartung der Lipoide infolge Substitution des freien Cholesterins durch Cholesterinester bestätigt werden. Ebenso wenig konnten Bürger und Beumer bei Übertragung der Ölsäuretheorie auf die menschliche Pathologie in den Blutkörperchen bei perniziöser Anämie Cholesterinester feststellen.

Was zur weiteren Begründung der Ölsäuretheorie bei menschlichen Anämien, insbesondere bei der Perniciosa an klinischem Material zusammengetragen worden ist, entbehrt gleichfalls der Beweiskraft. Die von Berger und Tsuchiya in den Extrakten der Magendarmwandung von 2 Fällen perniziöser Anämie nachgewiesenen hämolytisch wirksamen Lipoide stellen keine spezifische Erscheinung dar, da nach Hirschfeld, Friedberger und Ewald auch das Macerat von Magendarmschleimhaut nichtanämischer Kranken Lipoide von gleicher Menge und gleicher hämolytischer Kraft enthalten kann. Es läßt sich ferner gegen die Ölsäuretheorie der menschlichen Anämien ganz allgemein der sehr wesentliche Einwand erheben, daß die hämolytische Wirkung der Ölsäure und anderer ungesättigter Fettsäuren bereits durch kleine Mengen von Blutserum aufgehoben wird, und daß der Angriff der Ölsäure bei einer Resorption vom Darm aus auch durch die synthetischen Kräfte des Darmepithels (Munk, Minkowski) und durch die Leber (Bang) abgeschlagen wird, bevor er die Blutkörperchen trifft. Unter diesen Gesichtspunkten kann auch die Arbeit von Joannovics und Pick nicht als Stütze für die Ölsäuretheorie der hämolytischen Anämien herausgezogen werden. So wichtig auch ihre Feststellungen sind, daß bei der subakuten Toluyldiaminvergiftung der Hunde eine in der Leber vorkommende blutlösende Substanz, die ätherlöslich ist und zum wesentlichen Teile aus Ölsäure besteht, um das 40–50fache der Norm vermehrt ist, so läßt sich auch gegen die ätiologische Bedeutung dieser Be-

funde einwenden, daß quantitative Bestimmungen der ungesättigten Fettsäuren im Blut fehlen, und daß exakte Beweise für eine Beteiligung der Ölsäureverbindungen in der Leber am gesteigerten toxischen Blutzerfall während der Toluyldiaminvergiftung nicht erbracht sind.

Die Tallquistische Theorie — von den meisten Autoren aufgegeben — ist durch die Untersuchungen von Eppinger, King und Medak in modifizierter Form erneut zur Diskussion gestellt worden. Sie gelangen zu dem Ergebnis, daß bei hämolytischen Prozessen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle jodbindende Substanzen in gesteigerter Menge im Blut vorkommen, und daß die Blutzusammensetzung hinsichtlich Cholesterin, Cholesterinester und ungesättigten Fettsäuren, gemessen an der Hüblschen Jodzahl wohl ein Bild über den gegenwärtigen Stand des Krankheitsprozesses, soweit er den hämatopoetischen Apparat tangiert, zu bieten imstande ist. Sie lassen hierbei freilich die Frage offen, ob die bei hämolytischen Prozessen gefundene hohe Jodzahl durch ungesättigte Fettsäuren, die von der Milz an die Blutbahn abgegeben werden oder durch gesteigerten Zerfall roter Blutkörperchen bedingt ist. Im einzelnen weisen die Untersuchungen von King auf engere Beziehungen zwischen Milz und dem Gehalt des Blutes an ungesättigten Fettsäuren hin. Bei gesunden Hunden fiel nach der Milzexstirpation die Menge der jodbindenden Substanzen auf sehr geringe Werte, und auch bei menschlichen perniziösen Anämien trat nach Splenektomie ein Absinken der ursprünglich hohen Jodzahlen zugleich mit fortschreitender objektiver Besserung ein. Die Befunde von Medak beim Menschen sind widerspruchsvoll, so daß die Frage offen bleiben muß, inwieweit die Milz der Ort ist, wo die jodbindenden Substanzen, die die hohe Jodzahl im Blut bedingen, an die Blutbahn abgegeben werden.

Bei kritischer Durchsicht der von Eppinger und Medak angeführten Protokolle wird man allerdings den Beweis für die engen Beziehungen zwischen hohem Gehalt des Blutes an Cholesterin, an ungesättigten Fettsäuren und hämolytischen Prozessen nicht als zwingend geführt betrachten können. Weder ist der Cholesterinestergehalt bei den untersuchten Blutkrankheiten (perniziöse Anämie, hämolytischer Icterus) über die Norm und gegenüber nichtanämischen Krankheitszuständen wirklich prozentual und absolut vermehrt, noch zeigt sich bei den hämolytischen Prozessen ein wesentlich höherer Gehalt des Blutes an ungesättigten Fettsäuren gegenüber anderen Erkrankungen ohne gesteigerten Blutuntergang. So sind z. B. bei Medak in einem Falle von abklingendem Icterus die Jodzahlen höher als bei perniziöser Anämie, und auch Eppinger findet in manchen Fällen von atrophischer Lebercirrhose Jodzahlen, die den Werten bei hämolytischen Prozessen nicht nachstehen, bzw. sie sogar übertreffen. In methodischer Hinsicht haben die Untersuchungen von Eppinger, King und Medak den Nachteil, daß sie keinen Einblick in die Verteilung der ungesättigten Fettsäuren an die Einzelkomponenten des Blutes gestatten, und daß sie vor allem keinen Aufschluß über die Bindung ungesättigter Fettsäuren an die Erythrocyten gewähren, deren Zerstörung vom Standpunkte der Ölsäuretheorie eine gesteigerte Bindung ungesättigter Fettsäuren wohl vorangehen mußte.

Die Befunde von Eppinger, King und Medak haben durch Feigl für das Serum bei perniziösen Anämien und beim hämolytischen Icterus keine Bestätigung erfahren. Weder waren die Jodzahlen im Serum über die Norm gesteigert, noch waren Veränderungen in der Bindungsweise des Cholesterins entsprechend den King - Medakschen Resultaten im Blut nachzuweisen. Untersuchungen, die wir in ähnlicher Richtung bei einem klassischen Fall von hämolytischem Icterus Minkowski-Chauffard auf breiter Basis ausgeführt haben, führten uns dazu, die Frage des Vorkommens von ungesättigten Fettsäuren im Blut bei anämischen Krankheitszuständen ausführlich zu bearbeiten und auch die Beziehungen der Milz zur Jodzahl und Bindungsform des Cholesterins in den einzelnen Blutkomponenten einer eingehenden Analyse zu unterziehen. Damit ergab sich zugleich die Notwendigkeit, die Untersuchungen auch auf die chemische Zusammensetzung der Milz unter normalen und krankhaften Verhältnissen unter der gleichen Fragestellung auszudehnen. Wir haben damit insgesamt ein experimentelles Material gewonnen, das neben einer Kritik der Befunde Eppingers und seiner Schüler auch einen Beitrag zur Biochemie anämischer Krankheitszustände und zur Frage der pathogenetischen Bedeutung der ungesättigten Fettsäuren bei schweren menschlichen Anämien liefert. Unsere eigenen Untersuchungen sind an roten Blutkörperchen und Serum getrennt vorgenommen worden.

Als Maß für den Gehalt des Blutes an ungesättigten Fettsäuren einschließlich der Ölsäure steht uns die Hüblsche Jodzahl zur Verfügung. Sie ist ein Maß für die Anzahl der Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren, und diese Doppelbindungen gehen wiederum nach Joannovics und Pick der hämolytischen Kraft der ungesättigten Fettsäuren parallel.

Unsere Versuchsmethodik gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen: In der Regel wurden Gesamtfett und Jodzahl einerseits und Cholesterin und Cholesterinester andererseits in exakt abgewogenen Mengen des Ausgangsmaterials für sich gesondert bestimmt. Die Bestimmung des Gesamtfettes geschah nach Peritz und Glikin in mindestens dreitägiger Extraktion mit Äther, Alkohol oder Chloroform im Soxhletapparat. Die beim Verdunsten zurückbleibenden Extrakte wurden in Äther aufgenommen, vereinigt und in Leuchtgasstrom bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. In dem so getrockneten Ätherextrakt wurde die Jodzahl nach der Vorschrift von Hübl bestimmt. Wir berechnen die Jodzahl sowohl in der üblichen Weise auf 100 g Fett, wie auf 1000 g des Untersuchungsmaterials und bringen hier-

von die dem gefundenen Gesamtcholesterin entsprechende Jodzahl in Abzug. Wir erhalten so Jodzahlen, die als eigentliches Maß für die im Extrakt vorhandenen ungesättigten Fettsäuren angesehen werden dürfen.

Die Bestimmung des freien und gebundenen Cholesterins geschah nach der Digitonin-Methode von Windaus nach vorangehender Extraktion des feuchten Materials mit siedendem 94 proz. Alkohol nach Röhmann¹⁾. Die Extraktion der Organe erfolgte nach sorgfältiger Faschierung derselben. Die Bestimmung von Gesamtfett, Jodzahl und Cholesterin wurde in Blutkörperchen und Serum getrennt vorgenommen. Die für Gesamtfett und Cholesterin gewonnenen Werte wurden auf 1000 g feuchte Substanz entsprechend umgerechnet.

Wir berichten zunächst über unsere Befunde bei Blutkörperchen und Serum gesunder Individuen, bzw. von Kranken, die nicht an anämischen Krankheitsprozessen litten.

Tabelle I.

1000 g Erythrocyten enthalten:

A. Bei Gesunden:

Fall	Gesamt-extrakt	Gesamt-cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin-ester	Jodzahl für 1000 g E	Jodzahl für 100 g Fett
1	7,6943	1,468	1,470	—	2,7102	35,223
2	7,5981	1,4329	1,4314	—	3,1623	41,615

B. Bei Kranken ohne Anämie:

Krankheit	Gesamt-extrakt	Gesamt-cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin-ester	Jodzahl für 1000 g E	Jodzahl für 100 g Fett
I. Aortensklerose	5,984	0,6582	0,6578	—	2,2030	36,842
II. Lipoidnephrose	12,224	1,2534	1,0276	0,2258	4,2929	35,126
III. Magencarcinom mit Icterus	8,1675	0,703	0,692	—	3,9623	48,623

Bei Gesunden und Kranken ohne gesteigerten Blutuntergang bewegt sich die Jodzahl, auf 1000 g Blutkörperchen bezogen, zwischen 2,2 und 4,2 bzw. wenn wir sie auf 100 Teile Gesamtfett beziehen, zwischen 35—48. Die roten Blutkörperchen erweisen sich frei von gebundenem Cholesterin. Nur bei dem Fall von Lipoidnephrose finden sich wägbare Mengen von Cholesterinestern, wohl ein Ausdruck dafür, daß auch die roten Blutkörperchen an dem für die Lipoidnephrose charakteristischen infiltrativen Prozeß mit Cholesterinestern teilnehmen (Aschoff, Kawamura, Wind-

¹⁾ Bezüglich Einzelheiten dieser Methode sei auf unsere Arbeit im Deutschen Archiv f. klin. Med. Bd. 132, Heft 3/4. 1920 verwiesen.

aus). Auch das Rohfett der Blutkörperchen bei der Lipoidnephrose ist ganz beträchtlich über die Normalwerte hinaus gesteigert. Zwischen Gesamtfett und ungesättigten Fettsäuren besteht ein gewisser Parallelismus, indem mit dem Anstieg des Gesamtexttrakts auch der Gehalt an jodbindenden Substanzen wächst. Bei B I und III macht sich außerdem eine Herabsetzung des Cholesteringehaltes der Erythrocyten bemerkbar (vgl. Rosenthal, Rosenthal und Patrzek).

Die folgende Tabelle gibt die Jodzahl und die Bindungsverhältnisse des Cholesterins im Serum Gesunder und Kranker ohne Alteration des hämatopoetischen Apparates wieder:

Tabelle II.

1000 g Serum bei Gesunden und Kranken ohne Anämie enthalten:

Fall	Gesamt-extrakt	Gesamt-cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin-ester	Freies Cholesterin zu Cholesterin-ester	Jodzahl für 100 g Serum	Jodzahl für 100 g Fett
I. Gesund	7,203	1,438	0,516	0,922	1 : 1,8	2,6734	37,132
I. Aortensklerose	8,969	1,906	0,594	1,312	1 : 2,2	4,2401	47,269
II. Lipoidnephrose	28,950	5,234	1,843	3,391	1 : 1,8	9,8661	34,082
III. Magencarcinom mit Icterus	17,345	2,895	2,041	0,854	2,4 : 1	6,3154	36,401

Im Serum Gesunder und Kranker ohne wesentliche Alteration des hämatopoetischen Apparates schwankt nach unseren Befunden die Jodzahl, auf 1000 g Serum bezogen, zwischen 2,6 und 9,8. Diese erheblichen Schwankungen hängen eng mit dem Gesamtfettgehalt des Serums zusammen, der bei der Lipoidnephrose und bei dem von uns untersuchten Magencarcinom mit Icterus mindestens das 4- bzw. 2fache der Norm beträgt. (Vgl. Bürger und Beumer, eigene Untersuchungen.) Auch hier tritt also wie bei den Erythrocyten ein engerer Zusammenhang zwischen der Menge des Gesamtfettes und der Menge der in ihm enthaltenen ungesättigten Fettsäuren in die Erscheinung. Mit der Zunahme des Gesamtfettes im Serum steigt auch anscheinend im allgemeinen entsprechend die Menge der jodbindenden Substanzen. So erklärt es sich, daß die Jodzahl, auf 100 Teile Fett bezogen, nur geringen Schwankungen zwischen 34—37—47 unterliegt.

Bemerkenswert ist der hohe Fettgehalt des ikterischen Serums, auf den schon von Becquerel und Rodier, in neuerer Zeit besonders von Bürger und Beumer hingewiesen worden ist. Es handelt sich hier um eine cholämische Lipämie, bei der das Serum klar und durchsichtig bleibt und nicht das milchige Aussehen der diabetischen und der nephrotischen Lipämie zeigt. Bezüglich der Genese dieser Lipämie beim Icterus, die angesichts der gestörten Fettresorption bei Gallenverschluß auffällig ist, sei im einzelnen auf die Ausführungen von Bürger und Beumer ver-

wiesen. Der Quotient Cholesterin : Cholesterinester beträgt entsprechend auch anderen Erfahrungen durchschnittlich 1 : 2, beim Stauungsicterus verschiebt er sich zugunsten des freien Cholesterins, worauf auch von Bürger und Beumer, Bang, Grigaut u. a. hingewiesen worden ist.

Nach Festlegung dieser Werte in Erythrocyten und im Serum geben wir in der folgenden Tabelle unsere Versuchsergebnisse bei schweren anämischen Krankheitszuständen wieder:

Tabelle III.
1000 g Erythrocyten enthalten bei:

Krankheit	Gesamt- extrakt	Gesamt- chole- sterin	Freies Chole- sterin	Chole- sterin- ester	Jodzahl für 1000 g E	Jodzahl für 110 g Fett
1. Perniziöse Anämie	7,213	0,5358	0,5348	—	2,9438	40,827
2. Perniziöse Anämie	5,796	0,8057	0,8065	—	1,4181	24,451
3. Carcinomanämie	2,228	0,2658	0,2658	—	1,0173	45,619
4. Hämolyt. Icterus	7,722	0,8020	0,7877	Spuren	4,1935	54,320
5. Splenomegalie (Fibroadenie)	11,741	1,5494	1,1734	0,376	6,0038	51,141
6. Normal bzw. Kranke ohne Anämie	—	> 1 g	—	—	2,2—4,2	35—48

Überblicken wir das Ergebnis dieser Analysen, so treffen wir zunächst in unseren beiden Fällen von schwerer perniziöser Anämie keine Steigerung der Jodzahl in den Erythrocyten an. Wir können hieraus den Schluß ziehen, daß im Widerspruch mit der experimentellen Begründung der Ölsäuretheorie (Schminke und Flury) die roten Blutkörperchen der Perniciosa sich in ihrem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren nicht von normalen Blutkörperchen unterscheiden. Mit dieser Feststellung steht auch unser weiterer Befund, der mit gleichsinnigen Ergebnissen von Bürger und Beumer übereinstimmt, in gutem Einklang, daß in unseren beiden Perniciosa-Fällen Cholesterinester in den Erythrocyten, wie wir sie nach den experimentellen Beobachtungen von Schminke und Flury — ihre Richtigkeit vorausgesetzt — als Ausdruck der Bindung von Ölsäure an das Cholesterin der Blutkörperchen eigentlich erwarten müßten, nicht vorhanden sind.

Auch in den Blutkörperchen der von uns untersuchten Krebsanämie haben wir keine Cholesterinester gefunden, was im Hinblick auf die Befunde von Grafe und Böhmer über das Vorkommen hämolysierender Substanzen vom Typus unge-

sättigter Fettsäuren in zerfallenden Carcinomen von Interesse ist. Auch die Jodzahl war gegenüber den Zahlen der Tabelle I nicht erhöht. Wir haben also auch bei den Carcinomanämien keinen Anhaltspunkt dafür, daß der toxische Blutzerfall etwa in Analogie zu den Befunden von Schminke und Flury bei der experimentellen Ölsäureanämie durch eine gesteigerte Aufnahme von Ölsäure in die Erythrocyten zustandekommt.

Den Befunden bei den roten Blutkörperchen bei der Perniciosa und der Carcinomanämie steht das Ergebnis gegenüber, daß wir bei dem von uns untersuchten hämolytischen Icterus und bei der Splenomegalie mit Anämie einen sehr hohen Grenzwert, bzw. eine Vermehrung der jodbindenden Substanzen im Gesamtextrakt von 1000 g Erythrocyten gegenüber nichtanämischen Krankheitsprozessen festgestellt haben. Es kreisen somit in diesen beiden Fällen rote Blutkörperchen in der Zirkulation, die durch einen beträchtlichen Gehalt an ungesättigten Fettsäuren gegenüber normalen Erythrocyten ausgezeichnet sind, und die auch Cholesterinester teils in Spuren, teils in mäßigen Mengen enthalten.

Bevor wir in eine Diskussion der Frage eintreten, inwieweit die hier erhobenen Befunde doch im Sinne einer Beteiligung ungesättigter Fettsäuren bei der Pathogenese mancher anämischer Krankheitsprozesse zu verwerten sind, seien noch unsere Resultate beim Serum der gleichen Krankheitsfälle besprochen.

Tabelle IV.

1000 g Serum enthalten bei:

Krankheit	Gesamtextrakt	Gesamtcholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterinester	Freies Cholesterin in Cholesterinester	Jodzahl für 1000 g Serum	Jodzahl für 100 g Fett
1. Perniziöse Anämie	5,569	1,420	0,674	0,746	1:1	1,5334	27,532
2. Perniziöse Anämie	4,047	0,771	0,333	0,438	1:1,3	1,8087	44,664
3. Carcinomanämie	7,509	1,475	1,210	0,265	5:1	2,7802	37,016
4. Hämolyt. Icterus	3,757	0,5686	0,2680	0,2041	1:1,6	1,8091	48,122
5. Splenomegalie (Fibroadenie)	5,162	0,577	0,177	0,402	1:2,3	4,2588	81,934
6. Normal bzw. Kranke ohne Anämie	—	> 1 g	—	—	bis 1:2,5	2,6—9,8	34—47

In keinem der hier untersuchten Fälle haben sich die Verteilungsverhältnisse des Cholesterins im Serum zugunsten der Cholesterinester verschoben; bei der Carcinomanämie hat sogar im Gegenteil eine starke absolute und prozentuale Abnahme der Cholesterinester stattgefunden. Auch die Jodzahl ist im Serum nirgends über die Werte hinaus gesteigert, wie wir sie bei Gesunden bzw. bei nicht anämischen Kranken kennen. Nur bei der Splenomegalie mit Banti-Symptomenkomplex erreicht die Jodzahl, auf 100 Teile Fett berechnet, einen Wert, der stark über die normalen Jodzahlen hinauswächst. Daß es sich aber hierbei offenbar nicht um eine absolute, sondern nur um eine prozentuale Vermehrung der Fettsäuren handelt, beweist die Jodzahl, auf 1000 g Serum bezogen, die nicht über Werte hinausragt, wie wir sie auch in Tabelle II bei Kranken ohne besondere Alteration des hämatopoetischen Apparates beobachtet haben.

Fassen wir unsere Ergebnisse über die Beziehungen zwischen anämischen Krankheitsprozessen und Jodzahl und Bindungsform des Cholesterins im Blute zusammen, so können wir die Angabe von Eppinger, King und Medak nicht bestätigen, daß ein Parallelismus zwischen hoher Jodzahl und hämolytischen Prozessen besteht, und daß die Blutzusammensetzung hinsichtlich der jodbindenden Substanzen, des Gehaltes an Cholesterinestern ein Bild über den momentanen Stand des Krankheitsprozesses, soweit er den hämatopoetischen Apparat tangiert, zu bieten imstande ist. Sehen wir von unseren Befunden an den Erythrocyten des hämolytischen Icterus und der Splenomegalie mit Banti-Komplex vorläufig ab, so konnten wir bei keiner der von uns untersuchten Bluterkrankungen weder in den Blutkörperchen noch im Serum charakteristische Veränderungen der Bindungsart des Cholesterins und des quantitativen Gehaltes an ungesättigten Fettsäuren im Sinne von Eppinger-King-Medak nachweisen. Es gilt dies nach unseren Untersuchungen ganz besonders von der perniziösen Anämie, die ja auch morphologisch zur Botrioccephalusanämie die weitgehendsten Ähnlichkeiten bietet, und bei der im Hinblick auf die Anschauungen von Tallquist und Faust am ehesten mit einem gesteigerten Auftreten von ungesättigten Fettsäuren in der Zirkulation und einer Vermehrung der Cholesterinester zu rechnen gewesen wäre. —

Unsere Feststellung eines beträchtlichen Gehaltes an jod-

bindenden Substanzen in den Erythrocyten des hämolytischen Icterus und der Splenomegalie mit Anämie stellt uns vor die Frage, inwieweit nicht wenigstens bei diesen Bluterkrankungen eine engere Beziehung zwischen Jodzahl und Krankheitsprozeß besteht.

Eine experimentelle Beantwortung dieser Frage läßt sich unserer Ansicht nach mittels der therapeutischen Milzexstirpation bei diesen Fällen führen. Sofern nämlich ein enger Zusammenhang zwischen Blutuntergang und Jodzahl des Blutes besteht, wird mit dem Einsetzen der manifesten klinischen Besserungen, wie sie im Gefolge der Splenektomie bei hämolytischen Anämien bekanntlich auftreten, ein deutliches Absinken der Jodzahl im Blute zu erwarten sein. Tritt eine wesentliche Besserung des Blutbildes ein, ohne daß wesentliche Veränderungen im Gehalt des Blutes an ungesättigten Fettsäuren vor sich gehen, so darf hieraus der Schluß gezogen werden, daß auch in diesen Fällen die hohe Jodzahl in den Erythrocyten nur ein akzidentelles Symptom darstellt, das in keinem Parallelismus zu der Intensität des toxischen Blutzerfalls steht.

Wir berichten zunächst über den Einfluß der Milzexstirpation auf die Blutkörperchen bei dem Falle von hämolytischem Icterus Minkowski - Chauffard.

Tabelle V.

1000 g Erythrocyten beim hämolytischen Icterus enthalten:

	Gesamt- extrakt	Gesamt- cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin- ester	Erythro- cytenzahl	Jodzahl für 1000 g E	Jodzahl für 100 g Fett
Vor der Splenek- tomie	7,722	0,8020	0,7877	Spuren	2 720 000	4,1935	54,320
16 Tage nach der Splenektomie	7,608	0,7405	0,6746	0,0659	5 220 000	2,8758	37,785
26 Tage nach der Splenektomie	9,942	1,1880	1,1523	Spuren	5 644 000	5,5724	56,062

Wir sehen nach der Splenektomie zunächst in der Tat ein Absinken der Jodzahl im Blutkörperchenfett, 26 Tage post operationem sind aber bereits wieder ähnliche Jodzahlen wie vor der Operation erreicht, obwohl die manifeste klinische Besserung anhält, die Zahl der roten Blutkörperchen von 2 720 000 auf 5 644 000 angestiegen ist und die osmotische Resistenz sich erheblich gebessert hat. Es bestehen somit keinerlei gesetzmäßige Beziehungen zwischen Blutbefund und dem Gehalt der Erythrocyten an

ungesättigten Fettsäuren, und die gleiche Unabhängigkeit des allgemeinen Blutstatus von der Menge der ungesättigten Fettsäuren tritt auch beim Serum dieses Falles deutlich in die Erscheinung.

Tabelle VI.

1000 g Serum beim hämolytischen Icterus enthalten:

	Gesamt- extrakt	Gesamt- cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin- ester	Freies Chole- sterin zu Cho- lesterinester	Jodzahl für 1000 g Serum	Jodzahl für 100 g Fett
Vor der Splenek- tomie	3,757	0,5686	0,2680	0,2041	1 : 1,6	1,8091	48,122
16 Tage nach der Splenektomie	4,503	0,9025	0,2550	0,6475	1 : 2,5	2,7891	61,984
26 Tage nach der Splenektomie	5,864	1,6575	0,4625	1,195	1 : 2,6	2,4782	42,291

Hier sehen wir trotz der klinischen eklatanten Besserung 16 Tage nach der Splenektomie sogar einen Anstieg der Jodzahl im Serum; sie fällt zwar 26 Tage nach der Operation ab, hält sich aber trotz der fortschreitenden Genesung auf der Höhe der Werte vor der Splenektomie, obwohl die ursprüngliche Anämie nach der Milzexstirpation einer deutlichen Hyperglobulie gewichen ist. Es wird somit nach der Splenektomie beim hämolytischen Ikterus trotz erstaunlicher Besserung des Allgemeinbefindens, trotz Schwindens der Anämie und des Ikterus der Gehalt des Blutes an ungesättigten Fettsäuren nicht ostentativ im Sinne eines kritischen Abfalles beeinflußt.

Ein hiermit prinzipiell übereinstimmendes Ergebnis erhielten wir bei dem vor und nach der Milzexstirpation untersuchten Fall von Splenomegalie mit Fibroadenie.

Tabelle VII.

1000 g Erythrocyten enthalten:

	Gesamt- extrakt	Gesamt- cholesterin	Jodzahl für 1000 g E
Vor der Splenektomie	11,741	1,5494	6,0038
16 Tage nach der Splenektomie	8,155	1,4329	6,9841

1000 g Serum enthalten:

	Gesamt- extrakt	Gesamt- cholesterin	Jodzahl für 1000 g Serum
Vor der Splenektomie	5,162	0,577	5,2188
16 Tage nach der Splenektomie	9,137	1,308	4,8753

Wir können somit die von Eppinger und King im Tierexperiment erhobenen Befunde, daß nach Milzexstirpation die Menge der ungesättigten Fettsäuren im Blut auf ein Minimum reduziert wird, beim kranken Menschen nicht bestätigen.

In beiden Fällen von Splenektomie steigt in Übereinstimmung mit den tierexperimentellen Befunden von King, Soper und den Ergebnissen von Medak der Gesamtfett- und Gesamtcholesteringehalt im Blute deutlich an. —

Es bleibt noch die von Meyerstein, Lewin, Eppinger und Medak im Hinblick auf den therapeutischen Erfolg der Splenektomie aufgeworfene Frage zu diskutieren, ob nicht dem gesteigerten Blutuntergang eine krankhafte gesteigerte Bildung von ungesättigten Fettsäuren in der Milz zugrunde liegt, wobei theoretisch die Möglichkeit zuzugeben ist, daß es nicht immer zu einer Ausschwemmung dieser Substanzen in das periphere Blut zu kommen braucht. Auch diese Hypothese hält, wie die folgenden Milzanalysen beweisen, vor den Tatsachen nicht stand.

Tabelle VIII.

1000 g Milz enthalten:

Untersuchte Milzen		Gesamt- extrakt	Gesamt- cholesterin	Freies Cholesterin	Cholesterin- ester	Jodzahl für 1000 g Milz	Jodzahl für 100 g Fett
Bei Kranken ohne Anämie	1. Apoplexie	30,994	2,792	2,805	—	15,097	48,735
	2. Myodegen. cord. . .	38,185	3,361	3,355	—	18,9854	49,667
	3. Lipoidnephrose . . .	46,826	3,622	3,628	—	20,836	44,462
	4. Magencarcinom mit Ikterus	40,409	4,642	—	—	16,766	41,533
Bei anämischen Krankheits- zuständen	I. Perniziöse Anämie	18,861	2,591	2,586	—	7,7301	40,908
	II. Perniziöse Anämie	12,052	1,954	1,949	—	5,6144	46,397
	III. Hämolytischer Ikterus	23,153	3,027	0,940	2,087	8,2360	35,473
	IV. Carcinomanämie .	19,859	3,255	3,250	—	11,4823	57,646

Der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren in der Milz bei schweren menschlichen Anämien ist nach unseren Befunden gegenüber normalen Milzen nicht nur nicht erhöht, sondern, bezogen auf gleiche Gewichtsmengen des Organs, sogar durchweg erheblich vermindert. Es dürfte sich hierbei, worauf auch die starke Herabsetzung des Gesamtfettes hinweist, um ein unspezifisches Inanitionssymptom handeln, wie es auch von Feigl bei der Ödemkrankheit beschrieben worden ist. Dem starken Fettschwund

geht nicht eine entsprechende Verminderung des Cholesteringehaltes parallel. Wir finden hier ähnliche Verhältnisse vor, wie sie von Bürger und Beumer beim Knochenmark erhoben worden sind, das gleichfalls bei hochgradiger Fettverarmung des Körpers seine Cholesterinbestände als integrierenden Bestandteil nach Möglichkeit zu wahren sucht.

Auf die in der Milz beim hämolytischen Ikterus in größeren Mengen vorhandenen Cholesterinester möchten wir kein großes Gewicht legen. Während sämtliche Milzen erst nach 16–20 Stunden post mortem gewonnen wurden, gelangte die Milz dieses Falles unmittelbar nach der Herausnahme ganz frisch zur Verarbeitung. Es besteht daher die Möglichkeit, daß eine Spaltung der ursprünglich vorhandenen Cholesterinester durch das von Röhm ann entdeckte und von Schulz und Cytronberg näher studierte esterspaltende Ferment, die sog. Cholesterase, stattgefunden hat.

Allgemein kann man auf Grund der oben geschilderten Ergebnisse somit sagen, daß eine gesteigerte Bildung von ungesättigten Fettsäuren in der Milz bei anämischen Krankheitszuständen verschiedenartigster Ätiologie sich nicht nachweisen läßt.

Wir kommen somit zu dem Gesamtergebnis, daß entgegen den Befunden von Eppinger - King - Medak und in Übereinstimmung mit den entgegengesetzten kurzen Angaben Feigls die chemische Struktur des Blutes bei schweren anämischen Krankheitsprozessen des Menschen hinsichtlich Jodzahl, hinsichtlich Cholesterin und Cholesterinester keine charakteristischen Abweichungen gegenüber der Zusammensetzung des Blutes bei nichtanämischen Zuständen darbietet und daß ein ostentativer Einfluß der Splenektomie auf die Jodzahl im Blute beim Menschen vermißt wird.

Es mag vielleicht nicht überflüssig sein, darauf hinzuweisen, daß eine Ablehnung der Befunde von Eppinger - King - Medak noch nicht ohne weiteres eine Ablehnung der pathogenetischen Bedeutung der ungesättigten Fettsäuren bei der Genese der schweren anämischen Krankheitszustände des Menschen in sich schließt. Es besteht die Möglichkeit, daß sich innerhalb des Komplexes der jodbindenden Substanzen im Blute nicht quantitative Veränderungen abspielen, wie sie Schminke und Flury auf Grund ihrer (von Beumer bezweifelten) experimentellen Beobachtungen am ölsäurevergifteten Hund postulieren, sondern daß der Entstehungsmechanismus der schweren Anämien mit qualitativen, spezifischen Abartungen der ungesättigten Fettsäuren zusammenhängt, die wir mit dem Kollektivbegriff der Jodzahl einzeln nicht erfassen. Es kommt dazu, daß diese Ver-

schiebungen sich nicht in der Zirkulation, sondern nur in den Organen und auch hier vielleicht nur in bestimmten Organen vollziehen können, und daß zur schweren Schädigung der Erythrocyten vielleicht schon eine lockere, vorübergehende Bindung der hämolytischen Lipoids-substanzen an die Blutkörperchen ausreicht. Es ist schließlich zu berücksichtigen, daß mit der Eiweiß- und Cholesterinverarmung des Blutes, wie sie sich im Verlaufe schwerer Anämien einstellt, die Schutzkraft des Serums gegen die hämolytische Wirkung der ungesättigten Fettsäuren sinkt, und daß damit auch eine sekundäre Beteiligung jodbindender Fettsäuren am Zerstörungsprozeß der Blutkörperchen auch ohne quantitative und qualitative Verschiebung in den Bereich der Möglichkeit rückt.

Zusammenfassung.

1. Entgegen den Befunden von Eppinger - King - Medak bietet die chemische Struktur des Blutes bei schweren anämischen Krankheitszuständen hinsichtlich Cholesterin, Cholesterinester und Jodzahl keine charakteristischen Abweichungen gegenüber der Zusammensetzung des Blutes bei nichtanämischen Zuständen.

2. Nach der Splenektomie beim Menschen wird trotz wesentlicher Besserung des Blutbefundes der Gehalt der Blutkörperchen und des Serums an ungesättigten Fettsäuren nicht ostentativ im Sinne eines kritischen Abfalles beeinflußt. Die Jodzahl im Blute steht in keinem Parallelismus zu der Intensität des toxischen Blutzerfalles.

3. Nach der Splenektomie beim Menschen steigt entsprechend den Erfahrungen im Tierexperiment (Eppinger, Soper) der Gesamtfett- und Gesamtcholesteringehalt im Blute deutlich an. Diese Zunahme des Fett- und Cholesteringehaltes betrifft konstant das Serum, kann aber auch bei den Erythrocyten in die Erscheinung treten.

4. In der Milz bei schweren menschlichen Anämien sind jodbindende Fettsäuren nicht in vermehrter Menge vorhanden.

5. Die roten Blutkörperchen bei perniziösen Anämien sind in Übereinstimmung mit Bürger und Beumer im Gegensatz zu den Befunden von Schminke und Flury bei der experimentellen Ölsäureanämie frei von Cholesterinestern.

6. Dem starken Fettschwunde in der Milz bei schweren Anämien geht nicht eine entsprechende Verminderung des Cholesteringehaltes parallel.

7. Bei der Lipoidnephrose können die roten Blutkörperchen an dem charakteristischen infiltrativen Prozeß mit Cholesterinestern teilnehmen. An der Cholesterinämie im Serum sind freies und gebundenes Cholesterin in normalem Verhältnis beteiligt.

Literatur.

Bang, diese Zeitschr. **91**. — Becquerel und Rodier, zit. nach Bürger und Beumer. — Beumer, diese Zeitschr. **95**, 237. 1919. — Berger und Tsuchiya, Dtsch. Archiv f. klin. Med. **96**, 252. — Bürger und Beumer, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **13**. 1913. — Eppinger, Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 33, S. 1509. — Feigl, diese Zeitschr. **35**. 1918. — Feigl, diese Zeitschr. **93**, 257. 1919. — Flury und Schminke, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 126. — Grafe und Böhmer, Dtsch. Archiv f. klin. Med. **93**, Heft 1—2. — Grigaut, Le Cycle de la Cholestérinémie. Paris 1913. — Hirschfeld, zit. nach Klemperer, 27. Dtsch. Kongr. f. inn. Med. 1910, S. 142. — Joannovics und Pick, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **7**. 1909. — Kawamura, Die Cholesterinesterverfettung. Fischer, Leipzig 1911. — King und Medak, diese Zeitschr. **59**. 1914. — Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 37. — Lewin, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. — Minkowski, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **21**, 373. 1886. — Munk und Rosenstein, Archiv f. Phys. 1890, S. 376. — Peritz und Glikin, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **8**, 255. 1910. — Rosenthal, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 21. — Rosenthal, Dtsch. Archiv f. klin. Med., **132**, Heft 3/4. 1920. — Rosenthal und Patrzek, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 34, S. 793. — Soper, Zieglers Beiträge z. allg. Path. u. pathol. Anat. **60**, 232. 1915. — Tallquist und Faust, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **57**, Heft 5—6; Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 1.

Untersuchungen über den Gang der alkoholischen Gärung der Hefe.

Von
Erich Köhler.

(Aus dem botan. Laboratorium der Hochschule Weihenstephan)
(Vorläufige Mitteilung.)

(Eingegangen am 27. Mai 1920.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Einleitung.

In einer kürzlich erschienenen Abhandlung¹⁾ hat Verfasser über Versuche berichtet, die das Verhalten wachsender Hefe zum Gegenstand hatten. Es wurde u. a. gezeigt, daß die Prozesse des Wachstums und der Gärung nicht stetig verlaufen, sondern in Abhängigkeit von Konzentrationsveränderungen im Nährsubstrat weitgehenden Schwankungen unterliegen. Weiter wurde nachgewiesen, daß dem Äthylalkohol jedenfalls ein wesentlicher Anteil am Auftreten und dem Verlauf der Schwankungen zugesprochen werden muß. Es wurde in jener Abhandlung die Frage offengelassen, ob die bei der Gärung wachsender Hefe nachgewiesenen Schwankungen der CO₂-Produktion lediglich eine Folge seien der Schwankungen des Wachstums, m. a. W., ob die CO₂-Produktion mit dem Wachstum durchaus parallel gehe, oder ob die Gärung an und für sich schon unregelmäßig verlaufe. Die im folgenden mitgeteilten Versuche an nicht wachsender Hefe bringen die Antwort auf diese Frage.

Zur Literatur.

Buchner und Hahn²⁾ beschreiben einen Gärungsversuch mit nicht wachsender Hefe und äußern sich über die

¹⁾ Erich Köhler, Diese Zeitschr. 106, 194. 1920.

²⁾ Eduard Buchner, Hans Buchner u. Martin Hahn, Die Zymasegärung. München u. Berlin 1903, S. 152.

dabei in Erscheinung getretenen Unregelmäßigkeiten der CO_2 -Produktion bei verschiedener Zuckerkonzentration: „Die nach 4 und nach $8\frac{1}{2}$ Stunden erhaltenen Kohlendioxidzahlen schwanken ziemlich und lassen eine Gesetzmäßigkeit nicht erkennen, da die Unterschiede wahrscheinlich innerhalb der Fehlergrenzen liegen. Es wurden deshalb noch genauere Versuche mit je 2 Parallelversuchen angestellt.“ In diesen „genaueren“ Versuchen — eine besondere Methode wird nicht angegeben — sind nun merkwürdigerweise die Schwankungen verschwunden: ein

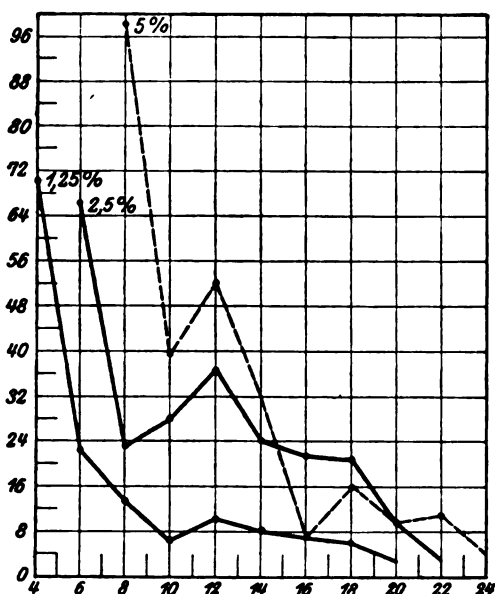


Abb. 1.

mir ganz unerklärliches Ergebnis. Auch Rubner¹⁾ beschreibt einen Versuch, bei welchem dieselbe Hefemenge in Zuckerlösungen von verschiedener Konzentration ausgesät wurde. Er stellt in einer Tabelle die Mittelwerte einer „sehr großen Anzahl“ von Versuchen zusammen. Zum Verständnis des Folgenden müssen wir darauf näher eingehen. Um gleich anschaulich zu machen, auf was es ankommt, übertrage ich die bei den Konzentrationen von 5,25, 2,5 und 1,25% Zucker in den letzten Stunden

¹⁾ Max Rubner, Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei alkoholischer Gärung. Leipzig 1913, S. 105 u. ff.

erhaltenen Werte der Rubnerschen Tabelle in ein Koordinatensystem. (Abb. 1.) Man ersieht daraus sofort, daß die Gärungsenergie großen Schwankungen unterworfen ist, daß sich in diesen Schwankungen Gesetzmäßigkeiten ausdrücken müssen, die uns bis jetzt unbekannt geblieben sind. Rubner geht den Schwankungen nicht weiter nach. Er findet enorme Unterschiede der Zerlegungskraft bei den verschiedenen Zuckerkonzentrationen und äußert sich hinsichtlich der Geschwindigkeit der Zerlegung, daß sich aus (den gefundenen) Zeiten offenbar bestimmte Angaben über Gesetzmäßigkeiten des Verlaufs überhaupt nicht ableiten lassen. Daß letzteres doch möglich ist, werden die folgenden Versuche zeigen.

Methodik.

Der zeitliche Verlauf der Gärung ist, so eigentümlich das klingt, noch nicht einmal in seinen großen Zügen untersucht. Das liegt wohl mit an der Unvollkommenheit der Methoden. Es galt im folgenden, die bei der Gärung auftretenden, geringsten Schwankungen zu erfassen. Dazu waren die bisher allein gebräuchlichen Methoden der Wägung, der CO_2 -Volumen-Messung und der calorimetrischen Methode (Rubner) nicht hinreichend. Denn durch diese Methoden wurden die Summen derjenigen Werte gewonnen, auf die es uns im einzelnen ankam. Zur Verfolgung des zeitlichen Verlaufs wurde die aus dem Kulturgefäß entweichende Kohlensäure durch eine Flüssigkeit geleitet und die dabei auftretenden Gasblasen gezählt. Geringe Schwankungen in der Intensität der Gärung machen sich durch die Zahl der in der Zeiteinheit passierenden Gasblasen bemerkbar. Als geeignete Gefäße erwiesen sich 100-ccm-Pasteur-Kolben, deren Lüftungsröhr nach unten umgebogen und in die Flüssigkeit — als besonders günstig erwies sich mit Berücksichtigung der Oberflächenspannung der Alkohol — getaucht wurde.

Versuch.

Je 100 ccm einer 5, 10, 15 und 20 proz. wässrigen Dextrose-lösung wurde die gleiche Menge (Weihenstephaner Betriebs-) Hefe zugesetzt und diese Aufschlämmungen in 4 Pasteurkolben eingefüllt. Die Temperatur betrug 13° . Die Messungen, bei Kolben I beginnend, wurden alle 10 Minuten vorgenommen,

indem die Zahl der in 1 Minute auftretenden Blasen gezählt wurde. Die folgende Tabelle gibt die dabei gefundenen Werte (siehe Tabelle I). Über den weiteren Verlauf gibt Abb. 2 Aufschluß.

Tabelle I.
Zahl der in 1 Minute gezählten Gasblasen.

Zeit	Kolben I 5%	Kolben II 10%	Kolben III 15%	Kolben IV 20% Dextrose
8 ^h 30'	13	6	3	0
8 ^h 40'	17	11	8	0
8 ^h 50'	22	14	9	0
9 ^h 00'	22	18	13	3
9 ^h 10'	22	21	17	7
9 ^h 20'	18	21	20	9
9 ^h 30'	13	22	23	9
9 ^h 40'	10	22	23	11
9 ^h 50'	10	23	26	13
10 ^h 00'	9	23	26	14
10 ^h 10'	9	20	28	15
10 ^h 20'	9	17	30	17
10 ^h 30'	10	17	30	17
10 ^h 40'	11	17	31	19
10 ^h 50'	11	16	33	19
11 ^h 00'	10	16	35	20
11 ^h 10'	12	16	31	22
11 ^h 20'	13	17	29	26
11 ^h 30'	13	17	27	27
11 ^h 40'	12	19	33	27
11 ^h 50'	14	18	31	28
12 ^h 00'	15	19	34	30
12 ^h 10'	16	20	35	31
12 ^h 20'	16	21	33	32
12 ^h 30'	18	21	34	35
12 ^h 40'	19	20	34	32
12 ^h 50'	18	22	34	36

Wir wollen zuerst den Kurvenverlauf im großen ansehen und die kleinen Schwankungen vorerst außer acht lassen. Die Gärungsintensität weist zu Beginn eine gleichmäßige Beschleunigung auf, wie aus der Geradlinigkeit der Kurvenanfänge hervorgeht. Dabei ist es interessant, daß letztere bei I bis III parallel gehen, daß also diese Beschleunigung denselben Wert hat, wogegen bei IV dieser Wert geringer ist. I bis IV unterscheiden sich aber sämtlich dadurch voneinander, daß die gleiche Intensität der Gärung in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration nicht gleichzeitig erreicht wird. Der Einsatz der Gärung ist verschieden. Dabei wirkt die stärkere Zuckerkonzentration

verzögernd. Kurve IV steigt nicht so steil an wie die anderen. Die durchschnittliche Beschleunigung ist geringer. Dieser langsame Verlauf hat auch zur Folge, daß die kleinen Schwankungen, die sich bei I—III kaum in Andeutungen zeigen, hier deutlicher ins Auge fallen und das Bild der Gleichmäßigkeit stören, die hier offenbar ebenso vorhanden ist, wie bei den andern Kurven.

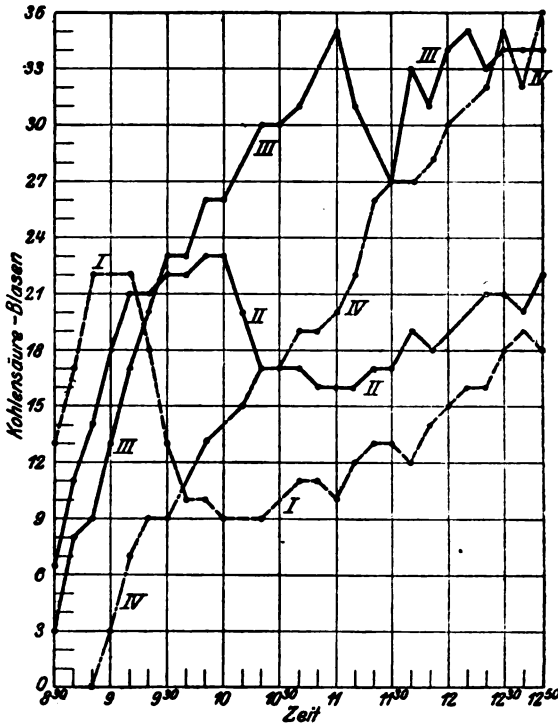


Abb. 2.

Bei I und II hält sich nach Erreichung einer bestimmten Höhe die Gärungsintensität annähernd auf dieser Höhe, um nach einer gewissen Zeit wieder stark nachzulassen. Nach Erreichung eines Minimums folgt ein erneuter Anstieg, nicht mit derselben Geschwindigkeit wie der erste, so daß die „kleinen Schwankungen“ deutlich hervortreten. Dieser erneute Anstieg führt auf eine den ersten übertreffende Höhe. Der nun folgende Abstieg wurde nicht mehr im einzelnen verfolgt. Unter Zuhilfenahme der oben nach den Ergebnissen Rubners konstruierten Kurven (Abb. 1) läßt sich ein unregelmäßiger Verlauf erkennen.

Bei den Kurven III und IV (Abb. 2) läßt sich, soweit das Beobachtungsmaterial vorliegt, ein Absinken nach dem ersten Anstieg nicht deutlich erkennen. Es sieht so aus, als ob das Minimum des Abstiegs mit zunehmender Zuckerkonzentration immer höher rücke, um schließlich ganz zu verschwinden.

Alles in allem zeigt der beschriebene Versuch zur Genüge, daß die Gärung unregelmäßig verläuft und von der

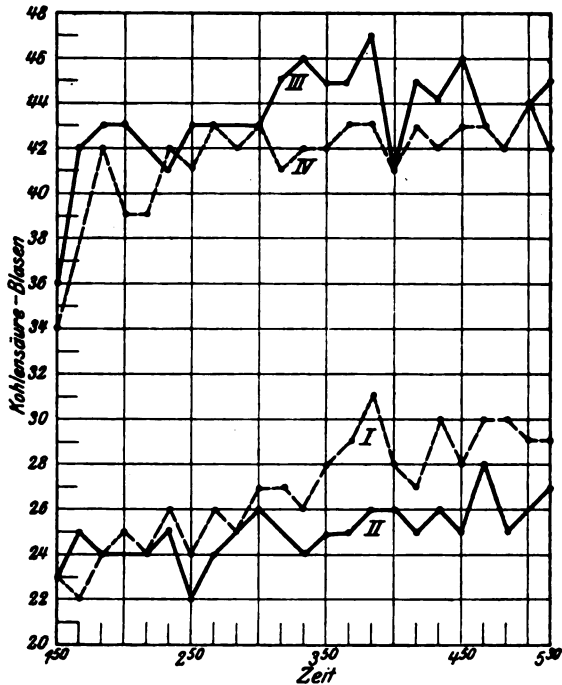


Abb. 2a.

Konzentration des Zuckers abhängig ist. Es ist ohne weiteres klar, daß alle Versuche, die angestellt worden sind, um die Wirkung von irgendwelchen Stoffen auf die Kinetik der Gärung zu erforschen, einer Revision unterzogen werden müssen. Es geht nicht an, wie es häufig geschehen ist, daß man den Gärungsversuch in einem beliebigen Zeitpunkt abbricht und dann feststellt, wieviel Zucker zerlegt wurde. Man erhält auf diese Weise keine brauchbaren Vergleichswerte, wie ein Blick auf unsere Abbildung lehrt. Die in der ersten Stunde entfaltete Intensität gibt keinen

Maßstab ab für den weiteren Verlauf. Leider enthalten die oben mitgeteilten Kurven große Lücken, da einem einzelnen Beobachter eine Verfolgung des Prozesses durch längere Zeiträume unmöglich ist. Dem ließe sich durch automatische Registrierung leicht abhelfen. Es sind Versuche im Gang, die darauf abzielen, ein Diagramm unmittelbar auf eine sich drehende berußte Walze zu übertragen, wodurch sich eine ununterbrochene Beobachtung ermöglichen ließe.

Der Einfluß des Alkohols.

Wir haben bisher die kleinen Schwingungen unberücksichtigt gelassen, obgleich sie ebenso sicher vorhanden sind, wie die großen. Das geht schon aus der Gestaltung hervor, in der sie sich auf der Kurve abzeichnen. Man vergleiche ihre Form bei steilem, geneigtem und horizontalem allgemeinem Kurvenverlauf. Es läßt sich vermuten, daß sie eine Folge sind von Konzentrationsänderungen im Substrat und es liegt der Gedanke nahe, sie mit der Alkoholproduktion in Verbindung zu bringen. Es hat sich ja in der angegebenen Arbeit¹⁾ herausgestellt, daß durch ganz geringe Unterschiede im Alkoholgehalt des

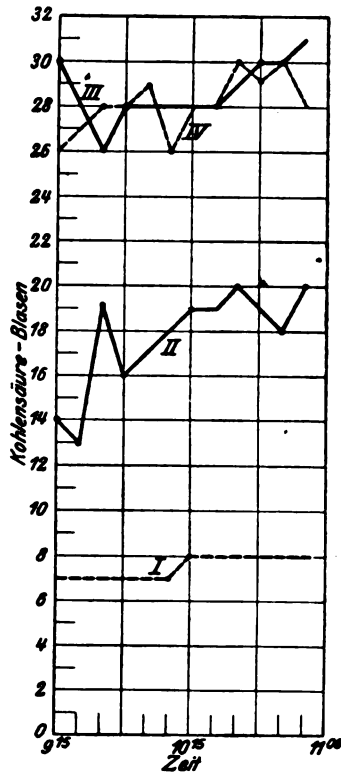


Abb. 2b.

Kulturmediums ungeahnte Unterschiede im Wachstum hervorgerufen werden können. Die Vermutung, daß der Alkohol auch die Gärung nicht wachsender Hefe weitgehend beeinflusse, hat sich als zutreffend erwiesen, wie die folgenden Versuche zeigen werden.

In 14 Erlenmeyerkolben (100 ccm) wurden je 45 ccm einer 10proz. Lösung (ungereinigter) Saccharose eingefüllt. Dazu wurden um 0,1 ccm steigende Mengen von 1–2,3 ccm Alkohol (94 vol.-proz.) zugegeben. Jeder einzelne Kolben wurde sofort

¹⁾ Köhler, l. c.

nach Einfüllen von 25 ccm einer Hefeauschlämmung gewogen mit einer Waage, die zuverlässig Unterschiede von 0,01 g anzeigt. Genau nach Verlauf von drei Stunden wurde die Wägung wiederholt. Die Gewichtsabnahmen (CO_2 -Verlust) sind auf Abb. 3 in die Ordinaten, die Alkoholmengen in die Abszissen eingetragen. Nach drei Stunden (Kurve I) befinden sich Optima der Gärung bei 1, 1,9 und 2,3 ccm Alkohol; Minima bei 1,6 und 2,1 ccm. — Mit zunehmender Gärgeschwindigkeit rücken die Optima und Minima näher zusammen, wie aus Kurve II zu ersehen ist. Auf Kurve II ist die von der 6. bis zur 7. Stunde (seit Beginn des Versuchs) während der Hauptgärung erfolgte Gewichtsabnahme festgestellt. Hier beträgt die Gärungsintensität mehr als das Dreifache des Anfangs. Dabei treten die Optima und

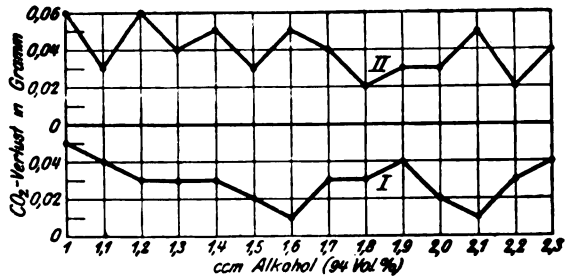


Abb. 8.

Minima nicht mehr überall mit gleichmäßiger Deutlichkeit hervor. Diese Erscheinung hat ihren Grund offenbar darin, daß mit steigender Alkoholkonzentration ebenfalls Optima und Minima näher zusammenrücken, wie ein Vergleich der beiden Kurven ergibt.

Da durch die bei der Gärung erfolgende Alkoholproduktion die Alkoholkonzentration dauernd zunimmt, müssen in jeder Kultur nacheinander die Zeitmomente eintreten, wo sie vorübergehend die gleichen Konzentrationen passiert, die die Kulturen mit höherer Anfangskonzentration aufgewiesen haben, und demnach müssen auch in jeder Kultur die gleichen Höhen- und Tiefenpunkte der Gärungsintensität aufeinander folgen. Bei dem folgenden Versuch wird die Richtigkeit dieser Überlegung dargestellt. Voraussetzung für das Gelingen des Versuchs ist, daß man eine Zeitspanne zur Beobachtung auswählt, während welcher die Gärungsgeschwindigkeit sich annähernd gleichbleibt. Außerdem darf die Gärung nicht zu stürmisch verlaufen, weil sonst

die Optima und Minima zu rasch aufeinanderfolgen und das Bild verzerren. —

In Abb. 4 sind die in einem Intervall von je einer Stunde durch Wägung gewonnenen Werte der CO_2 -Produktion als Kurven eingetragen. Die einander entsprechenden Höhen- und Tiefenpunkte sind mit gleichen Buchstaben bezeichnet. Man erkennt deutlich die mit der Zeit vor sich gehende Verschiebung der ganzen Kurve nach links.

(Die Unregelmäßigkeiten sind auf die schwerlich zu vermeidenden Fehlerquellen zurückzuführen.) Nach jeder Stunde ist die Kurve weiter nach links verlegt. Dies ist eine direkte Folge der durch die Gärung erfolgenden Zunahme der Alkoholkonzentration. Jeder bestimmten Alkoholkonzentration entspricht eine bestimmte Gärungsintensität. Im Verlauf der Gärung wechseln Hemmung und Förderung dauernd miteinander ab.

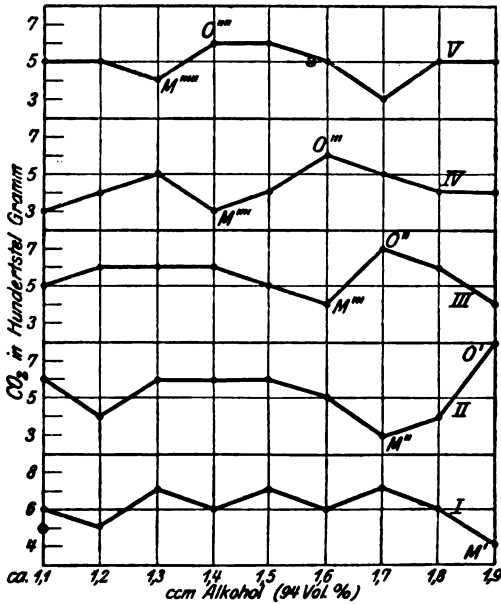


Abb. 4.

Wie für den Wachstumsprozeß ist nun also auch für den Gärungsprozeß der Nachweis erbracht, daß er unter dem Einfluß zunehmender Alkoholkonzentration rhythmisch verläuft. Diese Erscheinung ist von bedeutendem theoretischem Interesse, da sie sich für das Problem der Stoffaufnahme in die Zelle höchstwahrscheinlich in fruchtbarer Weise verwerten lassen. Weiteres muß der Hauptarbeit vorbehalten bleiben.

Über die Konservierung von Blut mit Allylkohol.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 31. Mai 1920.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit¹⁾ habe ich ausgeführt, daß eine Anzahl von Chlorderivaten des Methans, Äthans, Äthylens imstande ist, Schlachtierblut ohne es, abgesehen vom Lackfarbenwerden, merklich zu verändern, für längere oder kürzere Zeit in frischem Zustand zu erhalten, daß sie ferner bei der Herstellung von Trockenblut in Pulverform — hauptsächlich auf diese ging ich bei meinen Versuchen aus — restlos aus dem Blut verschwinden. Die genannten Chlorderivate haben aber den großen Nachteil, daß sie äußerst schwer löslich sind und infolgedessen zur Konservierung anhaltendes und kräftiges Schütteln des Blutes mit denselben erforderlich ist. Für die praktische Anwendung ist das ein sehr großer Übelstand. Glasflaschen kommen dabei wohl kaum in Frage, verschließbare Blechgefäße bieten aber zu wenig Garantie für vollständige Reinigung (um so weniger, als sich doch Gerinnsel bilden können), die schon bei den üblichen Milchkannen schwierig, aber immerhin möglich ist, außerdem durch Aufstülpen auf einen Auslaß, aus dem Dampf ausströmt, vervollständigt zu werden pflegt. Nach dem, was ich davon gesehen habe, dauert diese Prozedur nur so kurze Zeit, daß man über ihre Wirksamkeit wohl in Zweifel sein könnte, wenn diese Zweifel nicht durch die tatsächliche Erfahrung widerlegt würden.

Was die Blutkonservierung betrifft, so ist es, abgesehen von der erwähnten technischen Schwierigkeit, sehr zweifelhaft, ob das Schütteln ohne einen Schüttelapparat, der bei der Auf-

¹⁾ Diese Zeitschr. 107, 191, 1920.

sammlung kleiner Blutmengen — nur diese kommen hier in Betracht, da das Blut aus Schlachthäusern natürlich frisch verarbeitet wird — wohl ganz ausgeschlossen erscheint, in ausreichendem Maße geschehen könnte bzw. würde. Es handelte sich also darum, eine Substanz zu finden, die folgende Eigenschaften in sich vereinigt: 1. sie mußte mit Wasser mischbar, also unbegrenzt löslich sein; 2. in verhältnismäßig geringer Quantität hinreichend konservierend wirken; 3. das Blut nach keiner Richtung hin verändern; 4. bei der Herstellung des Blutpulvers vollständig entweichen; 5. keinen zu hohen Preis haben. Nach einigem Suchen habe ich eine solche Substanz in dem Allylkohol gefunden, einem ungesättigten Alkohol von der Formel $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}_2\text{O}$ vom Siedepunkt $96,6^\circ$ und 0,8573 D (bei 15°). Seine antiseptischen Eigenschaften sind allerdings nur mäßig, wie folgende Versuche zeigen:

1. 100 ccm einer faulenden Fleischmaceration wurden am 23. VI. mit 0,5 ccm Allylkohol versetzt, nach 2 Stunden auf Nährgelatine übergeimpft. Schon am 25. VI. war die Nährgelatine verflüssigt und augenscheinlich faulig. Als Desinfektionsmittel ist also Allylkohol unbrauchbar.

2. 20 ccm Nährgelatine und 180 ccm Wasser wurden in zwei gleiche Teile geteilt: *a* und *b*. Die eine Hälfte wurde mit 0,5 ccm Allylkohol versetzt, beide Mischungen in offenen Gefäßen leicht bedeckt, der spontanen Infektion ausgesetzt. Schon nach 2 Tagen war *a* trüb und faulig, bei *b* dauerte es 3 Tage länger, jedenfalls aber war von einer dauernden Konservierung bei dieser Konzentration nicht die Rede.

Für die Konservierung von Blut ergab sich folgendes: 100 ccm Rinderblut, am 6. IX. mit 1 ccm = 0,8575 g Allylkohol versetzt, in einer verkorkten Flasche aufbewahrt, war am 15. IX. noch ganz frisch und unverändert. An Proben, die mit 0,7 und 8 ccm versetzt waren, war noch nach 5 Wochen keine Veränderung zu konstatieren. Dagegen reichte ein Zusatz von 0,5 ccm auf 100 ccm Blut nur 5–6 Tage aus. Für die Praxis könnte ein Zusatz von 5–6 ccm auf 1 l Blut als ausreichend betrachtet werden, da es sich kaum um mehr als 5–6 Tage zwischen dem Auffangen des Blutes und der Verarbeitung handeln dürfte; der Anwendung einer etwas größeren Quantität stände zudem nichts im Wege.

Veränderungen des Blutes traten in der kurzen Zeit der Aufbewahrung, an der ich Interesse hatte, nicht ein, Ausscheidungen wie beim Chloroform wurden nicht beobachtet. Das Blut wurde lackfarben, allmählich bräunlich bis schwärzlich, der Oxyhämoglobinstreifen war unverändert, daneben im Hämatinstreifen ein Rot sichtbar, jedoch auffallenderweise nicht immer deutlich.

Der Allylkohol ist nun keine ganz harmlose Substanz. Nach Miessner¹⁾ erkrankten die mit der Darstellung des Allylkohols beschäftigten Arbeiter und Chemiker nicht selten unter influenzaartigen Erscheinungen, selbst vorübergehende Akkommodationslähmung ist beobachtet worden. Durch angemessene Vorbeugungsmaßregeln dürfte sich indessen dieser Übelstand wohl beseitigen lassen, so daß hieraus der Anwendung des Allylkohols keine Schwierigkeit erwachsen würde, dagegen muß unter diesen Umständen die Forderung erhoben werden, daß Blutpulver, welches aus mit Allylkohol konserviertem Blut dargestellt ist, ganz oder bis auf bedeutungslose Spuren frei sein muß von Allylkohol.

Es handelte sich also darum, ein Verfahren zu finden, das den Nachweis minimalster Mengen von Allylkohol ermöglicht. Zu dem Zweck erschien es mir am nächstliegenden, den Allylkohol zu Akrolein²⁾ zu oxydieren, für dessen Nachweis wir scharfe Reaktionen besitzen. Allerdings schließt das Oxydationsverfahren die Gefahr in sich, daß die Oxydation zu weit geht bis zur Akrylsäure oder noch darüber hinaus. Wie diese Gefahr zu vermeiden ist, mußte durch Versuche festgestellt werden, jedenfalls war es von vornherein klar, daß das Oxydationsmittel nur ein milde wirkendes sein dürfe.

Eine Vorfrage ist dabei, welche Reaktion man zum Nachweis des Akrolein anwenden soll. Als Aldehyd gibt dasselbe die allgemeinen Aldehydreaktionen namentlich die Reaktion mit fuchsinschweflicher Säure [Grosse-Bohlesche Lösung²⁾] und die Reaktion mit ammoniakalischer Silberlösung. Eine sehr empfindliche und — abgesehen vom Acetaldehyd — auch spezifische Reaktion hat L. Lewin³⁾ aufgefunden. Lewin sagt darüber:

„Mischt man auf einem Tiegeldeckel einen Tropfen Piperidin mit einem Tropfen Nitroprussidnatriumlösung und setzt auch nur eine Spur Akrolein oder einer Akroleinlösung hinzu, so entsteht je nach der Menge des Akroleins eine an Intensität verschiedene

¹⁾ Miessner, Berl. klin. Wochenschr. 1918, S. 819, zitiert nach S. Fränkel, Arzneimittelsynthese, 4. Aufl., S. 110 (1919). Vgl. auch Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, 1. Aufl. S. 583 (1898), sowie L. Lewin, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43, 366. 1900.

²⁾ Beim Ansäuern mit Salzsäure blau werdend, also nicht wie Acetaldehyd, sondern wie Formaldehyd.

³⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43, 363. 1900.

Blaufärbung von der Nuance des schönsten Enzianblaus, die durch Zusatz von Eisessig in Blaugrün, durch Ammoniak in Violett übergeht.“

Eine etwas andere Form der Versuchsanstellung beschreibt Lewin in den Ber. d. Dtsch. Chem. Gesellsch. 42, 3388. (1900.) Hier heißt es: „Mischt man Piperidin mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium, so entsteht auf Zusatz von Akrolein in Substanz oder in Lösung eine enzianblaue Färbung. In einer Verdünnung des Akrolein von 1 : 100 ist die Färbung noch intensiv, von 1 : 1000 rein blau, 1 : 2000 deutlich erkennbar, 1 : 2500 anfangs grünlich, dann allmählich grünlichblau und bei 1 : 3000 ist die Reaktionsgrenze erreicht, die Farbe ist hierbei nur grünlich.“

Es ist noch zu erwähnen, daß nach Lewin auch Acetaldehyd die Reaktion gibt, und zwar auch in größerer Verdünnung, schwächer Paraldehyd und sehr viel schwächer Propionaldehyd; Formaldehyd nicht.

Was die Art der Versuchsanstellung betrifft, so ziehe ich ein anderes Verfahren vor, indem ich nicht die zu prüfende Flüssigkeit in ein Gemisch von Nitroprussidnatrium und Piperidin eintropfe, sondern umgekehrt die zu prüfende Flüssigkeit mit Nitroprussidnatrium versetze und dann Piperidin eintropfe. Ich ziehe dieses Verfahren vor, weil bei demselben augenscheinlich eine größere Quantität des Akroleins in Wirkung tritt. Zu meinen Versuchen benutzte ich anfangs wässrige Akroleinlösung, die durch Eintropfen von käuflicher alkoholischer 33 proz. Akroleinlösung in das 100fache Wasser und Abfiltrieren von dem unlöslich Ausgeschiedenen erhalten war, später Oxydationsdestillate des Allylalkohols.

Ich kann nun noch eine neue Reaktion hinzufügen, die ganz spezifisch zu sein scheint. Dieselbe schließt sich aufs engste an die früher von mir beschriebene Art der Reaktionsanstellung auf Formaldehyd mit Witte-Pepton, Ferrichlorid und Salzsäure an. Während beim Formaldehyd in etwa 50 000facher Verdünnung nur anfangs violette, dann tiefblaue Färbung entsteht, die sich monatelang ohne jede Veränderung hält, gibt Akroleinlösung eine grasgrüne Färbung, die aber nicht beständig ist. Die eben erwähnte Akroleinlösung zeigte, 10fach verdünnt, die Reaktion noch deutlich.

Ich gehe nun zur Mitteilung der Versuche über den Nachweis des Allylalkohols durch Oxydation über.

Als Oxydationsmittel diente anfangs Salpetersäure und zum Nachweis des gebildeten Akroleins ammoniakalisch-alka-

liche Silberlösung (40 ccm 3 proz. Lösung von Silbernitrat, 10 ccm 12,5 proz. Ammoniak, 10 ccm Natronlauge 15—16 proz.). Lösungen von Allylkohol 1 proz. (Volumenprozent) verhalten sich dabei folgendermaßen. Nach Zusatz von etwa $\frac{1}{10}$ Volumen Salpetersäure von 1,5 D¹⁾ wurde zum Sieden erhitzt, gut abgekühlt, mit starker Natronlauge alkalisiert, wieder abgekühlt und ungefähr das gleiche Volumen der angegebenen alkalischen Silberlösung hinzugesetzt; es tritt fast momentan Schwärzung ein, beim Stehenlassen auch Silberspiegel. Bei Allylkohollösungen von 0,1 % tritt die Schwärzung allmählich ein. Erhitzen behufs Beförderung der Reaktion ist unzulässig, denn die angegebene Silberlösung gibt beim Erhitzen zum Sieden an sich einen Silberspiegel, zunächst an der direkt von der Flamme getroffenen Stelle, allmählich aber breitet sich der Spiegel über die ganze oder fast die ganze benetzte Fläche aus. Die Silberlösung ist auch bei Aufbewahrung in einer gelben Flasche nicht haltbar: es bildet sich allmählich ein Silberspiegel²⁾. Das Verfahren der Oxydation mit Salpetersäure hat den Vorteil, daß man die Destillation zur Isolierung des Akroleins erspart, andererseits den Nachteil, daß man auf die Silberreaktion allein beschränkt ist: weitere Reaktionen sind in der mit Salpetersäure oxydierten Lösung nicht mit Sicherheit anzustellen.

Später wurde allgemein die Oxydation mit einer dünnen Lösung von Kaliumchromat und Schwefelsäure in bestimmten Konzentrationsverhältnissen angewendet. Über die Brauchbarkeit dieses Verfahrens wurden folgende Versuche angestellt.

1. 100 ccm Wasser, 1 ccm 1 proz. Allylkohollösung (dem Gewicht nach 0,857 proz.), 10 ccm 5 proz. Dikaliumchromatlösung, 10 ccm verdünnte Schwefelsäure (20 proz.) werden destilliert. Die ersten Anteile zeigen stechenden Geruch. Es werden im ganzen 50 ccm abdestilliert.

¹⁾ So starke Salpetersäure habe ich angewendet, damit die Akroleinlösung durch den Zusatz möglichst wenig verdünnt wird.

²⁾ Die Ursache dieser langsam beim Aufbewahren, schnell beim Erhitzen eintretenden Reduktion muß einstweilen dahingestellt bleiben. Sie liegt vielleicht in einem geringen Gehalt der käuflichen Natronlauge an organischer Substanz. Dafür spricht folgendes. Setzt man zu verdünnter, durch ein wenig Kaliumpermanganatlösung rosa gefärbter, im Sieden befindlicher Schwefelsäure ein wenig Natronlauge, so entfärbt sich die Mischung sofort. Aus Natrium hergestellte Natronlauge wirkt aber auch entfärbend, wenn auch nicht so stark; es käme also auch das destillierte Wasser, Verunreinigung durch Staub usw. in Betracht.

Das Destillat gibt die Lewinsche Reaktion, reduziert die Silberlösung fast momentan.

2. 100 ccm Wasser, 0,15 ccm Allylkohol, alle Verhältnisse sonst ebenso. Das Destillat wurde in 3 Fraktionen aufgefangen zu 10, 25, 25 ccm. Das erste Destillat riecht stechend, die folgenden nicht. Alle Destillate geben die Lewinsche Reaktion und die Silberreduktion in abnehmender Stärke.

Um die Grenzen des Verfahrens kennenzulernen, wurden sukzessiv verdünntere Allylkohollösungen angewendet. Es ergab sich, daß bei Anwendung von 100 ccm einer Lösung von 1 : 10 000 in den ersten 10 ccm des Destillats sowohl die Lewinsche Reaktion, als auch die Silberreduktion noch deutlich vorhanden waren; in einer Verdünnung von 1 : 20 000 konnte die Lewinsche Reaktion noch erhalten werden, wenn man die auf Zusatz von Eisessig eintretende schnell verschwindende Grünfärbung als beweisend ansieht.

Im weiteren Verlauf wandte ich auch die oben angegebene neue Reaktion, zum Teil im Vergleich mit der Lewinschen an. Diese Reaktion schließt sich, wie erwähnt, an die von mir modifizierte Reaktion mit Pepton-Witte, Ferrichlorid und Salzsäure an, ich habe sie nur insofern etwas abgeändert, als ich statt $\frac{1}{2}$ Vol. das gleiche Volumen Salzsäure von 1,19 D anwende und meistens zuerst die Salzsäure, dann erst die Eisenchloridlösung hinzusetze. Die Quantität dieser muß, wie sich zeigte, der Konzentration des Akroleins angepaßt werden. In allen Fällen wurde die Reaktion mit 5 ccm des Destillates angestellt

Versetzt man 100 ccm Wasser mit 1 ccm einer 1 proz. Allylkohollösung (1 : 10 000), 10 ccm einer 5 proz. Dikaliumchromatlösung und destilliert 50 ccm ab, so enthält das Destillat relativ reichlich Akrolein, die späteren Anteile des Destillates keine merkliche Menge mehr, auch nicht nach erneutem Zusatz von Kaliumchromat und Schwefelsäure. Versetzt man 5 ccm dieses Destillates mit einer kleinen Messerspitze Pepton (etwa 0,8 g), dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,19 D, 4—5 Tropfen der 3 proz. Ferrichloridlösung und erhitzt zum Sieden, so tritt nicht, wie beim Formaldehyd, Violett- und Blaufärbung ein, sondern intensiv grasgrüne Färbung, die allmählich verblaßt. Auch das 5fach verdünnte Destillat gibt die Reaktion noch ziemlich intensiv, jedoch nur wenn man die Quantität des Eisenchlorids auf einen Tropfen beschränkt, die Bemessung des Eisenchloridzusatzes ist somit von maßgebender Bedeutung für das Gelingen der Reaktion. Hierin liegt zweifellos eine gewisse Unsicherheit der Reaktion, indessen ist diese durch Tastversuche leicht zu

beseitigen. Die Lewinsche Reaktion ist bei dieser Verdünnung nicht mehr ganz sicher, immerhin tritt bei nachträglichem Zusatz von Eisessig eine allerdings schnell verschwindende Grünfärbung ein. Nimmt man an, daß der Allylkohol vollständig oxydiert wird, und zwar ausschließlich zu Akrolein und daß dieses restlos in den 50 ccm Destillat enthalten ist, so entsprechen die 50 ccm Destillat 0,01 Allylkohol, bei 5facher Verdünnung 0,002. Der Nachweis des Allylkohols läßt sich noch dadurch verfeinern, daß man nur 10 ccm abdestilliert. Als zu 100 ccm Wasser 1 ccm einer Lösung von 0,001% hinzugesetzt und unter gleichen Bedingungen nun 10 ccm abdestilliert wurden, gaben 5 ccm des Destillates unter Anwendung von 1 Tropfen Eisenchloridlösung (aus einer etwas schräggehaltenen Pipette oder einem Tropfglas) noch eine deutliche grüne Färbung, mit 4—5 Tropfen war eine solche nicht zu bemerken. Vor der Lewinschen Reaktion hat die beschriebene mit Pepton, Salzsäure auf Akrolein den Vorzug, daß sie mit Acetaldehyd nicht eintritt und von der Formaldehyd-Reaktion durch die Art der Färbung gänzlich verschieden ist. Jedenfalls sieht man, daß auch die geringsten Quantitäten Allylkohol sich durch Oxydation zu Akrolein nachweisen lassen. Dieses Ergebnis steht nun in einem auffallenden Widerspruch mit den Angaben in der Literatur, die ich glücklicherweise nicht gekannt habe.

Bezüglich der Oxydation mit Salpetersäure heißt es im Beilstein, 3. Aufl., S. 250: „... mit verdünnter Salpetersäure entsteht Ameisensäure und Oxalsäure (Kekulé, Rinne, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 6, 387)“, von Akrolein ist nicht die Rede. Von der Oxydation mit Chromsäure heißt es: „Chromsäurelösung oxydiert zu Akrolein und Ameisensäure (Rinne, Tolle as Annalen d. Chemie 159, 110)“. Die Bildung von Akrolein ist aber nicht einmal unbestritten. Wagner¹⁾ sagt in einer Arbeit hierüber: „Der Allylkohol wurde in dieser Richtung (nämlich bezüglich der Oxydation) von mehreren Forschern untersucht und die Angaben fast aller stimmen darin überein, daß bei der Oxydation mit Chromsäuregemisch als einzig faßbares Produkt Ameisensäure entsteht, im Anfang der Reaktion jedoch noch der Geruch nach Akrolein wahrgenommen wird, welches aber auf keine andere Weise konstatiert wurde.“

¹⁾ Ber. d. Dtsch. Chem. Gesellsch. 21, 3351.

Was die Oxydation mit Chromsäure betrifft, so haben die Autoren nicht mit so verdünnten Lösungen gearbeitet, hierin könnte die Erklärung des Widerspruches liegen. Bezüglich der Oxydation mit Salpetersäure war die ja allerdings wohl sehr entfernte Möglichkeit vorhanden, daß die beobachtete Silberreduktion gar nicht von Akrolein, sondern von Ameisensäure abhängt. Zur Prüfung dieser Möglichkeit — die eigentlich ausgeschlossen erscheint, da Ameisensäure nach den vorliegenden Angaben in alkalischer Lösung nicht reduziert — wurden kleine Quantitäten von Ameisensäure mit Natronlauge übersättigt und mit dem gleichen Volumen der ammoniakalisch-alkalischen Silberlösung versetzt. Auch bei längerer Beobachtung trat keine Schwärzung ein; nach 24 Stunden zeigte die Flüssigkeit eine kaum wahrnehmbare gelbbraunliche Färbung, beim Erhitzen verhielt sie sich ebenso wie mit dem gleichen Volumen Wasser versetzte Silberlösung.

Es fragte sich nun, ob in dem Blutpulver¹⁾, das aus mit Allylkohol konserviertem Blut von mir dargestellt war, Allylkohol nachzuweisen ist. Die Untersuchung ergab die völlige Abwesenheit von Allylkohol.

Die Untersuchung stieß anfangs auf Schwierigkeiten in der Ausführung. Das zuerst angewendete Verfahren des Auskoagulierens der verdünnten Lösung des Blutpulvers und Untersuchung des Filtrats erwies sich als unbrauchbar; denn als zu der Lösung von 5 g Blutpulver (Krause) 0,1 ccm Allylkohol hinzugesetzt wurde, war in dem Filtrat Allylkohol nicht sicher nachweisbar. Bei der direkten Destillation von 5 g unter Zusatz von Allylkohol war zwar Allylkohol im Destillat nachweisbar, die Destillation war aber wegen des starken Schäumens kaum ausführbar²⁾ und meistens gingen die Destillierkolben durch Auskoagulieren von Eiweiß an einer Stelle und Überhitzung an dieser entzwei. Schließlich wurde folgendes Verfahren eingeschlagen. 5 g des Blutpulvers — aus mit Allylkohol konserviertem Blut erhalten — wurden in 100–150 ccm lauwarmem Wasser gelöst, dazu 1 bzw. 1,5 ccm Salzsäure von 1,26 D und 1 bzw. 1,5 g Pepsin hinzugesetzt, das vorher mit einem Teil der Lösung behufs guter Verteilung in der Reibschale angerieben war. Die so hergestellte Mischung kam in Glasstöpselgläsern in den Thermostaten. Am nächsten Tage läßt sich die Mischung — betrug das Volumen nicht schon 150 ccm,

¹⁾ Bezüglich der Herstellung des Blutpulvers verweise ich auf meine Arbeit über die antiseptische Wirkung von Chlorderivaten des Methans, Äthans usw. Diese Ztschr. 107, 191. 1920.

²⁾ Die Destillation im Dampfstrom konnte nicht angewendet werden, weil dadurch etwa vorhandener Allylkohol zu sehr verdünnt worden wäre.

so wurden noch 50 ccm Wasser hinzugefügt — auf dem Sandbad gut destillieren: sie schäumte zwar noch etwas, doch läßt sich das Schäumen durch Siedestäbchen und Kleinhalten der Flamme in Schranken halten. Es wurden regelmäßig 100 ccm abdestilliert. Eine kleine Probe wurde zur Oxydation mit Salpetersäure versetzt usw., später wurde diese Probe ganz weggelassen. 100 ccm des Destillates wurden mit 10 ccm 5 proz. Dikaliumchromatlösung und 10 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und zuerst 10, dann 25 ccm abdestilliert. Die Lewinsche Reaktion und die Silberprobe fielen negativ aus.

Zu Kontrollversuchen wurde ohne Anwendung von Allylalkohol hergestelltes Krausesches Blutmehl benutzt.

1. 5 g Blutmehl gelöst in 150 ccm Wasser, dazu 0,5 ccm Allylalkohol (5 ccm einer frisch hergestellten 1 proz. Lösung), 1,5 ccm Salzsäure, 1 g Pepsin, etwa 24 Stunden verdaut, 100 ccm abdestilliert, dann mit K_2CrO_4 und H_2SO_4 oxydiert, usw.

a) 10 ccm abdestilliert: Enorme Reaktion nach Lewin.

b) 25 ccm abdestilliert: Gleichfalls sehr starke Reaktion.

2. Wiederholung unter Zusatz von 1 ccm der 1 proz. Allylalkohol-lösung = 0,01 ccm Allylalkohol.

a) 10 ccm. Starke Reaktion nach Lewin, ebenso mit Pepton, Salzsäure und Eisenchlorid.

b) 25 ccm. Lewinsche Reaktion deutlich nach Zusatz von Eisessig, ebenso die zweite Reaktion.

3. Wiederholung unter Zusatz von 0,5 ccm der 1 proz. Lösung (oder richtiger 0,87 proz., die Verdünnung war ja dem Volumen nach hergestellt). In den ersten 10 ccm war die Lewinsche Reaktion und die Silberprobe deutlich, in den folgenden 25 ccm Lewinsche Reaktion angedeutet, die Reaktion mit Pepton usw. deutlich.

Die Kontrollversuche haben demnach die Nachweisbarkeit auch der geringsten Mengen von Allylalkohol ergeben und bestätigen, daß in dem Blutpulver das ich aus mit Allylalkohol konserviertem Blut dargestellt hatte, kein Allylalkohol nachzuweisen war.

Es war nun augenscheinlich von Interesse, festzustellen, ob dies auch für das Krausesche Verfahren gilt. Dank dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Firma G. A. Krause in München, für das ich auch an dieser Stelle verbindlichst danke, war ich in der Lage, diese Frage zu untersuchen.

Das Blutmehl sah genau so aus wie das aus frischem Blut hergestellte, verhielt sich gegen Wasser ebenso, zeigte keinen Geruch. Bei der Untersuchung von 5 g des Pulvers genau auf dem angegebenen Wege stellte sich heraus, daß in dieser Quantität Spuren von Allylalkohol nachweisbar waren.

Diese sind indessen als bedeutungslos anzusehen. Nach den oben angeführten Kontrollversuchen sind 0,5 ccm der 1proz. Lösung = 0,005 Allylkohol in 5 g Blutmehl mit Sicherheit nachweisbar. Nimmt man, hochgerechnet, an, daß eine solche Quantität in 5 g des Krauseschen zu Versuchszwecken für mich hergestellten Präparates vorhanden waren, so würde dieses für 20 g auf einmal genossenes Blutmehl 0,02 Allylkohol bedeuten, bzw. richtiger 0,0175 g. Dabei kommt noch in Betracht, daß das Pulver ja nicht roh, sondern in üblicher Weise gekocht genossen werden soll. Es ist anzunehmen, daß der größte Teil dieses Gehaltes beim Kochen entweicht; daß diese Annahme begründet ist, dafür sprechen die oben angegebenen Versuche, die anfangs zum Nachweis des Allylkohols gemacht wurden. Es hatte sich, um es zu wiederholen, gezeigt, daß selbst 0,1 ccm Allylkohol in 5 g Blutpulver nicht nachzuweisen ist, wenn man die Lösung auskoagulierte und den Allylkohol im Filtrat nachzuweisen sucht. Um Bedenken nach dieser Richtung hin auch durch Versuche zu beseitigen, habe ich wiederholt aus 10–20 g Blutpulver, das aus mit Allylkohol konservierten Blut von Krause hergestellt war, in der üblichen Weise Suppe („Schwarzsaure“) zubereitet und gegessen, ohne das mindeste Unbehagen oder irgendwelche Symptome zu bemerken. Auch a priori ist es äußerst unwahrscheinlich, daß so kleine Mengen Allylkohol irgendwie gesundheitsschädlich wirken könnten. Werden doch Schwefelverbindungen des Allyls, wie das Allylsenföl und andere vielfach in der Nahrung genossen! Außerdem wirken die Schwefelverbindungen der Fettkörper allgemein in weit höherem Grade toxisch, als die Sauerstoffverbindungen. So ist der Äthylalkohol¹⁾ doch relativ harmlos gegenüber dem Mercaptan.

Damit könnte ich meinen Bericht über die Anwendbarkeit des Allylkohols zur Konservierung von Blut schließen, wenn die Verfolgung der Angelegenheit zum Zweck der Erlangung eines Patents nicht zu Erörterungen und Schlüssen geführt hätte, die mir von allgemeinerem Interesse zu sein scheinen.

Bei dem Suchen nach einem geeigneten Konservierungsmittel stieß ich auf die in Flüggés „Mikroorganismen“, 2. Auf. S. 530 (1886) abgedruckte Tabelle, in welcher die Einwirkung einer Reihe von Substanzen auf das Auswachsen von an Seiden-

¹⁾ Methylalkohol nimmt eine Ausnahmestellung ein.

fäden angetrockneten Milzbrandsporen zu Fäden nach den Versuchen von R. Koch angegeben ist. Nach dieser Tabelle behindert Senföl in einer Konzentration von 1:333 000 das Auswachsen merklich, in einer Konzentration von 1:33 000 hebt es dasselbe völlig auf. Daß dieser Satz nicht verallgemeinert werden darf, hatten mich schon vor Anwendung des Allylkohols Versuche mit Senföl gelehrt¹⁾. Ein Liter Rinderblut wurde mit einigen — etwa 4—5 — Tropfen Senföl²⁾ eine halbe Stunde lang auf der Schüttelmaschine in einer verschlossenen Flasche durchgeschüttelt: schon nach wenigen Tagen war das Blut stark faulig. Der Zusatz ist auf etwa 1:10 000 zu schätzen²⁾. Vom Allylkohol wird in der Tabelle gesagt, daß er in einer Konzentration von 1:167 000 das Wachstum der Milzbrandbacillen merklich behindert. Obwohl ich nach meinen am Senföl gemachten Erfahrungen große Zweifel hegte, daß diese Behinderung auch auf Blut und Fleisch Bezug haben würde, machte ich doch einen dahingehenden Versuch. Es zeigte sich, daß eine Allylkohollösung, leicht alkalisiert, in einer Konzentration von 1:500 (!) auf in ihr aufbewahrtes gehacktes Fleisch nicht den mindesten Einfluß ausübt: es fault in ihr ganz ebenso oder fast ganz ebenso, wie in Wasser allein. Immerhin war es doch denkbar, daß eine etwas höhere Konzentration bei der Anwendung auf Blut für kurze Zeit brauchbar sein würde. Wie oben angegeben ist, ergab es sich in der Tat, daß 0,5 bis 0,6% Allylkohol die Fäulnis desselben für 5 bis 6 Tage, ein Plus auf längere Zeit verhinderte, also für den vorliegenden Zweck brauchbar ist. Trotz dieser Sachlage wurde von einer einsprechenden Fabrik, anfangs auch vom Patentamte selbst entgegengehalten, daß nach den Angaben von Koch die konservierende Wirkung des Allylkohols schon bekannt sei. Wie lautet nun die Angabe von Koch? In den „Arbeiten des Reichsgesundheitsamtes“, Bd. I, S. 270 (1881) sagt Koch, nachdem er die Versuche mit Milzbrand beschrieben hat, wörtlich folgendes:

„Weiter wurden die Versuche vorläufig nicht fortgesetzt, Man wird auch die Zahlen für die Entwicklungshinderung und Aufhebung bei vollständigem Ausschluß der Verdunstung vermissen. Dieselben mußten, weil die Untersuchung immer prak-

¹⁾ Diese Zeitschr. 71, 371. 1916.

²⁾ 1 g Senföl = 44 Tropfen, also 4 Tropfen rund 0,1 g auf 1000 Blut.

tische Gesichtspunkte im Auge hatte, ein geringes Interesse beanspruchen; bei der praktischen Verwendung würde wohl nur in Ausnahmefällen (vielleicht Konservierung von Nahrungsmitteln in geschlossenen Gefäßen) der Verlust durch Verdunstung¹⁾ zu vermeiden sein. Übrigens ist nicht zu zweifeln, daß unter dieser letzteren Bedingung der Grenzwert für die Aufhebung des Bakterienwachstums bei einer noch viel größeren Verdünnung des Allylkohols gesucht werden muß.“

Wie hieraus hervorgeht, hat Koch also nur vermutet, daß eine noch schwächere Konzentration als 1:167 000 zur Konservierung von Nahrungsmitteln geeignet sein würde. Nun! auch ein Meister kann einmal irren, seine Vermutung war irrig! Hätte Koch statt zu „vermuten“ nur den einfachsten Versuch mit einem geeigneten fäulnisfähigen Material, wie gehacktes Fleisch, am besten in mit Na_2CO_3 alkalisiertem Wasser, auf welches ich immer wieder als besonders geeignet hinweisen muß, hätte er einen solchen Versuch gemacht, so würde man damals schon zu der Erkenntnis gekommen sein, die noch immer nicht allgemein durchgedrungen zu sein scheint, daß die Wirkung antiseptischer Mittel eine spezifische ist, abhängig von den angewendeten Bakterien (und dem betreffenden Medium), daß jede Verallgemeinerung ausgeschlossen werden muß (abgesehen natürlich von solchen Chemikalien, welche die organische Substanz vollständig zerstören) oder doch zum mindesten, daß der Schluß, daß Substanzen, die sich pathogenen Mikroorganismen gegenüber als wirksam erwiesen haben, auch zur Fernhaltung von Fäulnis bzw. Konservierung überhaupt geeignet sein müssen, durchaus falsch ist. Bei der Wichtigkeit des Gegenstandes möchte ich zum Beleg noch einige Literaturquellen anführen.

1. Das Eucupin (Isoamyhydrocuprein) tötet nach Morgenroth und Tugendreich²⁾ Streptokokken in einer Konzentration von 1:20 000 bis 40 000, Diphtheriebacillen dagegen nach Schaeffer³⁾ erst bei 1:2000.

2. Bieling⁴⁾ sagt zusammenfassend: „Diese Versuche beweisen, daß die Wirkung des Eucupins (Isoamyhydrocupreins) und des Isooctylhydrocupreins auf Diphtherie-, Gasbrand-, Milzbrand- und Tetanusbacillen

¹⁾ Von einem Abdunsten des Allylkohols aus der verdünnten Lösung kann bei seinem hohen Siedepunkt (97!) wohl nicht die Rede sein. E. S.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1916, Nr. 29, S. 794.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1916, Nr. 38, S. 104.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 85, 209. 1918.

als eine spezifische Desinfektionswirkung anzusehen ist und nicht auf einer allgemeinen unspezifischen Giftwirkung auf lebende Organismen beruht.“ Diese Ansicht kann ich durch eigene Versuche mit Eucupin bestätigen: eine fäulniswidrige Wirkung kommt demselben, wenigstens nach Versuchen mit Fleisch, nicht zu.

3. Die Wirkung des Antimonkaliumtartrat und anderer organischer Antimonverbindungen beschränkt sich nach Kolle¹⁾ und seinen Mitarbeitern auf Trypanosomen.

4. Chinin tötet die Malaria Parasiten schon in der außerordentlichen Verdünnung, in der es im Blut kreist, während es das Wachstum von Milzbrandbacillen erst in einer Konzentration von 1 : 625 hemmt, ja nach Tappeiner²⁾ ein guter Nährboden für Schimmelpilze ist und nach meinen eigenen Versuchen die Fäulnis von Fleisch nicht verhindert, wenn auch etwas hinauschiebt.

Sicher würde man in der Literatur bei weiterem Nachforschen noch zahlreiche Belege für die Unzulässigkeit der Übertragung der Beobachtung an bestimmten, namentlich pathogenen Mikroorganismen auf andere finden, die angeführten Beispiele dürften indessen genügen.

Ob eine nicht giftige Substanz (bzw. auch eine nicht gungiftige, wenn sie durch die nachfolgende Behandlung entfernt wird) zur Konservierung von Nahrungsmitteln geeignet ist oder nicht, kann auf keinem anderen Wege, als durch direkte Versuche mit dem betreffenden Nahrungsmittel festgestellt werden. Es läßt sich unmöglich verkennen, daß das durch spontane Aussaat in die Nahrungsmittel hineingelangende bzw. in ihnen befindliche Gemisch von Bakterien oder Keimen weit widerstandsfähiger ist, als isolierte Mikroorganismen, augenscheinlich wird die Resistenz durch die Symbiose nicht herabgesetzt, sondern gesteigert.

In einem gewissen Sinne ist die Konservierung der Desinfektion geradezu entgegengesetzt. Bei der Beurteilung der Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels läßt man sich bekanntlich außer der Konzentration des Mittels auch von der Zeit leiten, und zwar in dem Sinne, daß *ceteris paribus* dasjenige Desinfektionsmittel für besser gehalten wird, das nur kurze Zeit mit der zu desinfizierenden Flüssigkeit in Berührung zu bleiben braucht, um sie zu sterilisieren: je kürzer die Zeit, desto besser ist das Mittel. Bei der Konservierung ist es gewissermaßen umge-

¹⁾ Malys Jahresber. d. Tierchemie **43**, 1537. 1913.

²⁾ Lehrbuch der Arzneimittellehre. 10. Aufl. 1913, S. 137.

kehrt: je länger sich bei Abimpfungen die konservierte Flüssigkeit oder das konservierte Gemisch als keimfrei oder schwach keimhaltig erweist, desto besser ist das Mittel. Die Tatsache, daß manche Konservierungsmittel sich nur auf einige Tage, andere auf Wochen und Monate, ja vielleicht für immer wirksam erweisen, kann wohl nur so erklärt werden, daß durch die spontane Aussaat entwicklungsfähige Keime von äußerst verschiedener Resistenz in das zu konservierende Medium gelangen; solche, welche in nicht zu langer Zeit abgetötet werden und solche, welche einer sehr langen Zeit der Einwirkung des konservierenden Mittels¹⁾ bedürfen.

Der auf Grund der Vermutung von Koch erhobene Einwand, daß meine Beobachtung nicht neu sei, konnte also widerlegt werden, da sich die Vermutung von Koch als irrig erwiesen hatte. Ein besser begründeter Einwand findet sich aber, wie sich später herausstellte, in einer Arbeit von H. Stadler²⁾, die ich leider übersehen habe. Stadler hat gefunden, daß in Lösungen, die 0,2—0,3% Allylalkohol enthalten, eine Entwicklung von *Bacterium coli* nicht eintritt. Da *B. coli* zu den Eiweiß unter Bildung von Indol und Phenol zersetzenden Bakterien gehört, so konnte sich hierauf ein Einwand gegen die Anwendung von Allylalkohol zur Konservierung von Blut als neues Verfahren wohl stützen, wenn ich auch nach den obigen Ausführungen über Konservierung denselben nicht als entscheidend ansehen kann.

Zur Entschuldigung des Übersehens der Arbeit von Stadler kann ich folgendes anführen: Ich habe den ganzen Malyschen Jahresbericht — soweit Generalregister existieren nur diese — auf das Stichwort „Allylalkohol“ durchgesehen, aber außer der erwähnten Mitteilung von Miessner über die gesundheitsschädlichen Wirkungen von Allylalkohol das Wort überhaupt nicht gefunden. Ja, selbst in dem Referat über die Arbeit von Stadler³⁾ kommt das Wort Allylalkohol nicht vor, obwohl sie u. a. auch von diesem handelt. Ich glaube kaum, daß ich in dieser Sache mehr hätte tun können, als den Malyschen Jahresbericht durchsehen, der ja auch die Antisepsis eingehend berücksichtigt.

¹⁾ Selbstverständlich schließt die Konservierung die Autolyse nicht aus, es sei denn, daß die Konservierung durch Formaldehyd von etwa $\frac{3}{4}\%$ bewirkt ist, beim Blut ist aber die Autolyse nach meinen Erfahrungen fast Null.

²⁾ Arch. f. Hyg. 73, 207. 1911.

³⁾ Malys Jahresber. f. d. Tierchemie für 1911. 41, 764.

**Über die Bestimmung zell- und keimschädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege.
(1. Mitteilung: Optochin.)**

Von

Alfred Schnabel.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel.)

(Eingegangen am 31. Mai 1920.)

Wenn wir Substanzmengen ermitteln wollen, deren Bestimmung die Leistungsfähigkeit der gewöhnlichen gewichts- oder maßanalytischen Verfahren übersteigt, so greifen wir zu Methoden, die uns zwar keine absoluten, sondern nur Annäherungswerte anzeigen, uns aber über Quantitäten Aufschluß geben, die um ein Vielfaches kleiner sein dürfen als jene, die auf gravimetrischem Wege gefunden werden können.

Zu den empfindlichsten, wenn auch ungenauesten Methoden gehören die biologischen. Hier machen wir uns die Eigenschaft lebender Zellen höherer und niederer Organismen zunutze, auf kleinste Substanzmengen auf diese oder jene Art zu reagieren. Als Indicator dienen uns die Lebensäußerungen der Zellen. So können wir z. B. die Konzentration einer Chininlösung bestimmen, indem wir jene Grenzverdünnung feststellen, die die Kaninchen-cornea nach einer bestimmten Zeit gerade noch anästhetisch zu machen vermag. Es ist klar, daß bei der schwankenden Reaktionsfähigkeit der Orgazellen die erhaltenen Resultate sich innerhalb relativ großer Fehlergrenzen bewegen können.

Man kann auch tierische Zellen, die außerhalb des Organismus in zusagenden Medien lebend erhalten werden, zu derartigen Versuchen heranziehen. In letzterem Falle ist aber die Versuchsdauer wegen der rasch abnehmenden Lebensfähigkeit der Zellen eine beschränkte.

Viel besser eignen sich für solche Zwecke lebende Bakterien. Keimschädigende Mittel physikalischer oder chemischer Natur wirken je nach der Art ihrer Anwendung entwicklungshemmend oder abtötend auf die Bakterien. Doch sind damit die schädlichen Einwirkungen nicht erschöpft. Es sind auch andere Beeinflussungsarten bekannt, die, ohne die Vermehrung der Keime zu beeinträchtigen, eine Schädigung oder gar den Verlust dieser oder jener Lebensfunktion bedingen. So kann durch Änderung des Nährsubstrates, durch Behinderung der Sauerstoffzufuhr, durch höhere oder tiefere Temperaturen ein Aufhören der zymogenen Fähigkeit, der Farbstoffproduktion, der Sporenbildung usw. eintreten. Auch die Pathogenität kann auf diese Weise beeinflusst oder aufgehoben werden, ohne Änderung des übrigen Wachstums, der Vermehrung oder anderer Lebensäußerungen.

Die Leichtigkeit, mit der das Bakteriensubstrat hergestellt werden kann, die bequeme Dosierungsmöglichkeit, die relativ größere Lebensfähigkeit und die leicht festzustellende Grenze zwischen Leben und Tod brachten es mit sich, daß man die Bakterien in den Dienst biologischer Messungen stellte. Besonders waren es die mittels bestimmter Affinitäten wirkenden Mittel, die auf diese Weise in stärkeren Verdünnungen noch bestimmt werden konnten. Versuche, chemotherapeutisch wirksame Mittel qualitativ auf biologischem Wege festzustellen, wurden von Gonder, Castelli, Swift und Ellis an Spirochäten, von Roos an Milzbrandbacillen, von Wright an Pneumokokken unternommen. Boecker konnte relativ dünne Lösungen von Salvarsan, Morgenroth solche von Optochin quantitativ annähernd bestimmen, und zwar betrug die schwächste bestimmbare Konzentration für das Salvarsan 1:150 000 (\pm), für das Optochin 1:300 000.

Die von uns hier mitgeteilten Versuche nahmen ihren Ursprung in der Erwägung, daß es möglich sein könnte, schwächere Konzentrationen zell- bzw. bakterienschädigender Substanzen zu bestimmen, wenn man nicht den Eintritt des Zelltodes, sondern die Beeinträchtigung verschiedener Lebensfunktionen als Indicator nehmen würde. Als besonders geeignet hierzu schien uns die Fähigkeit lebender Zellen und Bakterien, auf gewisse Farbstoffe reduzierend einzuwirken. Die dabei eintretende Entfärbung — der Ausdruck einer in einem viel kürzeren Zeitraum

sich abspielenden Lebenserscheinung als die Vermehrung — oder ihr Ausbleiben unter dem Einfluß schädigender Substanzen, würden einen leicht zu handhabenden und daher bequemen Indicator abgeben.

Die Fähigkeit vieler lebender Bakterien und Organzellen, gewisse Farbstoffe wie Methylenblau, Lackmus, indigenschwefelsaures Natron, Neutralrot usw. zu reduzieren und sie in eine farblose Verbindung überzuführen, ist schon längst bekannt. Diese leicht reduzierbaren Farbstoffe sind an sich Oxydationsstufen, während ihre Reduktionsstufen, Küpen genannt, farblos erscheinen und die Eigenschaft haben, unter dem Einfluß oxydierender Mittel und auch schon durch Berührung mit dem Luft-sauerstoff die ursprüngliche Farbe anzunehmen. Letzteren Vorgang nennt man Verküpfung.

P. Ehrlich stellte dieses Reduktionsvermögen des tierischen und pflanzlichen Protoplasmas als fundamentale Eigenschaft desselben fest und führte es auf das Sauerstoffbedürfnis der lebenden Zelle zurück. Er brachte Farbstoffe in den lebenden Organismus ein und beobachtete die Veränderungen, die sie im Körper erfuhren. Die ersten Versuche über Reduktion von Farbstoffen durch Bakterien stammen von Cahen, Spina, Roszahgyi. Sie ergaben, daß die Entfärbung an das Leben der Bakterien gebunden ist. Erhitzte oder sonstwie abgetötete Keime büßen die Fähigkeit ein. Daß es sich tatsächlich um einen Reduktionsvorgang handle, konnte man auf einfache Weise zeigen: beim Schütteln, also bei inniger Berührung mit der Luft oder bei Zufuhr von Sauerstoff erlangten entfärbte Bakterienfarbstoffgemische ihre ursprüngliche Farbe wieder.

Bei Reduktionsversuchen darf nicht übersehen werden, daß auch manchen Nährmedien schon in sterilem Zustande das Reduktionsvermögen in beschränktem Maße zukommt. Dies konnte Spina für Gelatine zeigen, die in sterilem Zustande bei Zusatz von Methylenblau oder Indigblau sich (sehr langsam) entfärbte. Auch Smith sah diese Erscheinung bei der gefärbten Bouillon. Jedoch kommt diesen Befunden praktisch keine besondere Bedeutung zu, da sich die Entfärbung steriler, gefärbter Nährmedien in Tagen und Wochen vollzieht, während sich das Phänomen in Gegenwart lebender Zellen oder Bakterien in Minuten oder Stunden beobachten läßt.

Schon vor etwa 20 Jahren haben Neisser und Wechsberg das Reduktionsvermögen lebender Zellen zur quantitativen Bestimmung herangezogen. Diese Autoren fanden, daß Leukocyten, die die Fähigkeit haben, Methylenblau zu einer farblosen Base zu reduzieren, diese Eigenschaft unter dem Einfluß verschiedener sie schädigender Substanzen, wie Alkohol, leukocide Sera usw., einbüßten. Sie nannten das Verfahren Bioskopie und benützten es zum Nachweis des aus Staphylokokkenkulturen gewonnenen Leukocidins. Die kleinste Menge, die sie auf diese Weise bestimmen konnten, betrug 0,025 ccm Kulturfiltrat.

Die von uns gestellte Frage lautete: Ist es möglich, bakterien- und zellschädigende Substanzen in dünnen Lösungen durch das bioskopisch-biologische Verfahren verhältnismäßig genau nachzuweisen? Vor Beantwortung dieser Frage waren wir uns von vorneherein darüber im klaren, daß auf die Feststellung absoluter Werte bei derartigen quantitativen Bestimmungen kein Anspruch erhoben werden darf. Die Erwägung, daß die Behinderung der Reduktion durch keim- und zellschädigende Substanzen der Ausdruck einer Protoplasmaschädigung sei, ließ ja erwarten, daß zwischen den Wirkungseffekten einzelner, voneinander nur wenig verschiedener Konzentrationen, nur allmähliche Übergänge bestehen können, von vollkommener, vielleicht nur zeitweiliger Behinderung der Reduktion bis zum völligen Intaktbleiben der Zellen und somit auch des Entfärbungsphänomens, so daß nur größere Konzentrationsdifferenzen deutliche Aufschläge geben würden.

Nicht ohne Absicht wählten wir zu den ersten Versuchen Pneumokokken als entfärbendes Agens und das Optochin als einwirkende Substanz. Die praktische Bedeutung, welche die Möglichkeit der Feststellung dieses Alkaloids in stark verdünnten Lösungen besitzt, die in der Literatur bereits mitgeteilten Ergebnisse anderer Ermittlungsverfahren und hierdurch die Möglichkeit des Vergleiches der Resultate, ferner die bekannte Spezifität des Optochins waren dabei richtunggebend.

In Vorversuchen suchten wir uns zuerst über die Reduktionsfähigkeit der Pneumokokken zu orientieren. Als Farbstoff nahmen wir zu den Versuchen das Methylenblau, und zwar wegen seiner leichten Reduzierbarkeit und ebenso leichten Verküppbarkeit (Reoxydation), was wir schon in Versuchen mit anderen

Bakterien konstatiert hatten. Den Pneumokokkenstamm haben wir durch Überimpfen eines geeigneten Sputums auf eine Maus und Übertragung ihres Herzblutes auf Blutagar gewonnen. 24stündige Kulturen auf diesem Nährboden wurden mit steriler 0,85 proz. Kochsalzlösung abgeschwemmt und so verwendet. Wir kamen jedoch bald vom Blutagar wegen seiner großen Empfindlichkeit gegen Verunreinigung durch Luftkeime ab. Es bedarf ja keiner näheren Erklärung, daß fremde Keime den Versuch stören können, da sie dessen Spezifität und Empfindlichkeit beeinträchtigen würden. Aus diesem Grunde wandten wir Nährbouillon an, welche mit ca. fünf Tropfen defibrinierten Menschen- oder anderen Blutes versetzt und vorher auf ihre Sterilität geprüft wurde. Daß wir auf andere feste Nährböden wie Glycerin- oder Traubenzuckeragar nicht reflektierten, rührt daher, weil auf diesen Nährböden das Wachstum nicht genug tüppig ist; auch bietet der flüssige Nährboden den Vorteil der gleichmäßigen Verteilung der Pneumokokken, gegenüber der sich oft umständlich gestaltenden Abschwemmung von festen Nährböden.

Die traubenzuckerhaltige Bouillon erwies sich als ungeeignet, da in ihr gewachsene Pneumokokken nicht imstande sind, Methylenblau zu reduzieren. Diese Erfahrung erschien uns um so merkwürdiger, als ja, wie wir weiter unten sehen werden, Traubenzucker, zu 24stündigen Kulturen zugesetzt, die Entfärbung in hohem Maße begünstigt und verstärkt. Anscheinend bilden sich bei Gegenwart von Traubenzucker oder aus ihm Stoffwechselprodukte, die eine Reduktion von Methylenblau unmöglich machen.

Die 24stündige Pneumokokkenkultur wurde vom Blute, das in den Röhren einen Bodensatz bildete, abpipettiert und nun zum Versuch verwendet. Fallende Mengen von Bouillonkultur wurden in Röhren von ca. 8—10 mm Durchmesser gebracht, die Kulturmenge mit steriler 0,85 proz. Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt; ein Tropfen einer nach dem beigegebenen Rezept ¹⁾ von Neisser und Wechsberg hergestellten Methylen-

¹⁾ Methylenblaulösung nach Neisser-Wechsberg: Methylenblau 1 g, Alkohol absolut 20 g, Aq. dest. 20 g. Von dieser Stammlösung wurde 1 ccm zu 49 ccm 0,85 proz. NaCl-Lösung zugesetzt und so die Gebrauchslösung erhalten. Während die Stammlösung monatelang haltbar ist, muß die Gebrauchslösung wegen bakterieller Zersetzungen und Ausfallens des Methylenblaus jedesmal frisch zubereitet werden.

blaulösung zugesetzt, das Gemisch mit flüssigem Paraffin zwecks Verhinderung des Luftzutrittes und der Reoxydation überschichtet und in die Brutkammer (37° C) gestellt. Nach verschiedenen Zeiten wurde der Entfärbungsvorgang beobachtet und notiert. Eine Tabelle (Tabelle I) möge dies näher erläutern.

Tabelle I.

1.	Röhrchen:	1,0 ccm	Bouillonkultur	+ 0	ccm	0,85%	NaCl-Lösung
2.	„	0,9	„	„	+ 0,1	„	0,85% „
3.	„	0,8	„	„	+ 0,2	„	0,85% „
4.	„	0,7	„	„	+ 0,3	„	0,85% „
5.	„	0,6	„	„	+ 0,4	„	0,85% „
6.	„	0,5	„	„	+ 0,5	„	0,85% „
7.	„	0,4	„	„	+ 0,6	„	0,85% „
8.	„	0,3	„	„	+ 0,7	„	0,85% „
9.	„	0,2	„	„	+ 0,8	„	0,85% „
10.	„	0,1	„	„	+ 0,9	„	0,85% „

Zu jedem Röhrchen wurden je ein Tropfen Methylenblaulösung und eine gleiche Paraffinschicht zugesetzt.

Nach einer halben Stunde bei 37° C zeigten die vorher blau gefärbten Kulturlösungen folgendes Verhalten: 1. Röhrchen entfärbt, die übrigen unverändert.

Nach $\frac{3}{4}$ Stunden: 1. Röhrchen entfärbt, sonst unverändert.

Nach 1 Stunde: 1. bis 2. Röhrchen entfärbt, sonst unverändert.

Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden: 1. bis 5. Röhrchen entfärbt; 6. fast vollständig entfärbt.

Nach 2 Stunden: 1. bis 7. Röhrchen entfärbt.¹⁾

Aus Tabelle I ist zu ersehen, daß die Entfärbung eine Funktion der in verschiedenen Bouillonmengen enthaltenen Keimzahl und der Zeit ist, und zwar erfolgt sie um so rascher, je mehr Keime

¹⁾ Die von uns zur Angabe einzelner Entfärbungsstadien gebrauchte Nomenklatur umfaßt folgende Bezeichnungen: Als entfärbt bezeichnen wir das vollständige Verschwinden des blauen Tones in den Röhrchen oder seine Reduktion auf eine schmale Zone in dem an die Paraffinschicht angrenzenden Flüssigkeitsanteil; als schwach entfärbt, wenn die Entfärbung am Boden des Röhrchens begonnen hat oder wenn der blaue Ton eine geringe diffuse Aufhellung zeigt. Ist die nicht entfärbte Zone etwas breiter als bei vollständiger Entfärbung, so sprechen wir von fast vollständiger Entfärbung. Hat die Entfärbung nur die halbe Flüssigkeitsmenge betroffen, so nennen wir sie mäßig. Die Reduktion des Farbstoffes erfolgt in der Regel von unten nach oben. Die Ablesung erfolgte in der Brutkammer, zur Vermeidung der infolge geänderter Temperaturverhältnisse sich zeigenden Störungen.

im Gesamtreaktionsvolumen enthalten sind, ferner erstreckt sie sich auf um so kleinere Keimmengen, je länger wir die Röhren bei 37° C belassen. Die kleinste Keimmenge, die nach einer bestimmten, willkürlich gewählten Zeit, Entfärbung herbeiführt, nennen wir (wie Neisser und Wechsberg) Dosis minima reducens.

Nun gingen wir daran, den Versuch zu variieren und den Einfluß einzelner Änderungen in der Versuchsanordnung zu studieren, also den Einfluß der Ergänzungsflüssigkeit, der Farbstoffmenge, der Breite der Reagensgläser, der Höhe der Paraffinschicht, der Temperatur und evtl. Zusätze wie Serum usw. Zuerst wurde anstatt der sog. physiologischen Kochsalzlösung sterile Nährbouillon als Ergänzungsflüssigkeit genommen. Tabelle II zeigt einen derartigen Versuch.

Tabelle II.

1. Röhren:	1 ccm Bouillonkultur	+ 0 ccm sterile Nährbouillon
2. "	0,9 "	+ 0,1 " "
3. "	0,8 "	+ 0,2 " "
4. "	0,7 "	+ 0,3 " "
5. "	0,6 "	+ 0,4 " "
6. "	0,5 "	+ 0,5 " "
7. "	0,4 "	+ 0,6 " "
8. "	0,3 "	+ 0,7 " "
9. "	0,2 "	+ 0,8 " "
10. "	0,1 "	+ 0,9 " "
11. "	0,05 "	+ 0,95 " "

Kontrolle: 1 ccm sterile Nährbouillon.

Zu jedem Röhren wurde je 1 Tropfen Methylenblaulösung und eine gleiche Paraffinschicht zugesetzt. Brutkammer (37° C).

Nach $\frac{3}{4}$ Stunde: 1. und 2. Röhren entfärbt; sonst unverändert.

Nach 1 Stunde: 1. bis 3. Röhren entfärbt; 4. Röhren schwach entfärbt.

Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden: 1. bis 7. Röhren entfärbt, 8. Röhren schwach entfärbt.

Nach 2 Stunden: 1. bis 8. Röhren entfärbt.

Die Kontrolle (sterile Nährbouillon allein) war noch nach 6 Stunden unverändert. Vergleichen wir Tabelle I und II miteinander, dann sehen wir, daß der Einfluß der als Ergänzungsflüssigkeit zugesetzten Nährbouillon (Tabelle II) sich in einer Steigerung der Intensität der Entfärbung und in einer Beschleunigung derselben kundgibt. Während bei Tabelle I nach einer

Stunde nur die ersten zwei Röhrechen entfärbt sind, ist dies bei Tabelle II bei Röhrechen 1—3 der Fall (4. Röhrechen schwach). Die Dosis minima reducens (nach 2 Stunden) beträgt bei Tabelle I 0,4 ccm Kultur, bei Tabelle II 0,3 ccm. Eine Erklärung hierfür ist darin zu suchen, daß die 0,85 proz. Lösung von Kochsalz kein zusagendes Medium für Pneumokokken darstellt, ferner im Umstande, daß der Nährbouillon eine wenn auch geringe Reduktionskraft zukommt. Daß diese Reduktionsfähigkeit nicht allzu hoch anzuschlagen ist, ersieht man daraus, daß sie selbst unverdünnt auch nach vielen Stunden keine Spur einer Entfärbung zeigt. Wahrscheinlich spielt auch das sauerstoffabsorbierende Vermögen der Nährbouillon eine Rolle.

Auf eine Ablesung nach mehr als 2 Stunden haben wir verzichtet, in Erwägung dessen, daß eine stärkere Reduktion bei längerer Bebrütung durch eine evtl. Vermehrung der Keime oder eine hinzukommende Verunreinigung verursacht sein könnte.

Der fördernde Einfluß von zugesetztem Serum ist bereits von anderen Autoren festgestellt worden. Wir konnten diese Erfahrung dahin erweitern, daß in unseren Versuchen von den angewendeten Seris besonders das Meerschweinchenserum in hohem Maße aktivierend auf die Reduktionsfähigkeit der Pneumokokken einwirkt. Diese Erscheinung tritt besonders deutlich zutage, wenn man in mehreren Parallelreihen zu fallenden Keimengen gleiche Mengen verschiedener Sera wie Menschen-, Rinder-, Pferde-, Hammel-, Kaninchen- oder Meerschweinchenserum zusetzt und als Ergänzungsflüssigkeit 0,85 proz. Kochsalzlösung nimmt. Zwischen den erstgenannten 5 Seris besteht, wie wir finden konnten, keine nennenswerte Differenz in der Beeinflussung des Reduktionsvermögens, wenn auch jedes Serum für sich den Entfärbungsvorgang fördert. Dagegen zeigt das Meerschweinchenserum ein deutlich differentes Verhalten, wie dies Tabelle III und IV zeigen.

Die Kontrolle (1 ccm Meerschweinchenserum allein) zeigte auch nach 6 Stunden keine Entfärbung.

Die Tabellen III und IV zeigen, daß das Meerschweinchenserum in höherem Maße als das Kaninchenserum befähigt ist, das Entfärbungsvermögen der Pneumokokken hinsichtlich Intensität und Schnelligkeit der Entfärbung zu steigern. Die Dosis minima reducens beträgt in diesem speziellen Falle bei Gegenwart

Tabelle III.

	Bouillonkultur			NaCl-Lösung	Kan.-Serum
1. Röhren:	1 ccm	+ 0 ccm	0,85 ‰		+ 0,1 ccm
2. „	0,9 „	+ 0 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
3. „	0,8 „	+ 0,1 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
4. „	0,7 „	+ 0,2 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
5. „	0,6 „	+ 0,3 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
6. „	0,5 „	+ 0,4 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
7. „	0,4 „	+ 0,5 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
8. „	0,3 „	+ 0,6 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
9. „	0,2 „	+ 0,7 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
10. „	0,1 „	+ 0,8 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
11. „	0,05 „	+ 0,85 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „

Kontrolle: 1 ccm Kaninchenserum.

Zu jedem Röhren wurde je 1 Tropfen Methylenblaulösung und eine gleiche Paraffinschicht zugesetzt. Brutkammer (37° C).

Nach $\frac{3}{4}$ Stunden: Röhren 1–4 entfärbt, sonst unverändert.

„ 1 Stunde: „ 1–5 „ „ „

„ 2 Stunden: „ 1–9 „ „ „

Tabelle IV.

	Bouillonkultur			NaCl-Lösung	Meerschw.-Serum
1. Röhren:	1 ccm	+ 0 ccm	0,85 ‰		+ 0,1 ccm
2. „	0,9 „	+ 0 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
3. „	0,8 „	+ 0,1 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
4. „	0,7 „	+ 0,2 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
5. „	0,6 „	+ 0,3 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
6. „	0,5 „	+ 0,4 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
7. „	0,4 „	+ 0,5 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
8. „	0,3 „	+ 0,6 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
9. „	0,2 „	+ 0,7 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
10. „	0,1 „	+ 0,8 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „
11. „	0,05 „	+ 0,85 „	0,85 ‰	„	+ 0,1 „

Kontrolle: 1 ccm Meerschweinchenserum.

Jedes Röhren erhält 1 Tropfen Methylenblaulösung, Paraffinöl, 37° C.

Nach $\frac{3}{4}$ Stunden: Röhren 1–6 entfärbt, sonst unverändert.

„ 1 Stunde: „ 1–8 „ „ „

„ 2 Stunden: „ 1–10 „ „ „

von Kaninchenserum 0,2 ccm Kultur und bei Anwendung von Meerschweinchenserum 0,1 ccm¹⁾.

¹⁾ Diese Zahlen haben nur relativen, d. h. Vergleichswert, bezogen auf die Ergebnisse der mit der gleichen Kultur angestellten Versuche, da die Dosis minima reduens in erster Linie von der Zahl der Keime und deren Vitalität abhängt.

Eine das Reduktionsvermögen der Pneumokokken und der Bakterien im allgemeinen verstärkende Fähigkeit besitzt auch der Traubenzucker, wenn derselbe der bereits ausgewachsenen Kultur zugesetzt wird. Dagegen bleibt die Reduktion überhaupt aus, wenn man die Bakterien in traubenzuckerhaltiger Bouillon wachsen läßt und diese Kultur zu den Versuchen heranzieht.

Mit Rücksicht darauf, daß manche Bakterien in ihrem Wachstum durch Methylenblau ungünstig beeinflußt werden, wurde in einem besonderen Versuch die Farbstoffmenge, die pro Röhrchen zugesetzt wurde, auf die Hälfte herabgesetzt, also ein Tropfen einer zweimal mit 0,85 proz. NaCl-Lösung verdünnten Methylenblaulösung gebraucht. Es zeigte sich keine Differenz gegenüber der ursprünglichen Anordnung. Da außerdem die Entfärbung bei Gebrauch der unverdünnten Methylenblaulösung viel deutlicher zu erkennen war, wurde die Originallösung belassen. Zwei Tropfen Methylenblaulösung pro Röhrchen hemmten die Reduktion bis zu einem gewissen Grade.

Die Verwendung breiterer Reagensgläser oder von weniger Paraffinöl machte sich in einer Verzögerung der Reaktion bemerkbar. Aus diesem Grunde achteten wir darauf, daß zum Versuche Röhrchen von gleichem Kaliber kamen und daß die Paraffinschichte in allen gleich breit war.

Den Einfluß der Temperatur auf den Reduktionsvorgang studierten wir in der Weise, daß wir die Entfärbung bei Zimmertemperatur (18° C) vor sich gehen ließen. Tabelle V zeigt einen solchen Versuch.

Tabelle V.

1. Röhrchen:	1 ccm	Bouillonkultur	+ 0	ccm	sterile	Nährbouillon
2.	0,9	„	„	+ 0,1	„	„
3.	0,8	„	„	+ 0,2	„	„
4.	0,7	„	„	+ 0,3	„	„
5.	0,6	„	„	+ 0,4	„	„
6.	0,5	„	„	+ 0,5	„	„
7.	0,4	„	„	+ 0,6	„	„
8.	0,3	„	„	+ 0,7	„	„
9.	0,2	„	„	+ 0,8	„	„
10.	0,1	„	„	+ 0,9	„	„

1 Tropfen Methylenblau pro Röhrchen. Paraffinöl, 18° C.

Nach 1 Stunde: 1. Röhrchen schwach entfärbt, sonst unverändert.

Nach 2 Stunden: 1. bis 4. Röhrchen entfärbt, 5. Röhrchen schwach entfärbt.

Wie zu erwarten war, erfolgt bei 18° C, einer dem Pneumokokkus nicht zusagenden Temperatur, die Reduktion sehr langsam und die Dosis minima reducens beträgt 0,7 ccm Bouillonkultur, also mehr als das Doppelte der unter sonst gleichen Bedingungen bei 37° C erhaltenen Dosis.

Auch bei dieser Temperatur wurden die Versuchsbedingungen variiert. Die Ergebnisse entsprechen im allgemeinen den bei 37° C erzielten.

Zusammenfassend läßt sich auf Grund der Ergebnisse der Vorversuche sagen: 1. Pneumokokken haben die Fähigkeit, Methylenblau zu reduzieren. 2. Dieser Reduktionsvorgang ist eine Funktion der Zeit und der Keimzahl. 3. Er unterbleibt, wenn die Pneumokokken in einer traubenzuckerhaltigen Bouillon gewachsen sind. 4. Die Entfärbungsfähigkeit der Pneumokokken wird durch Serum, besonders durch das vom Meerschweinchen, ferner durch Traubenzucker gesteigert.

Nach diesen orientierenden Vorversuchen gingen wir zu den Hauptversuchen über, Optochinlösungen verschiedener, besonders aber dünner Konzentrationen zu bestimmen. Wir ließen das Optochinum hydrochloricum unter verschiedenen Bedingungen auf die Pneumokokken einwirken und beobachteten den Grad der Beeinflussung ihres Reduktionsvermögens Methylenblau gegenüber. Die dabei angewendete Technik war folgende: Von einer 24stündigen Blutbouillonkultur von Pneumokokken wurde vorerst im Vorversuch die Dosis minima reducens bestimmt. Im Hauptversuch wurden dann zu gleichbleibenden Keimmengen (= Dosis minima reducens) fallende Mengen einer frisch bereiteten Lösung von Optochinum hydrochloricum in 0,85 proz. NaCl-Lösung zugesetzt, ein Tropfen Methylenblaulösung hinzugefügt, gut durchgeschüttelt, mit Paraffinöl überschichtet und in die Brutkammer bei 37° C gestellt. Bei jedem Versuche wurden immer mehrere Kontrollen, in der Regel drei, angesetzt, und zwar ohne Optochin. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen betrug (ohne Paraffinöl) 1 ccm. In verschiedenen Zeitabständen wurde die Entfärbung beobachtet und notiert. Tabelle VI demonstriert einen solchen Versuch:

Tabelle VI.

a) Vorversuch: Fallende Dosen Kultur von 1 ccm bis 0,1 ccm mit 0,85 proz. NaCl-Lösung ergänzt. Methylenblau, Paraffinöl, Brutkammer (37° C). Nach 2 Stunden: Röhrechen 1–7 entfärbt, die Dosis minima reducens beträgt also 0,4 ccm Kultur.

b) Hauptversuch: Verdünnung der Kultur mit 0,85 proz. NaCl-Lösung, so daß in 1 ccm 0,4 ccm Kultur enthalten waren, also $2\frac{1}{2}$ fach. Mit dieser verdünnten Kultur wurden dann die Optochinverdünnungen hergestellt, indem z. B. zu 0,9 ccm verdünnter Pneumokokkenkultur 0,1 ccm einer 1 proz. Optochinlösung zugesetzt wurde. Durch weitere Verdünnungen wurden die Optochinkonzentrationen beliebig gewählt.

1. Röhrechen:	1 ccm verdünnte Kultur,	Optochin	1 :	500 000
2. „	1 „ „ „	„	1 :	1 000 000
3. „	1 „ „ „	„	1 :	2 000 000
4. „	1 „ „ „	„	1 :	4 000 000
5. „	1 „ „ „	„	1 :	8 000 000
6. „	1 „ „ „	„	1 :	16 000 000

3 Kontrollen: je 1 ccm verdünnte Kultur, kein Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, Brutkammer (37° C).

Nach 1 Stunde 50 Minuten: 3 Kontrollen entfärbt, Röhrechen 3–6 zeigen eine schwache Entfärbung, 1–2 blau.

Nach 2 Stunden: 3 Kontrollen entfärbt, Röhrechen 3–6 mäßig entfärbt, 1–2 blau.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: Dasselbe.

Nach 2 Stunden 20 Minuten: Dasselbe.

Nach 2 Stunden 30 Minuten: 3 Kontrollen und Röhrechen 3–6 entfärbt, 2. Röhrechen mäßig entfärbt, 1. Röhrechen blau.

Aus Tabelle VI ist zu ersehen: Optochinlösungen vermögen die Reduktion durch Pneumokokken in relativ starken Verdünnungen aufzuheben oder zu verzögern. Im speziellen Fall besteht zwischen den Kontrollen und den stärksten Optochinverdünnungen (1:16 Millionen) ein Unterschied, der sich besonders scharf vom 2. Röhrechen (1:1 Million) ausprägt. Während die Kontrollen schon nach 1 Stunde 50 Minuten entfärbt sind, zeigen die Röhrechen 1 und 2 auch nach 2 Stunden 20 Minuten keine Veränderung; die übrigen Röhrechen (3–6) entfärbten sich, und zwar anfangs schwach, später vollständig. Bei weiterer Beobachtung dehnt sich die Entfärbung auch auf stärkere Optochinkonzentrationen aus und erst Verdünnungen, die erfahrungsgemäß auf Pneumokokken abtötend wirken, behalten dauernd den blauen Farbenton. Doch gestattet uns diese deutliche, sich scharf ausprägende Verzögerung der Reduktion, Optochinlösungen

in stärkeren Verdünnungen zu bestimmen. Erwähnt sei hier, daß die abtötende Wirkung des Optochinpräparates wiederholt geprüft wurde; die bakterizide Verdünnung betrug 1:300 000 bis 1:500 000.

Die weitere Versuchsrichtung war klar vorgezeichnet. In Berücksichtigung des Umstandes, daß die hier in Betracht kommende Protoplasmaschädigung nur eine partielle, eine einzelne Funktion der Zelle betreffende ist und somit in das Gebiet der Entwicklungsbehinderung und Entwicklungshemmung fällt, konnten wir erwarten, daß die auf dem bezüglichen Gebiete der Desinfektionslehre erzielten Ergebnisse, also besonders jene, die sich auf die wachstumshemmende Eigenschaft verschiedener Substanzen beziehen, auch hier eine Bestätigung finden müßten.

Als wichtigstes Moment betrachteten wir die Feststellung der Bedeutung der Zahl der Keime, der Dauer der Einwirkung des Mittels und der Temperatur, bei der die Einwirkung bzw. Entfärbung erfolgt.

Über den Einfluß der Keimzahl auf die Abtötungsfähigkeit von Desinfizienten liegen zahlreiche Arbeiten vor. Schon Gruber, ferner Behring stellten die Tatsache fest, daß die Keimzahl für die Wirkungsdauer desinfizierender Mittel von wesentlicher Bedeutung ist. Exakte Untersuchungen darüber haben Chick und Martin angestellt, die z. B. in einem Versuch feststellten, daß 8proz. Phenollösung bei 21° C, bei einem Gehalt von 187 000 Paratyphuskeimen pro 1 cm in 2,25 Minuten abtötend wirkt, bei einem Gehalt von 440 000 in 4,5 Minuten, von 56 Millionen in 32,75 Minuten und von 66 Millionen in 34 Minuten. Auch andere Autoren bestätigten dieses Verhalten.

Sehr spärlich sind dagegen Arbeiten über die Beziehungen zwischen Zahl der Keime und Entwicklungshemmung durch keimschädigende Substanzen. Besonderes Interesse besaß für uns die Arbeit von Schiemann und Ishiwara, welche die entwicklungshemmende Wirkung des Optochins auf Pneumokokken untersuchten. Sie fanden, daß „der Einfluß der Bakterienmenge auf den Ablauf der antiseptischen Wirkung stets deutlich nachweisbar“ sei. Nach den Ergebnissen unserer Vorversuche hatten wir es in der Hand, die Dosis minima reducens zu verringern, so z. B. durch Anwendung von steriler Nährbouillon an Stelle der Kochsalzlösung oder durch Zusatz von Serum oder Trauben-

zucker, während die Möglichkeit, höhere Dosen zu gebrauchen, von vornherein gegeben war. Tabelle VII zeigt einen Versuch mit einer Keimmenge, die größer war als die im Vorversuch bestimmte Dosis minima reducens. Die Pneumokokkenkultur wurde mit 0,85 proz. NaCl-Lösung so verdünnt, daß in 1 ccm 0,6 ccm Kultur enthalten waren. Die Dosis minima reducens betrug 0,4 ccm. Die Optochinverdünnungen blieben die gleichen wie bei Tabelle VI.

Tabelle VII.

1. Röhren:	1 ccm	verdünnte Kultur,	Optochin	1 :	500 000
2. „	1 „	„	„	1 :	1 000 000
3. „	1 „	„	„	1 :	2 000 000
4. „	1 „	„	„	1 :	4 000 000
5. „	1 „	„	„	1 :	8 000 000
6. „	1 „	„	„	1 :	16 000 000

3 Kontrollen: je 1 ccm verdünnte Kultur, kein Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, Brutkammer (37° C).

Nach 2 Stunden: Die 3 Kontrollen und Röhren 3—6 ganz entfärbt, das 2. Röhren zeigt schwache Entfärbung.

Nach 2 Stunden 15 Minuten: Die 3 Kontrollen und Röhren 2—6 entfärbt, Röhren 1 blau.

Nach 2 Stunden 30 Minuten: Dasselbe.

Nach 3 Stunden: Dasselbe.

Wie aus dieser Tabelle (VII) zu ersehen ist, vermag das Optochin bei Anwendung einer größeren Keimzahl (0,6 ccm) nur in einer Verdünnung 1: 500 000 die Reduktion deutlich zu hemmen. Das Röhren 2 (Optochin 1: 1 Million) zeigt zu einer Zeit, wo die Kontrollen und die übrigen Röhren entfärbt sind, zuerst eine wenn auch schwache, doch bald vollkommene Entfärbung.

In weiteren Versuchen verringerten wir die Dosis minima reducens durch Anwendung von steriler Nährbouillon als Verdünnungsflüssigkeit (Tabelle VIII) oder durch Zusatz von Meer-schweinchenserum (Tabelle IX).

Der Ausfall dieser zwei Versuche (Tabelle VIII u. IX) zeigt, daß bei Verringerung der Dosis minima reducens die zu ermittelnde Optochinkonzentration eine schwächere sein darf als bei Gebrauch einer größeren Kulturmenge. Bei Tabelle VIII, wo die Dosis minima reducens 0,3 ccm beträgt, hemmt die Optochinverdünnung 1:1,5 Millionen, bei Tabelle IX (Dosis minima reducens

Tabelle VIII.

Die im Vorversuch festgestellte Dosis minima reducens beträgt bei Anwendung von Nährbouillon als Verdünnungsflüssigkeit 0,3 ccm Kultur.

1. Röhrcchen:	1 ccm mit Bouillon verd.	Kultur, Optochin	1 : 500 000
2. „	1 „ „ „ „ „ „	„ „	1 : 1 000 000
3. „	1 „ „ „ „ „ „	„ „	1 : 1 500 000
4. „	1 „ „ „ „ „ „	„ „	1 : 2 000 000
5. „	1 „ „ „ „ „ „	„ „	1 : 4 000 000
6. „	1 „ „ „ „ „ „	„ „	1 : 8 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm mit Bouillon verdünnte Kultur, ohne Optochin. Metylenblau, Paraffinöl, Brutkammer (37° C).

Nach 1 Stunde 45 Minuten: 3 Kontrollen und Röhrcchen 4–6 entfärbt.

Nach 2 Stunden: Dasselbe.

Tabelle IX.

Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum pro Röhrcchen; die im Vorversuch festgestellte Dosis minima reducens beträgt 0,2 ccm Kultur bei Anwendung von 0,85proz. NaCl-Lösung als Verdünnungsflüssigkeit.

1. Röhrcchen:	1 ccm verdünnte Kultur, Optochin	1 : 500 000
2. „	1 „ „ „ „ „	1 : 1 000 000
3. „	1 „ „ „ „ „	1 : 1 500 000
4. „	1 „ „ „ „ „	1 : 2 000 000
5. „	1 „ „ „ „ „	1 : 2 500 000
6. „	1 „ „ „ „ „	1 : 4 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

Metylenblau, Paraffinöl, Brutkammer (37° C).

Nach 1 Stunde 50 Minuten: Die 3 Kontrollen und das 6. Röhrcchen entfärbt, 1–5 blau.

Nach 2 Stunden: Dasselbe.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: Dasselbe.

= 0,2 ccm) übt auch die Verdünnung 1:2,5 Millionen eine deutliche Wirkung aus. Es genügt also bei Anwendung einer kleineren Keimzahl ein kleineres Optochinquantum, um das Entfärbungsvermögen der Pneumokokken zu hemmen oder zu verzögern.

Bei den bisherigen Versuchen ließen wir das Reduktionsphänomen unmittelbar nach dem Zusatz des Optochins vor sich gehen. Es lag nun nahe, zu untersuchen, ob eine vorausgegangene längere oder kürzere Einwirkung des Optochins bei verschiedenen Temperaturen mit daran anschließender Reduktion eine Änderung der Ergebnisse herbeizuführen vermag. Die bezüglichen Versuche wurden in verschiedener Weise hinsichtlich Keimzahl, Temperatur, Wirkungsdauer usw. variiert. Eine Wiedergabe

sämtlicher Versuchstabellen ist aus äußeren Gründen unmöglich. Es mögen 3 Tabellen von bei 37°, 18° und 4° C angestellten Versuchen genügen (Tabelle X, XI, XII).

Tabelle X.

Die Dosis minima reducens beträgt 0,4 ccm Kultur bei Anwendung von 0,85 proz. NaCl-Lösung als Verdünnungsflüssigkeit. Nach Herstellung der Optochinverdünnungen wurden die Röhren ohne Methylenblau 2 Stunden bei 37° C gehalten, nachher wurde Methylenblau hinzugefügt, geschüttelt, mit Paraffinöl überschichtet und in die Brutkammer bei 37° C gestellt.

1. Röhren:	1 ccm verdünnte Kultur, Optochin	1 :	500 000
2. "	1 " " " " "	1 :	1 000 000
3. "	1 " " " " "	1 :	2 000 000
4. "	1 " " " " "	1 :	4 000 000
5. "	1 " " " " "	1 :	8 000 000
6. "	1 " " " " "	1 :	16 000 000
7. "	1 " " " " "	1 :	32 000 000
8. "	1 " " " " "	1 :	64 000 000
9. "	1 " " " " "	1 :	128 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

2 Stunden bei 37° C, dann Methylenblau, Paraffinöl und wieder in die Brutkammer bei 37° C.

Nach 2 Stunden: Die 3 Kontrollen und Röhren 4–9 entfärbt. 1–3 blau.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: Dasselbe.

Nach 2 Stunden 20 Minuten: Dasselbe.

Tabelle XI.

Dosis minima reducens 0,4 ccm Kultur, 0,85 proz. NaCl-Lösung als Verdünnungsflüssigkeit. Vor dem Zusatz des Methylenblaus wurden die Röhren 2 Stunden im Zimmer bei 18° C gehalten.

1. Röhren:	1 ccm verdünnte Kultur, Optochin	1 :	500 000
2. "	1 " " " " "	1 :	1 000 000
3. "	1 " " " " "	1 :	1 500 000
4. "	1 " " " " "	1 :	3 000 000
5. "	1 " " " " "	1 :	4 000 000
6. "	1 " " " " "	1 :	8 000 000
7. "	1 " " " " "	1 :	16 000 000
8. "	1 " " " " "	1 :	32 000 000
9. "	1 " " " " "	1 :	64 000 000

3 Kontrollen: je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

2 Stunden bei 18° C, dann Methylenblau, Paraffinöl und bei 37° C.

Nach 1 Stunde 50 Minuten: Die 3 Kontrollen und Röhren 5–9 entfärbt, 1–4 blau.

Nach 2 Stunden: Dasselbe.

Tabelle XII.

Dosis minima reducens = 0,4 ccm Kultur, 0,85 proz. NaCl-Lösung als Verdünnungsflüssigkeit; vor dem Zusatz des Methylenblaus kamen die Röhren für 2 Stunden in den Eisschrank bei 4° C.

1. Röhren:	1 ccm verdünnte Kultur,	Optochin 1 :	500 000
2. "	1 "	" "	1 : 1 000 000
3. "	1 "	" "	1 : 2 000 000
4. "	1 "	" "	1 : 4 000 000
5. "	1 "	" "	1 : 8 000 000
6. "	1 "	" "	1 : 16 000 000
7. "	1 "	" "	1 : 32 000 000
8. "	1 "	" "	1 : 64 000 000
9. "	1 "	" "	1 : 128 000 000

3 Kontrollen: je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

2 Stunden bei 4° C, dann Methylenblau, Paraffinöl und 37° C.

Nach 2 Stunden 30 Minuten: Die 3 Kontrollen und Röhren 6–9 entfärbt, 1–5 blau.

Nach 2 Stunden 45 Minuten: Dasselbe.

Diese drei Tabellen (X, XI, XII) gestatten den Schluß, daß durch Verlängerung der Wirkungsdauer des Optochins, letzteres imstande ist, in höheren Verdünnungen die Reduktion durch Pneumokokken zu hemmen oder zu verzögern, als wenn man den Reduktionsprozeß unmittelbar nach dem Optochinzusatz einsetzen läßt. Doch hängt der Wirkungsgrad von der Temperatur ab, bei der das Optochin auf die Pneumokokken wirkt, und zwar erwiesen sich die tieferen Temperaturen geeigneter für die Erzielung stärkerer Wirkungseffekte. So betrug die schwächste Optochinkonzentration, die nach zweistündiger Einwirkung bei 37° C die Entfärbung deutlich zu verzögern vermochte, 1:2 Millionen (Tabelle X), bei gleich langer Wirkungsdauer bei 18° C 1:3 Millionen (Tabelle XI), während unter dem Einfluß der Eisschranktemperatur (4° C) die noch wirksame Optochinkonzentration 1:8 Millionen betrug (Tabelle XII).

Diese Zunahme der Wirkung bei tieferen Temperaturen entspricht den beim Studium der entwicklungshemmenden Eigenschaften anderer Substanzen erhobenen Befunden. So stellte schon Behring fest, daß die entwicklungshemmende Wirkung keimschädigender Substanzen durch tiefere Temperaturgrade gesteigert werden kann, während die Abtötungsfähigkeit durch höhere Temperaturen, also auch solche, die das Wachstumsoptimum vieler Bakterien darstellen (ca. 37° C), begünstigt wird.

Er erklärte diese Erscheinung folgendermaßen: Durch höhere Temperaturen werde nicht nur die Aktivität des Desinficiens, sondern auch die des lebenden Protoplasmas erhöht; die Giftwirkung eines Mittels werde, ceteris paribus, von allen Lebewesen um so leichter ertragen, je günstiger für dieselben die Lebensbedingungen sind; bei tieferen Temperaturen kämen zu der Giftwirkung der schädigenden Substanz die ungünstigen Temperaturverhältnisse hinzu

Außer der Temperatur, bei der das Optochin einwirkt, ist auch die Einwirkungsdauer von Bedeutung. Wirkte das Mittel mehr als 2 Stunden ein, dann erzielten wir noch höhere Wirkungseffekte, besonders bei Anwendung der Eischranktemperatur. Bei 37° C, weniger bei 18° C, waren die Resultate bei mehrstündiger Einwirkungsdauer nicht immer eindeutig, insofern als häufig schon bei stärkeren Konzentrationen und früher Entfärbung eintrat als bei kürzerer Wirkungsdauer. In derartigen Fällen handelte es sich oft um Sterilitätsfehler, auch dürfte die Vermehrung der Keime eine Rolle spielen.

Es schien uns von Interesse, zu untersuchen, wie sich der Reduktionsprozeß bei Zimmertemperatur (18° C) in verschiedenen Optochinkonzentrationen abspielt. Keimzahl und Wirkungsdauer wurden auch hier variiert. Doch zeigten schon die ersten Versuche, daß die üblichen Optochinverdünnungen nicht ausreichten. Bei Anwendung der Dosis minima reducens zeigten auch die Röhren mit 100-millionenfachen, ja sogar in vielen Fällen bei milliardenfacher Optochinkonzentration keine Spur von Entfärbung, zu einer Zeit, wo die gleichzeitig angesetzten Kontrollen deutliche Entfärbungszeichen aufwiesen. Tabelle XIII zeigt einen solchen Versuch.

Aus dieser Tabelle (XIII) ersieht man, daß die Optochinkonzentrationen, die auf den Reduktionsprozeß der Pneumokokken verzögernd einwirken, wenn derselbe bei 18° C stattfindet, auch 100-millionenfache und milliardenfache sein können. Bei Anwendung größerer Kulturquantitäten, als es den Vorversuchen entsprach, erfolgte die Entfärbung rascher und zeigte nur bei stärkeren Optochinkonzentrationen deutliche Hemmungen. Zwischen den Versuchen bei 37° C und denen bei 18° C besteht ferner der Unterschied daß bei Bruttemperatur die Grenzkonzentrationen sich deutlich von den unwirksamen Optochin-

Tabelle XIII.

Dosis minima reducens bei 18° C und bei einem Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum 0,2 ccm Kultur.

1. Röhrcchen:	1 ccm verdünnte Kultur,	Optochin	1 :	1 000 000
2. „	1 „ „ „ „	„	1 :	2 000 000
3. „	1 „ „ „ „	„	1 :	4 000 000
4. „	1 „ „ „ „	„	1 :	8 000 000
5. „	1 „ „ „ „	„	1 :	16 000 000
6. „	1 „ „ „ „	„	1 :	32 000 000
7. „	1 „ „ „ „	„	1 :	64 000 000
8. „	1 „ „ „ „	„	1 :	128 000 000
9. „	1 „ „ „ „	„	1 :	256 000 000
10. „	1 „ „ „ „	„	1 :	512 000 000
11. „	1 „ „ „ „	„	1 :	1 024 000 000
12. „	1 „ „ „ „	„	1 :	2 048 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, 18° C.

Nach 1 Stunde 50 Minuten: Die 3 Kontrollen fast entfärbt, sonst alles unverändert.

Nach 2 Stunden: Die 3 Kontrollen entfärbt, 12. Röhrcchen schwach entfärbt.

verdünnungen abheben, während dies bei 18° C nicht der Fall ist. Infolgedessen kann sich nur die Reduktion bei 37° C für quantitative Bestimmungen eignen, während sie bei 18° C den Charakter einer hochempfindlichen qualitativen Reaktion aufweist.

Die eigentliche Fragebeantwortung nach der praktischen Anwendbarkeit der Methode, blieb Schlußversuchen vorbehalten. Wir stellten uns drei verschiedene Verdünnungen des Optochins in Meerschweinchenserum her, und zwar 1 : 25 000, 1 : 50 000 und 1 : 100 000 und suchten nun die Hemmungsgrenzen für diese drei Konzentrationen festzustellen (Tabelle XIV, XV, XVI).

Tabelle XIV.

Die Dosis minima reducens bei 37° C und bei Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum pro Röhrcchen beträgt 0,2 ccm Kultur. Die erste Optochinlösung im Serum wurde so verdünnt, daß im 1. Röhrcchen eine Konzentration 1 : 500 000 resultierte.

1. Röhrcchen:	1 ccm verdünnte Kultur,	Optochin	1 :	500 000
2. „	1 „ „ „ „	„	1 :	1 000 000
3. „	1 „ „ „ „	„	1 :	2 000 000
4. „	1 „ „ „ „	„	1 :	4 000 000
5. „	1 „ „ „ „	„	1 :	8 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, 37° C.

Nach 1 Stunde 55 Minuten: Die 3 Kontrollen und Röhren 4–6 entfärbt, 1–3 unverändert.

Nach 2 Stunden: Dasselbe.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: Dasselbe.

Tabelle XV.

Dosis minima reducens = 0,2 ccm Kultur, 0,1 ccm Meerscheinchenserum pro Röhren; die Optochinverdünnung 1 : 50 000 kam zur Anwendung.

1. Röhren:	1 ccm	verdünnte	Kultur,	Optochin	1 : 1 000 000
2. „	1 „	„	„	„	1 : 2 000 000
3. „	1 „	„	„	„	1 : 4 000 000
4. „	1 „	„	„	„	1 : 8 000 000
5. „	1 „	„	„	„	1 : 16 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, 37° C.

Nach 1 Stunde 50 Minuten: Die 3 Kontrollen und Röhren 3–6 entfärbt, 1–2 blau.

Nach 2 Stunden: Dasselbe.

Tabelle XVI.

Dosis minima reducens = 0,2 ccm Kultur, 0,1 ccm Meerscheinchenserum pro Röhren, die Optochinverdünnung 1 : 100 000 wurde angewendet.

1. Röhren:	1 ccm	verdünnte	Kultur,	Optochin	1 : 2 000 000
2. „	1 „	„	„	„	1 : 4 000 000
3. „	1 „	„	„	„	1 : 8 000 000
4. „	1 „	„	„	„	1 : 16 000 000
5. „	1 „	„	„	„	1 : 32 000 000

3 Kontrollen je 1 ccm verdünnte Kultur, ohne Optochin.

Methylenblau, Paraffinöl, 37° C.

Nach 2 Stunden: Die 3 Kontrollen und Röhren 2–6 entfärbt, 1. Röhren blau.

Nach 2 Stunde 10 Minuten: Dasselbe.

Vergleichen wir die drei Tabellen (XIV, XV, XVI) miteinander: In der Tabelle XIV, wo die Ausgangslösung das Optochin in einer Verdünnung 1 : 25 000 enthielt, konnte letztere, noch 80fach verdünnt, die Reduktion hemmen (3. Röhren 1 : 2 Millionen), bei Tabelle XV traf dies nur noch in einer 40fachen Verdünnung zu, da ja die Ausgangslösung 1 : 50 000, also zweimal schwächer war als die erste; die Hemmung erstreckte sich dementsprechend nur auf die Röhren 1 und 2 (Optochin 1 : 2 Millionen). Bei Tabelle XVI zeigte nur das 1. Röhren

Hemmung, da bereits hier die Konzentration 1:2 Millionen betrug (= 20fache Verdünnung der Ausgangslösung 1:100 000). Das Verhältnis der Ausgangslösungen zueinander war 25 000 : 50 000 : 100 000 = 1:2:4, ihre noch feststellbaren Verdünnungen 20:40:80, also ebenfalls 1:2:4. Ähnliche Versuche wurden mehrmals wiederholt und die erzielten Resultate entsprachen den hier mitgeteilten, — wenn auch nicht bezüglich der Konstanz der Grenzkonzentrationen, so doch hinsichtlich des Verhältnisses der Ausgangsverdünnungen zueinander.

Wir sind also auf diese Weise in der Lage, Optochinlösungen unbekannter Konzentrationen durch Vergleich mit bekannten Lösungen zu bestimmen, und zwar in Verdünnungen, die auf eine andere Art nicht ermittelt werden können. Es wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, die hier erhaltenen Ergebnisse praktisch anzuwenden. Auch wollen wir in weiteren Versuchen die Ausdehnung des Verfahrens auf andere Substanzen erstreben.

Zusammenfassung: 1. Durch Beeinflussung des Reduktionsvermögens der Pneumokokken sind wir in der Lage, Optochinlösungen in millionenfachen und höheren Verdünnungen zu bestimmen. 2. Die auf diese Weise ermittelte Grenzkonzentration hängt ab von der Keimzahl, der Dauer der Einwirkung des Mittels und der Temperatur, bei der es einwirkt. 3. Die höchsten Verdünnungen (milliardenfache) können ermittelt werden, wenn der Reduktionsprozeß bei Zimmertemperatur stattfindet; doch eignet sich die Reduktion bei Zimmertemperatur nur für qualitative Bestimmungen. 4. Genauere quantitative Ermittlungen lassen sich bei 37° C ausführen.

Literatur*).

¹⁾ P. Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885. — ²⁾ E. Behring, Zeitschr. f. Hyg. 9. — ³⁾ M. Neisser und F. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. 36. — ⁴⁾ R. Grassberger, Desinfektion. Leipzig 1913. — ⁵⁾ J. Morgenroth, Dtsch. med. Wochenschr. 36. 1913. — ⁶⁾ O. Schiemann und T. Ishiwara, Zeitschr. f. Hyg. 77. — ⁷⁾ E. Friedberger, Die allgemeinen Methoden der Bakteriologie (im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann).

*) Wegen Raummangels werden nur die wichtigsten von uns hier zitierten Publikationen angeführt, in denen umfangreichere Literaturnachweise zu finden sind.

Das lipochrome Pigment in Blutserum und Organen, Xanthosis, Hyperlipochromämie.

Von

Hymans van den Bergh und P. Muller.

(Unter Mitwirkung von J. Broekmeyer.)

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Utrecht.)

(Eingegangen am 31. Mai 1920.)

Die Farbe der Haut und der Gewebe ist mehreren, in verschiedenartigen Verhältnissen miteinander vermischten Farbstoffen zuzuschreiben, die noch keineswegs hinreichend untersucht worden sind. Sehen wir vom Blutfarbstoff selbst und seinen unmittelbaren Modifikationen, reduziertem Hämoglobin, Methämoglobin und Sulfhämoglobin ab, dann können wir schon jetzt verschiedene Gruppen unterscheiden. Die erste Gruppe bilden Zersetzungsprodukte von Eiweißkörpern, die wahrscheinlich aus dem Protoplasma an Ort und Stelle entstehen. Die zweite Gruppe wird von eisenhaltigen Derivaten des Blutfarbstoffs gebildet, für welche als Beispiel das Hämatin genannt sei. Eisenfreie Hämoglobinderivate können zu einer dritten Gruppe gezählt werden, deren wichtigster Vertreter das Bilirubin ist, während zuweilen wohl auch das isomere Hämatoporphyrin eine Rolle spielt. Eine vierte Gruppe bilden schließlich diejenigen Pigmente, die unter verschiedenen Namen beschrieben werden, Luteine, Carotinoide, Lipochrome. Mit der zuletzt genannten Gruppe von Farbstoffen beschäftigt sich vorliegende Abhandlung.

Gelbe Pigmente, die vorläufig am besten mit dem Namen Lipochrome bezeichnet werden, sind bis vor kurzem namentlich von Botanikern*), weniger von Chemikern und fast gar nicht von Klinikern untersucht worden. Bereits Stokes¹⁾ und Sorby²⁾ hatten entdeckt, daß sich in grünen Pflanzenteilen neben dem Chlorophyll gelbe Farbstoffe befinden. Nachdem das

*) Vgl. Tine Tammes, Flora. 87, 205. 1900 und von Wisselingh, Flora. 107, 371. 1915.

Carotin aus *Daucus carota* abgesondert worden war, wies Arnaud³⁾ im Jahre 1885 in grünen Pflanzenteilen ein gelbes Pigment nach, das mit dem Carotin aus *Daucus carota* identisch ist. Seitdem sind zahlreiche Untersuchungen dieser Pigmente vorgenommen worden. In den letzten Jahren hat Willstätter^{4), 5)} sich namentlich damit beschäftigt. Diejenigen dieser Pigmente, welche am häufigsten vorkommen, können in die zwei Gruppen von Borodin⁶⁾ eingeteilt werden. Die Pigmente der ersten Gruppe, welcher das Carotin angehört, lassen sich in Petroleumäther (Benzin) leicht, in Alkohol schwer auflösen. Zur zweiten Gruppe gehört das Xanthophyll; die hierher gehörigen Farbstoffe lassen sich verhältnismäßig leicht in Äthyl- und Methylalkohol, schwer in Petroleumäther auflösen.

Auch in tierischen Produkten, namentlich im Eidotter, im Serum von Menschen und Tieren, haben bereits ältere Forscher lipochrome Pigmente angetroffen (Krukenberg, Thudicum, Schunk u. a.); sie werden gewöhnlich Luteine genannt. Auch auf diesem Gebiet verdanken wir Willstätter und seinen Mitarbeitern wichtige Untersuchungen. Es stellte sich heraus, daß auch die tierischen Lipochrome oder Carotinoide, je nach ihrer Lösbarkeit in Petroleumäther oder Alkohol, in zwei Gruppen eingeteilt werden können. Willstätters Schüler Escher hat aus dem Corpus luteum der Kuh das Carotin in reinem Zustand abgesondert, während Willstätter und Escher zusammen aus dem Eidotter das Lutein in chemisch reinem Zustande gewannen, wobei sie fanden, daß es, vom Schmelzpunkt abgesehen, völlig mit dem Pflanzenxanthophyll übereinstimmt.

In einer Abhandlung über die Farbstoffe des Blutserums haben wir⁷⁾ im Jahre 1913 eine einfache Methode beschrieben, mittels welcher man das Lipochrom aus dem Blutserum von Mensch und Tier auszuschneiden vermag. Dabei fanden wir, daß dieses Pigment im Serum von Hühnern und Rindern in verhältnismäßig großer Menge vorkommt. Bei Menschen trafen wir es in sehr verschiedener Menge an, das eine Mal fanden sich nur geringe Spuren, das andere Mal nicht unbeträchtliche Mengen. Ferner stellten wir fest, daß bei manchen Menschen, namentlich bei Zuckerkranken, aber auch wohl bei solchen, die nicht an dieser Krankheit litten, der Lipochromgehalt des Serums sehr stark erhöht war. Diese Personen mit abnormal hohem Lipochromgehalt des Blutserums zeichneten sich durch eine eigenartige Hautfärbung aus, die ein wenig an einen leichten Ikterus erinnerte. Die Farbe war aber etwas anders, mehr orange-gelb, und die Sclerae waren stets farblos, und, wie selbstverständlich, enthielt der Urin keinen Gallenfarbstoff. Es war uns entgangen, daß eine derartige eigentümliche gelbe Farbe bereits von v. Noorden⁸⁾ und Salomon⁹⁾ unter dem Namen Xanthosis beschrieben

worden war. Es wurde aber von v. Noorden die Art des Farbstoffes, der diese Xanthosis veranlaßt, nicht festgestellt.

Später sind in der deutschen Literatur verschiedene Mitteilungen, die sich auf diesen Gegenstand beziehen, erschienen.

Kaupe¹⁰⁾ lenkte die Aufmerksamkeit auf eine gelbe Hautfarbe, die während des Krieges bei kleinen Kindern, die viel Mohrrüben gegessen hatten, beobachtet wurde. Stöltzner¹¹⁾ und Klose¹²⁾ führten derartige Beobachtungen an, während Moro¹³⁾ eine eigentümliche Verfärbung der Haut bei Säuglingen, die mit sog. „Möhrensuppe“ großgezogen worden waren, schon vorher beschrieben hatte. Schüssler¹⁴⁾ beschrieb die erwähnte Hautfärbung bei Erwachsenen, die viel Mohrrüben gegessen hatten. Ueber¹⁵⁾ bestätigte in der zweiten Auflage seines Lehrbuches von Noorden's Xanthosebeobachtung und kam im Jahre 1916 noch einmal darauf zurück¹⁶⁾. Alle diese Mitteilungen machen die Wahrscheinlichkeit, daß die Lipochromzunahme im Blut bei der Xanthose mit der Ernährung zusammenhängt, sehr groß. Diese Annahme wird durch eine Untersuchung von Bürger und Reinhart¹⁷⁾,¹⁸⁾ verstärkt, die bei quantitativer Schätzung des Lipochroms im Blut bemerkten, daß der Gehalt entsprechend dem Lipochromgehalt der Nahrung wechselt. Eine kurze Mitteilung von Salomon¹⁹⁾ bestätigt, daß das Serumlipochrom bei Xanthosis in seinen spektroskopischen Eigenschaften mit dem Pflanzenlipochrom übereinstimmt.

Sehr wichtige Untersuchungen, auf die wir noch wiederholt zurückkommen werden, verdanken wir dem amerikanischen Ackerbauchemiker Palmer und seinen Mitarbeitern²¹⁾,²²⁾,²³⁾,²⁴⁾,²⁵⁾, während Hess und Meyers²⁰⁾ eine Untersuchung vornahmen, die wir besser an späterer Stelle besprechen. Einen kurzen Artikel widmet diesem Gegenstand The Journal of the American medical Association in ihrem Editorial vom 3. Januar 1920.

1. Einige chemische Eigenschaften der Carotinoide.

Es ist nicht nötig, die Chemie dieser Pigmente hier ausführlich zu behandeln. Eine ausgezeichnete Darstellung geben Willstätter und Stoll⁶⁾. Nur müssen, um die nachfolgenden Ausführungen verständlich zu machen, einige Eigenschaften hervorgehoben werden. Das Pigment aus Mohrrüben (*Daucus carota*) war vermutlich das erste, welches in chemisch reinem Zustand abgesondert wurde. Arnaud hat es in einer vortrefflichen Arbeit (unter Chevreuil) genau untersucht. Er wies nach, daß es ein ungesättigter Kohlenwasserstoff ist, welcher, dem Licht ausgesetzt, leicht Sauerstoff aufnimmt. Auf Grund seiner Analyse des Stoffes selbst und seiner Additionsprodukte nahm er $C_{26}H_{35}$ als empirische Formel an. Arnaud fand, daß das Carotin mit gelben Pigmenten, die in grünen Pflanzenteilen neben dem Chlorophyll vorkommen, identisch ist. Später hat man entdeckt, daß außer dem Carotin noch andere lipochrome gelbe Pigmente in der Natur vorkommen. Nach Tswett²¹⁾ nennt man sie alle zusammen Carotinoide. In dieser Abhandlung werden nur die beiden großen Gruppen, die durch das Carotin und das Xanthophyll vertreten sind, berücksichtigt werden. Diese beiden Pigmente kommen einmal getrennt, ein

anderes Mal nebeneinander in der Natur vor. Sie lassen sich alle in Fetten, Äther, Petroleumäther, Aceton, Schwefelkohlenstoff auflösen. Ihre spektroskopischen Eigenschaften lassen wir der Kürze halber und weil wir uns ihrer bei unseren jetzigen Untersuchungen nicht bedienen, unbesprochen. Dasselbe gilt für ihre adsorbiven Eigenschaften hinsichtlich des Calciumcarbonats. Eine sehr wichtige Eigenschaft der Carotinoide ist diese, daß sie sich, sofern sie sich in trockenem Zustand befinden, mit einer dunkelblauen Farbe in starker Schwefelsäure lösen.

Willstätter hat die Ergebnisse, zu denen Arnaud bei seiner Untersuchung des Carotins gelangte, so gut wie ganz bestätigen können. Es zeigte sich, daß die molekulare Zusammenstellung ein wenig von derjenigen abwich, die Arnaud gefunden hatte. Für Carotin stellte Willstätter $C_{40}H_{56}$, für Xanthophyll $C_{40}H_{56}O_2$ fest.

Xanthophyll und Carotin lassen sich quantitativ leicht voneinander trennen, weil sie sich in verschiedener Weise auf Petroleumäther und 90 proz. Methylalkohol verteilen. Hat man eine Mischung jener beiden Stoffe, dann bringt man sie in eine Mischung von starkem Methylalkohol und Petroleumäther. Danach setzt man ein wenig Wasser zu, geradesoviel wie nötig ist, um die Konzentration des Alkohols auf ungefähr 90% zu bringen. Es bilden sich dann zwei Schichten. Das Carotin, das sich in Methylalkohol schwer löst, lagert sich in die obere Petroleumätherschicht. Das Xanthophyll geht in die untere Schicht, den Methylalkohol.

2. Die Absonderung der Lipochrome aus Blutserum und aus pflanzlichen und tierischen Geweben.

In unserer früheren, vorhin bereits erwähnten Abhandlung haben wir angegeben, auf welche Weise das Serum-Lipochrom auf einfache Art abgesondert werden kann. Ein Volumen Rinder- serum wird mit 2 Volumen Alkohol gemischt. Beim Menschen- serum nimmt man gleiche Volumina. Die Mischung wird zentrifugiert, die oben liegende Flüssigkeit abgegossen. Das Eiweiß- präcipitat, welches das Lipochrom enthält, wird mit Äther extrahiert. In der letzten Zeit machten wir es oft ein wenig anders: Einem Volumen Serum setzten wir 1 Volumen 96 proz. Alkohol und $1\frac{1}{2}$ Volumen Äther zu, dann, ohne zu schütteln, soviel Wasser, wie zur Entmischung nötig ist. Gewöhnlich reichen hierzu $1\frac{1}{2}$ Volumen hin. Das Lipochrom geht dann quantitativ in die Ätherschicht.

Palmer²²⁾ schlug einen etwas anderen Weg ein. Er mischte das Serum mit wasserfreiem $CaSO_4$, benetzte mit Alkohol und extrahierte mit Äther. Diese Methode bietet unserer Meinung nach keinen Vorteil vor der von uns befolgten, welche auch von Reinhart und Bürger und von Salomon angewandt wird.

Um die Lipochrome aus pflanzlichem und tierischem Gewebe abzusondern, werden sie entweder in frischem Zustand mit Alkohol und Äther behandelt, worauf mittels Wasser getrennt wird, oder aber das Material wird zuerst bei mäßiger Erwärmung getrocknet und fein verteilt und dann mit Alkohol und Äther extrahiert. Gallenfarbstoff kann man durch Waschen mit sehr verdünnter Lauge entfernen.

In den meisten Fällen, sei es auch nicht in allen Fällen, ist es nötig, der Extraktion mit Äther eine Behandlung mit Alkohol vorausgehen zu lassen. Aus manchen Pflanzenteilen kann man das Pigment direkt durch Extraktion mit Äther erhalten. Dasselbe ist beim Eidotter der Fall. Reibt man ihn mit Äther, dann geht das Pigment (Xanthophyll) in letzteren über. Wendet man jedoch Petroleumäther als Extraktionsmittel an, dann ist vorhergehende Behandlung mit Alkohol nötig. Gekochter Eidotter tritt dagegen seinen Farbstoff wieder direkt an Petroleumäther ab. Aus Rinderserum, Menschenserum und zahlreichen tierischen Geweben gelingt es nicht, das Pigment mit Äther zu extrahieren, es sei denn, daß man sie zuvor mit Alkohol behandelt habe.

Auch beim Hühnerserum stellte sich bei acht von den zehn von uns benutzten Proben dasselbe heraus. Dies widerspricht der Erfahrung Palmers, nach dessen Ansicht das Hühnerserum sein Pigment immer direkt an Äther abgibt.

Nach demselben Forscher soll das Pigment des Rinderserums darin an Eiweiß gebunden, als sog. Carotoalbumin, vorkommen; die genannte Molekularverbindung müsse durch Alkohol zerlegt werden, ehe das Pigment sich in Äther lösen könne. Im Gegensatz hierzu fanden wir aber, daß das Lipochrom aus Rinderserum nicht in Äther übertritt, wenn man das Eiweiß mittels gesättigter Ammoniumsulfatlösung oder durch Kochen gefällt hat, während doch, unserer Meinung nach, das Eiweiß durch Kochen stärker denaturiert wird, als durch Alkohol. Überraschend ist ferner die schnelle Wirkung des Alkohols. Unmittelbar nach dem Zusetzen des Alkohols bemerkt man, daß der Äther eine gelbe Färbung annimmt. Die Wirkung scheint also bereits während der ersten Phase (der Ausflockung) einzutreten und vor der zweiten Phase (dem Denaturieren des Eiweißes).

Die Lipochrome sind in Wasser nicht löslich. Dies erschwert

ihre Untersuchung im Tierexperimente. Lösungen in Äther, Petroleumäther und dergleichen sind dazu nicht zu brauchen. Man kann sich einigermaßen behelfen, indem man die Stoffe in farblosen Ölen auflöst. Indessen lassen sich diese auch nicht bei allen Experimenten anwenden, z. B. nicht bei intravenöser Injektion für tierphysiologische Untersuchungen. Es ist also von Nutzen, daß die Lipochrome auf folgende Weise in wässrige (kolloidale) Lösung gebracht werden können.

Man bereitet eine konzentrierte Carotinlösung, indem man getrocknete und fein geriebene Mohrrüben mit einer Mischung von Alkohol und Äther extrahiert. Der Äther wird entfernt. Es bleibt dann eine schöne, goldgelbe, völlig durchsichtige alkoholische Carotinlösung übrig. Auf einfachere Weise erhält man diese Lösung, wenn man Mohrrüben zuerst mit Alkohol kocht, wodurch sie Wasser, einen kleinen Teil ihres Carotins und ihre anderen Farbstoffe loslassen. Darauf werden sie in einem Rückflußkühler auf dem Wasserbad mit kochendem Alkohol extrahiert. Wenn man die alkoholische Lösung mehrmals mit Wasser verdünnt, so daß nur noch ein sehr geringer Alkoholgehalt in der Mischung übrigbleibt, dann bildet das Carotin keinen Niederschlag, sondern bleibt gelöst. Durch Eindampfen in vacuo (nötigenfalls bei leichter Erwärmung im Wasserbad) wurden die Alkoholreste, die noch übrig waren, so viel wie möglich entfernt. Auch dann bildet das Carotin keinen Niederschlag, sondern man behält eine kolloidale Lösung übrig. Konzentrierte kolloidale Lösungen des Carotins opalescieren, weniger konzentrierte sind klar.

Versucht man nun aber dieser kolloidalen Lösung das Carotin mittels Äther zu entziehen, so gelingt dies nicht. Man mag noch so stark schütteln, selbst nach 2 Stunden starken Schüttelns in einer Schüttelmaschine, es geht keine Spur des gelben Farbstoffs in den Äther oder das Benzin über. Sobald man aber der Mischung eine kleine Menge Alkohol zusetzt (z. B. auf 5 ccm kolloidale Carotinlösung + 3 ccm Äther, einige Tropfen Alkohol), tritt der Farbstoff sogleich und quantitativ in die obere Flüssigkeitsschicht über, während die untere Schicht ganz entfärbt wird und gewöhnlich etwas stärker opalesciert. Das sicherste Resultat erzielt man, wenn man zuerst den Alkohol zusetzt und nachher den Äther.

Ebenso wie das Mohrrüben-carotin können das Carotin aus Rinder- und Menschenserum und das Xanthophyll aus Hühnerserum und Eidotter auf gleiche Weise in wässrige, kolloidale Lösung gebracht werden. Letztere opalescieren stärker als die Carotinlösung aus Mohrrüben, am stärksten die Eidotter-Xanthophyll-Lösung. Sie laufen nichtsdestoweniger alle unverändert durch das Filter und die Opalescenz kann durch Entfernen der Fette (nach Verseifen) und des Cholesterins (Fällen mittels Digitonin) stark verringert werden. Schüttelt man diese wässrigen kolloidalen Lösungen mit Äther, so geht in diesen — genau wie bei dem Carotin aus *Daucus carota* — keine Spur Farbstoff über. Setzt man aber zuerst eine

kleine Menge Alkohol zu und schüttelt, dann tritt der Farbstoff wieder sofort und quantitativ in die Ätherschicht ein.

Dieselbe Wirkung hat die Hinzufügung von gewissen Salzen. Setzt man zur kolloidalen Lösung des Carotins einige Tropfen einer CaCl_2 -Lösung, oder noch besser eines Aluminiumsols zu, so kann man den Farbstoff sofort mit Äther ausschütteln. Die Wirkung dieser Salze beruht offenbar auf einer Ausflockung des Carotins, die nach längerem Stehen sichtbar wird. Aber schon die für das Auge nicht sichtbare Ausflockung der kleinsten Partikelchen macht dieselbe für den Äther erreichbar.

Nachdem wir in der uns zur Verfügung stehenden Literatur vergeblich nach einem ähnlichen Verhalten gesucht haben, fanden wir, daß Willstätter dieselbe Erscheinung bei wässrigen kolloidalen Lösungen von Chlorophyll wahrgenommen hatte. Er bereitete diese — ebenso wie wir die entsprechenden Lipochromlösungen — indem er einer alkoholischen Chlorophylllösung eine große Menge Wasser zusetzte und darauf den Alkohol in vacuo verdampfte. Mittels Äther gelang es ihm dann nicht, das Chlorophyll aus der wässrigen Lösung zu extrahieren. Wohl aber ging der grüne Farbstoff sofort in den Äther über, wenn er der wässrigen Lösung eine kleine Menge Lauge zugesetzt hatte. Willstätter hat nicht untersucht, ob auch einige Tropfen Alkohol „befreiend“ wirken. Er erklärt die Wirkung, wie wir es vorher dargelegt haben. Die Wirkung des Alkohols muß aber eine andere sein. In diesem Falle ist ja von „Ausflockung“ keine Rede. Eher müßte der Alkohol, wenigstens bei Zusatz einer hinreichenden Menge, die kolloidale Lösung in eine echte Lösung verwandeln.

Eine Erklärung der Erscheinung vermögen wir nicht zu geben. Wir glauben aber in ihr eine Analogie sehen zu dürfen zu einer anderen, früher von uns beobachteten Erscheinung. Beim Studium der Gallenfarbstoffe hatten wir wahrgenommen, daß das Bilirubin, sowie es sich in der Galle und im Blutserum von Personen, die an Stauungsikterus leiden, vorfindet, direkt und vollkommen imstande ist, mit Diazoniumsalzen zu koppeln.

Nimmt man aber dieselbe Reaktion im Blutserum solcher Patienten vor, die an jenem Zustand leiden, den man früher hämatogenen Ikterus nannte, dann kommt die Reaktion verspätet und unvollständig zustande. Die Koppelung findet jedoch auch hier sofort und vollkommen statt, sobald man eine kleine Menge Alkohol zusetzt.

Man wird zu der Annahme geführt, daß das Bilirubin im Serum bei Stauungsikterus und in Gallenblasengalle sich in einem andern Zustand befindet als im Serum bei hämatogenem Ikterus. Im letzteren Fall scheint es, als ob die Bilirubinpartikelchen nicht imstande seien, mit der Diazoniumlösung in Berührung zu kommen, hierzu jedoch durch die Einwirkung kleiner Mengen

Alkohol in den Stand gesetzt werden. In dieser Hinsicht verhält sich also das Bilirubin im Serum bei hämatogenem Ikterus ebenso wie das Lipochrom im Rinderserum, oder in der wässrigen kolloidalen Lösung. Das übereinstimmende Verhalten einer wässrigen, kolloidalen Carotinlösung mit jenem des nativen, Lipochrom enthaltenden Rinderserums ließ vermuten, daß das Carotin auch im Serum sich vielleicht in kolloidalem und gleichartigem Zustand befinde. Diese Vermutung erwies sich aber als unrichtig: Die wässrige, kolloidale Lösung wird ja durch die obengenannten Stoffe (NaOH, Al.-sol usw.) ausgeflockt, so daß das Lipochrom mit Äther ausgeschüttelt werden kann. Setzt man dagegen jene Reagenzien dem nativen Serum zu, dann tritt der Farbstoff nicht in den Äther ein.

Ein anderer wichtiger Unterschied zwischen dem nativen, lipochromhaltigen Serum und der künstlichen kolloidalen Lösung ist ihre Empfindlichkeit gegen Licht. Ältere Untersuchungen haben gezeigt, daß das Carotin aus *Daucus carota* (nach späteren Untersuchungen gilt dasselbe für das Xanthophyll), wenn es dem Sonnenlicht ausgesetzt wird, unter Aufnahme von Sauerstoff verblaßt und nach einiger Zeit die Farbe ganz verliert. Die wässrigen Lösungen verloren, der Quarzlampe in kurzer Entfernung ausgesetzt, nach 15—90 Minuten die Farbe, je nachdem es Lipochromlösungen aus Eidotter oder solche aus *Daucus carota* betraf. Im Gegensatz hierzu wurden unter solchen Umständen die nativen Stoffe (Eidotter, Mohrrüben, Rinderserum) nicht entfärbt. In der Empfindlichkeit gegen Licht besteht also ein zweiter Unterschied zwischen der nativen Lipochromlösung und den kolloidalen, wässrigen Lösungen.

3. Quantitative Schätzung des Lipochroms im Serum und in tierischem und pflanzlichem Gewebe.

Für die Untersuchung nach der Bedeutung der lipochromen Pigmente ist es nötig, diese quantitativ bestimmen zu können. Vorläufig war uns dies nur auf colorimetrischem Wege und nur annäherungsweise möglich. Im Blutserum geschieht diese quantitative Schätzung folgendermaßen: 1—2 ccm Serum werden mit einer gleichen Menge 96proz. Alkohol gefällt. Die Flüssigkeit wird zentrifugiert, der Niederschlag mit 1—2ccm Äther extrahiert. Man erhält auf solche Weise eine Lipochromlösung in Äther

von der gleichen Konzentration wie im ursprünglichen Serum. Bei hohem Gehalt wurde der Niederschlag noch einmal mit einer gleichen Menge Äther extrahiert, so daß der abgelesene Gehalt also mit 2 multipliziert werden mußte.

Findet sich viel Bilirubin im Serum vor, so wird der ätherische Extrakt mit einigen Tropfen sehr verdünnter Natronlauge gewaschen. Verglichen wurde mit $\frac{1}{24}$ proz. Kaliumbichromatlösung mit Hilfe des Colorimeters von Hellige.

Den Lipochromgehalt von Pflanzenteilen und von tierischen Geweben bestimmten wir auf folgende Weise:

Pflanzenteile wurden mit Alkohol gekocht, nachher in einem Mörser mit Alkohol und Äther zu farblosem Extrakt verrieben. Der Extrakt wurde filtriert, alsdann durch Hinzufügung von Wasser der Farbstoff in Äther übergeführt. Andere Farbstoffe als die Lipochrome blieben bei dieser Behandlung in der unteren, verdünnt-alkoholischen Schicht. Die untere Schicht wird nötigenfalls noch einmal mit Äther extrahiert, die ätherischen Extrakte durch vorsichtiges Eindampfen auf eine hinreichende Farbenintensität gebracht. Durch einige Tropfen absoluten Alkohols erhält man einen klaren ätherischen Extrakt. Von diesem mißt man nun Volumen und Farbintensität. Hat man a Gramm Pflanzenteile, b Kubikzentimeter Extrakt mit einer Farbe von c Prozent der Normalfarbe, dann ist der Gehalt: $\frac{cb}{100a}$.

Die Farbe wird also berechnet, als ob man 1 g Stoff völlig extrahiert hätte zu 1 ccm ätherischen Extrakt; der Gehalt gibt dann an, wievielmals diese Farbe stärker ist als unsere Normalfarbe.

Tierische Gewebe werden fein geschnitten und in zwei Teile geteilt. Von dem einen Teil wird eine Wasserbestimmung gemacht, indem man ihn mit getrocknetem Seesand auf dem Wasserbad oder im Trockenschrank (105°) zu konstantem Gewicht trocknet. Der zweite Teil wird mit Alkohol und Äther verrieben und von dem so erhaltenen Material, ebenso wie bei den Pflanzen, der Gehalt bestimmt. Der Gehalt tierischer Gewebe wird gewöhnlich für 1 g trocknen Stoffes bestimmt. Bei Fett tritt eine Fettbestimmung an die Stelle der Wasserbestimmung. Dabei wird also der Gehalt auf 1 g reines Fett berechnet.

Die bei diesen Bestimmungen angewandte Methode ist ziemlich wenig genau; wenn die Untersuchung von kleinen Mengen Rohstoff ausgeht, werden geringe Mengen Lipochrome vielleicht der Beobachtung entgehen. Finden wir von 10 ccm Rinderserum ausgehend 3 Carotin und 0 Xanthophyll, so ist demnach wohl möglich, daß beim Verarbeiten großer Mengen Serum noch Spuren Xanthophyll nachgewiesen werden könnten (Palmer).

Es sei hier ferner ein für allemal darauf hingewiesen, daß in unseren Pigment-Lösungen die Lipochrome sich nicht in chemisch reinem Zustande vorfanden, sondern daß wir nur bestrebt waren, die Hauptmasse der Begleitstoffe (Eiweiß, Fette, Cholesterin) zu entfernen.

Bei diesen Bestimmungen haben wir ferner vorausgesetzt, daß die beiden Gruppen Lipochrom (Carotin und Xanthophyll) in gleicher Konzentration eine gleiche Farbe und Farbenintensität haben, und daß diese bei Verdünnung regelmäßig abnimmt. Nach Willstätters Untersuchungen ist diese Voraussetzung nicht zutreffend. Bei den starken Verdünnungen, die wir gebrauchten, glaubten wir den gemachten Fehler außer acht lassen zu dürfen. Schließlich muß noch auf die Notwendigkeit hingewiesen werden, bei derartigen Untersuchungen stets das gleiche Lösungsmittel anzuwenden, da die Farbe einer gleichen Menge eines bestimmten Lipochroms in verschiedenen Lösungsmitteln (z. B. Äther und Schwefelkohlenstoff) sehr verschieden ist.

Nachstehende Tabelle gibt den Lipochromgehalt einiger Nahrungsmittel an. Die gefundenen Werte sind Durchschnittswerte; bei mehreren Proben eines gleichen Stoffes weichen die Werte oft stark voneinander ab.

Tabelle I.

Lipochromgehalt einiger Nahrungsmittel (Durchschnittswerte).

	Xanthophyll	Carotin	Total
Salat	2,9	0,76	3,66
Mohrrüben	0	2,5	2,5
Spinat	15,3	4,4	19,7
Eidotter	27,5	0	27,5
Das Weiße des Eies	0	0	0
Rinderserum	0	3	3
Hühnerserum	3	0	3
Reis	?	?	Spur
Weißbrot	Spur	Spur	0,3
Braunbrot	Spur	Spur	0,27
Milch	0	0,9	0,9
Buttermilch (selbst gebuttert)	0	Spur	0,01—0,02
Butter	0	2,1	2,1
Rindfleisch (mager)	0	0,08	0,08
Rindfleisch (fett)	0	0,16	0,16
Kartoffel	?	?	0,2—0,5
Blumenkohl	?	?	0,3
Mais	6,7	1,6	8,3
Rüben	0	0	0

4. Der Lipochromgehalt des Blutserums und seine Beeinflussung durch die Ernährung.

Wir erwähnten bereits, daß verschiedene Beobachtungen aus neuerer Zeit den Einfluß nachgewiesen haben, den die Ernährung auf den Lipochromgehalt des Blutserums ausübt. Höchst wichtige Untersuchungen Palmers haben dies, insofern es Tiere betrifft, mit Sicherheit bewiesen. Palmer wies nach, daß das Körperfett, das Milchfett und das Blutserum der Rinder

ein Pigment enthalten, welches mit dem Carotin identisch ist. Das Körperfett, das Blutserum und der Eidotter der Hühner enthalten ein Pigment, das völlig mit dem Xanthophyll übereinstimmt. Füttert man nun Rinder mit pigmentloser (oder äußerst pigmentarmer) Nahrung, so verringert sich der Carotingehalt des Serums und der Milch beträchtlich. Ebenso wird der Eidotter sehr blaß und verliert das Blutserum sein Pigment, wenn man Hühnern ein xanthophyllarmes Futter verabreicht.

Gibt man ferner Rindern eine Nahrung, welche einen Überfluß an Xanthophyll, aber kein Carotin enthält, dann ist das Ergebnis das gleiche wie bei pigmentloser Fütterung. Dasselbe geschieht, wenn man Hühnern reichlich Carotin gibt, ihnen aber das Xanthophyll entzieht. Hieraus geht hervor, daß Rinder und Hühner, was die Resorption der lipochromen Pigmente betrifft, spezifisch eingestellt sind, die einen auf Carotin, die anderen auf Xanthophyll. Zudem geht aus diesen Versuchen der alimentäre Ursprung beider Pigmente im Organismus der Rinder und der Hühner hervor. Jedoch sei bereits hier bemerkt, daß es Palmer bei seinen Versuchen nicht gelang, Serum oder Eidotter ganz pigmentlos zu bekommen.

Wir selbst haben ebenfalls den Einfluß des Nahrungslipochroms auf den Lipochromgehalt des Blutserums beim Menschen nachweisen können. Schon im Jahre 1913 hat Herr Berg im Laboratorium der Groninger Klinik unveröffentlichte Versuche angestellt, welche die nachstehenden Schlußfolgerungen ergaben:

1. Der Lipochromgehalt des Blutserums ist bei Diabetes zuweilen, aber nicht immer, höher als normal.

2. Es gibt keine Krankheit, bei welcher der Lipochromgehalt des Serums konstant auffallend hoch oder niedrig ist.

3. Der Lipochromgehalt des Blutes hängt von dem der Nahrung ab. Er nimmt (Versuche an Herrn Berg selbst) stark ab nach einer 10 tägigen Ernährung mit abgerahmter Milch, farblosem Mehl und Reis. Nach einer Ernährung mit gemischter Kost und viel Eiern steigt der Lipochromgehalt bis zu einem Wert, der höher ist, als vor dem Versuch.

4. Hühner haben einen hohen Serum-Lipochromgehalt. Setzt man sie einige Zeit auf lipochromarme Diät, dann verschwindet das Lipochrom ganz aus dem Serum.

5. Kühe, auf der Weide geben Milch, die viel reicher an Lipochrom ist, als bei Stallfütterung (Verwandschaft der Farbstoffe des Grases mit denen des Blutserums). Auch das Blutserum dieser Rinder enthält mehr Lipochrom als das der Stallkühe.

Diese vorläufigen, nicht veröffentlichten Versuche fanden in der großangelegten Arbeit Palmers an Tieren ihre Bestätigung.

Die Untersuchung des Herrn Berg war nur von vorläufiger Art. Wir haben sie fortgesetzt, indem wir bei etwa 12 Personen das Blutserumpigment bestimmten, und zwar zuerst bei Verabreichung gewöhnlicher, gemischter Krankenhausnahrung und dann zum zweitenmal nach 14tägigem Gebrauch einer Diät, die sehr reich an Gemüsen und Eiern war. Die folgende Tabelle enthält eine Übersicht der erhaltenen Resultate:

Tabelle II.

	gewöhnliche Nahrung	lipochromreiche Nahrung
Nr. 1	0,25	1,08
„ 2	0,17	0,45
„ 3	0,42	1,34
„ 4	0,34	0,86
„ 5	0,21	0,54
„ 6	0,16	0,65
„ 7	0,21	0,42
„ 8	0,19	0,70
„ 9	0,41	0,92
„ 10	0,8	1,24
„ 11	0,52	0,74
„ 12	0,2	0,96
„ 13	0,08	0,4
derselbe	—	0,56 (nach weiteren zwei Wochen)

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß eine lipochromreiche Nahrung das eine Mal eine beträchtliche, das andere Mal eine geringere Zunahme des Serum-Lipochroms veranlaßt. Früher hatten wir, wie schon erwähnt, bei Diabetes oft hohe Werte gefunden. Vergleicht man nun die Ziffern der Tabelle II mit denen der Tabelle III, in welcher der Serumlipochromgehalt bei 15 Diabetesleidenden angegeben ist, dann zeigt sich, daß die starke und eigenartige Ernährung, die bei Zuckerkrankheit häufig angewandt wird, namentlich der Genuß von viel Blattgemüsen, Eiern und Butter, zu einem guten Teil die hohen Werten und die Xanthose

Tabelle III.

Serum-Lipochrom bei 15 an Zuckerkrankheit Leidenden.

1. 1,3	4. 0,82	7. 0,7	10. 0,72	13. 0,95
2. 0,9	5. 0,95	8. 1,9	11. 1,3	14. 0,75
3. 0,54	6. 0,8	9. 0,85	12. 0,9	15. 0,45

zu erklären imstande ist. (Vgl. die früher bereits genannten Untersuchungen von Bürger und Reinhart, Salomon, Hess und Meyers.)

Wir stellten ferner fest, daß sowohl beim Genuß von viel Mohrrüben (Carotin) als von viel Eiern (Xanthophyll) der Lipochromgehalt stieg. Der Mensch ist also, wie sich auch im folgenden zeigen wird, imstande, beide Pigmente aus der Nahrung aufzunehmen, im Gegensatz zur Kuh und zum Huhn.

5. Der Lipochromgehalt des Fettes, der Leber, der Milz und der Nebenniere beim Menschen.

Fremde und eigene Untersuchungen hatten also bisher den Nachweis geliefert, daß die Ernährung großen Einfluß auf den Lipochromgehalt des Serums ausübt. Nunmehr wünschten wir auch den Lipochromgehalt der verschiedenen Organe oder Gewebe miteinander zu vergleichen. Tabelle IV gibt eine Übersicht über einige zu diesem Zweck von uns vorgenommene Untersuchungen. Infolge äußerer Umstände wurde diese Untersuchung nicht so vollständig, wie wir gewünscht hätten. Namentlich bedauern wir, daß bei den meisten Fällen der Lipochromgehalt des Blutserums unbekannt ist.

Trotz der Unvollständigkeit der Untersuchung gestattet die Tabelle IV doch einige Schlußfolgerungen.

1. Der Lipochromgehalt der verschiedenen Gewebe ist sehr verschieden. Das Blut ist am ärmsten an diesem Pigment, auch wenn man seine Menge auf trockenen Stoff berechnet, wobei der Wassergehalt auf ungefähr 80% angenommen werden dürfte. Am reichsten an Lipochrom ist die Nebenniere; dann folgt gewöhnlich die Leber (in einzelnen Fällen enthielt das Fett mehr Pigment als die Leber), dann folgen Fett und Milz. Von den beiden letzteren enthielt das eine Mal das Fett, das andere Mal die Milz mehr Farbstoff.

Der große Lipochromreichtum der Nebenniere und der Leber beweist, daß diese Organe ihren Farbstoff nicht einfach der Ablagerung des gefärbten Körperfetts in ihre Gewebe verdanken. Es muß eine elektive Affinität dieser Gewebe für Lipochrom vorliegen.

2. Von einer einzigen Ausnahme abgesehen (Nr. 6) wurden auch in den Fällen, bei welchen im Blut kein Lipochrom nach-

Tabelle IV.

Nr.	Geschlecht	Alter Jahre	Diagnose	Lipochromgehalt in					
				Blut- serum	Fett (feucht)	Fett (trocken)	Neben- niere (trocken)	Leber (trocken)	Milch (trocken)
1	♂	54	Appendicitis, multiple Abszesse in d. Leber	0,38	1,5	2	19		
2	♀	8	Meningitis tuberculos.	0	1,1	1,3	10		
3	♀	53	Cirrhosis hepat. Laë- nec, Insuff. mitral.	0,07	1,2	3,5	1,1		
4	♂	51	Akute Myeloblasten- leukämie	0,11	1,3	1,9	19,5		
5	♂	10	Endocarditis acuta	0,12	1,7	2,2	12,8		
6	♀	8	Tuberculos. pulmon.	0	0	0	0		
7	♂	52	Aortitis, stenosis ost. aortae, Insuffic. mitr.	0,09	1,3	2,4	28		
8	♂	15	Peritonitis tuberculosa	0	1,5	3,9	7,3		
9	♀	?	?	0,23	2,1	3,4	3,9		
10	♀	2 ¹ / ₂	Tuberculos. pulmon.	?	1,8	?	11,5		
11	♀	81	Myodegeneratio cordis	0,14	2,7	4,3	22		
12	♀	61	Nephrolith., Spondylit.	0,04	2,1	?	11,6		
13	♀	62	Insufficiencia aortae, Tabes dorsalis	0,11	3,7	7	20		
14	♀	?	Tuberculos. pulmon.	0,12	2,9	5,2	?	3,5	3,7
15	♀	24	Volvulus, Peritonitis	?	3,5	4,7	41	10	14
16	♀	?	Diabetes	0,18	0,9	4,8	8,3	8	5,4
17	♀	?	Carcinoma ventriculi	0,14	10	13,6	29	8,6	1,1
18	♀	?	Coma diab., Paranephr.	?	2	2,2	28	13	9
19	♀	?	Tuberculos. pulmon.	?	2	?	18	?	1,3
20	♀	?	Sepsis, Neph. parench.	?	3	4,2	31	6	1,2
21	♀	?	Tuberculos. pulmon.	?	3	?	7	?	1,6
22	♀	?	Atrophische Leber- cirrhose, Sepsis	?	3,7	8	32	14,6	5
23	♂	?	Diabetes, Nephritis	?	3,7	5,5	56	14,8	14
24	♂	?	Aleukäm. Leukämie (Aleukia)	?	2,6	3,6	52	12	2
25	♂	?	Nephrit. chron., Sepsis	?	1,3	2	10,5	3,4	0,7
26	♀	?	Tuberculos. pulmon.	?	2,1	4	9,6	4,4	1,1
27	♀	?	Pneumonia crouposa	?	10	42	34	8	3
28	♀	?	Tuberculos. pulmon.	?	7,6	11,4	23	5	1,8
29	?	?	Diabetes	?	4,2	7,5	29	10,5	6,3
30	♀	?	Diabetes	?	3	?	14	4,4	?
31	♀	?	Gangraena pulmonum	?	1,3	?	8	6,1	1,5
32	♂	?	Pleuritis tuberculos., Arteriosclerosis	?	?	?	22,6	3,2	0
33	♀	?	Tuberculos. pulmon.	?	3,4	5,4	10	2,2	1,2
34	♀	25	Phthisis	0	22,5	?	20,6	9	2,3
35	♀	65	Tuberculos. peritonei	0	1,5	1,8	27	8,4	1,9
36	♀	80	Pneumonie	0,18	6,7	?	27	10	3,1
37	♀	56	Pneumonie	0,55	5,4	?	25	22	3,5
38	♀	11	Lungenabsceß	0,14	2,2	3,0	17	8	2,2
39	♀	42	Ulcus ventric.	0	?	6,0	38	9,7	5,5
40	♀	13	Phthisis	0	?	13	14,5	10	4,1
41	♀	54	Carcinom. uteri	0	?	3	17,5	7,5	2,7
42	♀	?	(Foetus)	?	?	?	Spur	0,9	0
43	♀	?	(Foetus)	?	0	0	+	+	Spur

gewiesen werden konnte, in den Organen immer noch beträchtliche Mengen Pigment vorgefunden. Um ein einziges Beispiel zu nennen: Bei dem Patienten Nr. 40 war ein hoher Wert für die Nebenniere vorhanden, während das Blut fast pigmentfrei war. In anderen Fällen (z. B. Nr. 3) findet man in allen Geweben niedrige Werte, im Fall 6 sogar fast nichts. Es läßt sich keine Beziehung im Lipochromgehalt der verschiedenen Gewebe entdecken.

Soweit bis jetzt bekannt, muß ein geringer Lipochromwert des Blutes dem Genuß lipochromarmer Nahrung zugeschrieben werden. Aus dem Umstande, daß wir oft neben niedrigen Blutpigmentwerten normale oder hohe Organwerte finden, geht hervor, daß diese Organe (namentlich die Leber und die Nebenniere) beim Genuß lipochromreicher Nahrung den Farbstoff hartnäckig festhalten.

3. Es ist nicht möglich, einen Zusammenhang zwischen der Art der Krankheiten und dem Lipochromreichtum des Blutes oder der Gewebe zu entdecken. Die hohen Werte bei Diabetes erklären sich jedenfalls größtenteils aus der eigenartigen Ernährung.

4. Das Steigen des Pigmentspiegels im Blut bei lipochromreicher Nahrung, das Fallen bei pigmentarmer Nahrung gestattet den Schluß, daß der Organismus diese Farbstoffe dem Pflanzenreich entnimmt (evtl. indirekt durch Genuß tierischer Nahrung, die das Vorhandensein dieser Lipochrome ebensowohl dem Pflanzenreich verdankt). Bei der Ernährung nimmt das Blut diese Pigmente auf und lagert sie in die Gewebe ab. Was diese damit machen, ist bisher noch völlig unbekannt. Man könnte sich denken, daß Fett, Leber, Nebenniere und Milz diese Pigmente bis ins Unendliche aufstapeln. Das ist aber sehr unwahrscheinlich, denn in diesem Fall müßten bei älteren Personen in Anbetracht der beträchtlichen Mengen, welche täglich aufgenommen werden, die Lipochrommassen in den Geweben zu unbegreiflich hohen Werten steigen. Da man bei älteren Personen aber gar keine exzessive Werte findet, ist man zu der Annahme gezwungen, daß das lipochrome Pigment den Körper auf irgendeine Weise verläßt oder in ein Derivat umgesetzt wird, das wir vorläufig noch nicht nachzuweisen imstande sind. Wir verfügen über eine Beobachtung, die diese Vermutung einigermaßen stützt. Bei

einem Patienten, der an akuter, gelber Leberatrophie nach einer Krankheit von wenigen Tagen starb, und bei welchem die Autopsie eine akute Leberatrophie (rotes Stadium) nachwies, fanden wir in der Leber keine Spur Lipochrom.

Wir haben bisher weder in der Galle noch im Urin normaler Menschen, auch solcher mit hohem Serum-Lipochromgehalt, Carotin oder Xanthophyll nachweisen können. Zwar ist Hess und Myers²⁰⁾ solches gelungen, im Experimente sowohl wie beim Menschen. Das Experiment ist nicht genau beschrieben: Nach subcutaner Einspritzung eines Extraktes aus einer Mohrrübe (*Daucus carota*) in Olivenöl nahm der Urin eine dunklere Farbe an, und ein Petroläther-Extrakt war deutlich gefärbt (an extract of definite colour was thus obtained). Eine Identifizierung des Pigmentes scheint nicht vorgenommen zu sein. Ferner wurde einem Kind von 1½ Jahr ein Extrakt von Mohrrüben per os verabreicht in einer Menge, die dem Pigmentgehalt von 3 Pfund Mohrrüben entsprach. Ein anderes Kind gleichen Alters erhielt zweimal soviel. Der Urin dieser Kinder war nach dem Versuch gelb gefärbt. Es wird nicht erwähnt, ob Identifizierung des Pigmentes stattgefunden hat. Aber auch davon abgesehen, ist es einleuchtend, daß diese Experimente mit außerordentlich großen Pigmentmengen über die physiologische Ausscheidung der Lipochrome beim Menschen nichts aussagen.

6. Der Lipochromgehalt des Blutes und der Gewebe bei einigen Tieren.

Palmer hat das Blutserum verschiedener Tiere auf Lipochrompigment untersucht. Wir haben außer dem Blut auch die Organe einiger Tiere untersucht, wobei wir die folgenden Resultate erhielten:

Mensch. Das Blutserum enthält gewöhnlich nachweisbare Mengen Lipochrom; nur selten fehlt es ganz. Im Sommer ist der Gehalt durchschnittlich größer als im Winter (Einfluß der Ernährung mit grünen Pflanzenteilen). Im vorhergehenden wurden einige Zahlen betreffs des Gehaltes an totalem Lipochrom (Xanthophyll und Carotin) mitgeteilt. Als Durchschnitt darf bei gewöhnlicher Kost 0,2—0,3 nach unserem Maßstab gemessen, angenommen werden. Auch wurde schon darauf hingewiesen, daß, im Gegensatz zur Kuh und zum Huhn, der menschliche Organismus sowohl Xanthophyll als Carotin resorbiert. Das Verhältnis der Mengen der beiden Pigmente im Blutserum ist bei verschiedenen Personen verschieden. Fast immer überwiegt das Carotin, bald in größerem, bald in geringerem Maße. Oft ist das Verhältnis Carotin : Xanthophyll ungefähr 3 : 1; einigemal fanden wir gleiche Mengen.

Auch in den Geweben überwiegt gewöhnlich das Carotin, zuweilen fehlt das Xanthophyll nahezu ganz. Manchmal findet man aber auch von beiden Pigmenten fast gleiche Mengen.

Schwein. Das Blutserum, das Fett (Speck) enthalten kein Pigment. Auch in den Corpora lutea (müßten also heißen: alba) konnte ich kein Pigment nachweisen. Leber und Milz enthielten kleine Mengen, die Leber mehr als die Milz. In der Leber fanden wir meistens gleiche Mengen Carotin und Xanthophyll.

Die Nebennieren enthielten nur Spuren.

Pferd. Das Pferdeserum zeichnet sich, wie allgemein bekannt, durch eine schöne, goldgelbe Farbe aus. Diese verdankt es größtenteils dem Bilirubin. Dennoch enthält das Serum auch Lipochrom in sehr verschiedener Menge; bald nur Spuren, ein andermal, wenn die Tiere auf Weide gewesen sind, beträchtliche Mengen. Wir fanden nur Carotin.

Auch das Körperfett des Pferdes ist gewöhnlich stark gelb gefärbt. Wir untersuchten in drei Fällen den Farbstoff dieses Fettes und das Blut dieser selben Pferde. Während nun in allen diesen drei Fällen das Blut Bilirubin und nur äußerst wenig Lipochrom enthielt, war in dem Fett ausschließlich Lipochrom und gar kein Bilirubin vorhanden. Auch Leber, Milz und Nebenniere enthielten Carotin.

Cavia. Das Blutserum enthält kein Pigment. Leber und Milz enthalten ein wenig Xanthophyll. Die Nebenniere enthält viel Carotin.

Kaninchen. Das Blutserum enthält keine oder nur geringe Spuren Pigment. Die Leber enthält ein wenig Pigment, fast ausschließlich Carotin. Milz und Fett enthalten kein oder nahezu kein Pigment, die Nebenniere zuweilen ein wenig Carotin.

Hund. Das Blutserum enthält kein Pigment. Die Leber enthält Carotin, die Milz kein oder nahezu kein Pigment, die Nebenniere ein wenig.

Aus dieser unvollständigen Untersuchung geht hervor, daß die Tiere sich hinsichtlich der Lipochrome sehr verschieden verhalten. Manche nehmen wenig Lipochrome aus der Nahrung auf, andere größere oder kleinere Mengen. Mit Ausnahme der Hühner, die ausschließlich Xanthophyll resorbieren, nehmen die meisten Tiere mit Vorliebe Carotin auf, das Xanthophyll entweder nicht, oder in viel geringerem Maße. Wenn das Blut frei von Lipochrom ist, so beweist dies doch nicht, daß kein Pigment aufgenommen wird. Auch bei Tieren, deren Blutserum farblos ist, fanden wir immer Lipochrom, sei es auch in geringer Menge, in der Leber. Dies gilt auch für den menschlichen Foetus, bei dem sich zeigte, daß die Leber geringe Mengen Pigment (Xanthophyll) enthielt.

7. Resorption und Deposition des Lipochroms.

Aus den bisherigen Untersuchungen kommt man zu dem Schluß, daß die resorptive Funktion des Darmkanals die Aufnahme der Lipochrome beherrscht. Diese werden in die Leber geleitet und an erster Stelle dort abgelagert. Die Überführung

in andere Organe und die Ablagerung in die verschiedenen Gewebe erfolgt nach Regeln, die wir noch nicht übersehen können. Nur so viel ist sicher, daß es sehr spezielle Affinitäten gibt, welche die Ablagerung der Lipochrome in die verschiedenen Gewebe beherrschen, und die bei verschiedenen Tierarten, und einigermaßen auch bei verschiedenen Rassen und Individuen verschieden sind. Es bestehen sogar bei verschiedenen Individuen Unterschiede der Bevorzugung hinsichtlich des Carotins und des Xanthophylls. So enthielt bei einem Patienten das Fett nur Carotin, die Leber und die Nebenniere enthielten jedoch nahezu gleiche Mengen Carotin und Xanthophyll. Ein anderer Fall zeigte gerade das entgegengesetzte Verhalten. Leber und Nebenniere enthielten keine Spur Xanthophyll, das Fett gleiche Mengen Xanthophyll wie Carotin. Auch bei den verschiedenen Rinderrassen ist der Carotinreichtum des Blutserums, des Körperfetts und der Milch, auch unter gleichen Ernährungsumständen, verschieden (Palmer).

Wie wir schon hervorhoben, hängt die Aufnahme der Lipochrome davon ab, ob sie im Darm resorbiert werden können oder nicht. Man könnte sich daher vorstellen, daß die Bindung des Pigments im Nahrungsmittel auf die Resorption Einfluß ausübe; z. B. in der Weise, daß im Darm des Huhnes das Xanthophyll wohl aus seiner Verbindung gelöst werden könne, das Carotin aber nicht, und daß beim Rind das Umgekehrte der Fall sei. Dieser Annahme widersprechen aber die folgenden Beobachtungen:

a) Bei Kaninchen, die gefastet haben, brachten wir 10 Tage lang täglich mittels der Sonde eine kolloidale, wässrige Lösung von Xanthophyll (aus Eidotter bereitet) in den Magen. Alsdann wurden die Tiere getötet. Leber, Milz, Nebenniere, Fett und Blutserum wurden untersucht. Nur in der Leber und der Nebenniere wurde Pigment vorgefunden; dies war ausschließlich Carotin, und in der gleichen Menge, wie wir sie zu finden bei Tieren gewöhnt waren, die während der gleichen Zeit auf gleiche Weise gefüttert worden waren ohne Verabreichung der Xanthophylllösung.

b) Derselbe Versuch wurde gemacht, diesmal jedoch unter Verabreichung einer wässrigen, kolloidalen Carotinslösung mittels der Sonde. Leber, Milz und Nebenniere enthielten diesmal sehr viel Carotin.

Hieraus geht hervor, daß der Darmkanal des Kaninchens sich hinsichtlich der wässrigen Lösungen von Xanthophyll und Carotin genau so verhält wie den nativen Pigmenten gegenüber.

Das regelmäßige Vorkommen der Lipochrome in der Leber, auch bei Tieren, deren andere Gewebe keine oder fast keine Carotinoide enthalten, kann aus der Funktion der Leber erklärt werden, die im Darmkanal aufgenommenen Stoffe zuerst festzuhalten, um sie später auf irgendeine Weise und in kleinen Mengen auszuscheiden oder abzubauen. Es wäre aber auch möglich, daß das Lebergewebe eine spezielle Affinität für diese Pigmente habe. In der Absicht, dies zu untersuchen, haben wir sechs Kaninchen während 1—2 Wochen auf lipochromarme Diät gesetzt; darauf wurde intravenös (in die V. jugularis) eine wässrige kolloidale, roh gereinigte Lipochromlösung eingespritzt. Drei Kaninchen bekamen eine Xanthophylllösung (aus Eidotter bereitet) drei andere bekamen Carotin (aus Mohrrüben). Zu verschiedenen Zeiten nach Beendigung der Einspritzung wurden die Tiere getötet und die Organe untersucht.

a) Versuche mit intravenöser Einspritzung kolloidaler Carotinslösung. Die Leber enthielt in allen Fällen reichlich Pigment, viel mehr als bei normalen Kaninchen vorgefunden wird; in 2 Fällen enthielt auch die Milz ziemlich viel Lipochrom. Dies Lipochrom war in allen Fällen ausschließlich Carotin.

b) Versuche mit intravenöser Einspritzung kolloidaler Xanthophylllösung. Die Leber dieser Kaninchen enthielt reichlich Pigment, viel mehr als bei normalen Kaninchen vorgefunden wurde. Bei der Bestimmung der Art dieses Lipochroms zeigte es sich, daß nur eine kleine Menge aus Carotin bestand, derjenigen Menge gleich, die auch bei normalen Kaninchen in der Leber vorkommt; während die große Masse des Pigments aus Xanthophyll bestand.

Eins dieser Kaninchen wurde bereits eine halbe Stunde nach Beendigung der Einspritzung getötet; im Blut war keine Spur Xanthophyll mehr zu finden.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. daß Lipochrom, bei Kaninchen intravenös in die Vena jugularis eingespritzt, binnen sehr kurzer Zeit das Blut verläßt und so gut wie vollständig in der Leber (nur zu einem sehr kleinen Teil in der Milz, ein einzelnes Mal auch in der Nebenniere) abgelagert wird;

2. daß das Lebergewebe beim Kaninchen imstande ist, sowohl Xanthophyll als Carotin in sich aufzunehmen;

3. die Leber reißt also nicht nur das ihr mit dem Porta-strom zugeführte Lipochrom an sich, sondern auch das im großen Kreislauf zirkulierende Pigment.

8. Die Bedeutung der lipochromen Pigmente.

Die Carotinoide kommen im Pflanzenreich in großer Verbreitung vor. Nach Arnaud beträgt die Menge dieser Lipochrome in grünen Blättern ein bis zwei Tausendstel des trocknen Gewichts. Diese verhältnismäßig großen Mengen legen die Vermutung nahe, daß die Carotinoide beim Stoffwechsel der Pflanze eine wichtige Rolle spielen. Diese Vermutung wird bestärkt durch die konstanten Gewichtsverhältnisse, die zwischen Carotinoiden und Chlorophyll und zwischen Carotin und Xanthophyll wechselseitig zu bestehen scheinen (Willstätter). Indessen ist über die physiologische Wirkung der Lipochrome noch nichts bekannt. Weder die zuerst von Arnaud aufgestellte Hypothese, nach der die Carotinoide bei der Atmung eine Rolle spielen sollen, noch die Annahme, daß sie an dem Assimilationsprozeß teilnehmen, eine Vermutung, die Engelmann²⁶⁾ zuerst aussprach, werden von den neueren Forschern für wahrscheinlich gehalten. Vielleicht besteht im Pflanzenreich ihre Aufgabe darin, Zellenzyme gegen die zerstörende Wirkung des Lichts zu schützen (Went)²⁸⁾. Bestimmtes wissen wir hierüber aber nicht.

Über die physiologische Bedeutung der Lipochrome im tierischen Organismus, in dem sie erst seit sehr kurzer Zeit genauer untersucht wurden, ist ebensowenig etwas bekannt.

Man könnte auch hier vermuten, daß die Lipochrome als Atmungspigment Dienste leisteten, so wie Arnaud sich das bei der Pflanze vorgestellt hatte. Bei näherer Betrachtung verliert diese Annahme jedoch ihre Wahrscheinlichkeit. Arnaud kam zu dieser Hypothese durch die Eigenschaft des Carotins (und spätere Untersuchungen lehrten dasselbe für das Xanthophyll), unter dem Einfluß des Lichts (langsamer im Dunkeln) sich zu entfärben unter Aufnahme von Sauerstoff. Durch Wiegen stellte er fest, daß das Carotin dabei die zweihundertfache Menge Sauerstoff aufnimmt. An dieser Beobachtung Arnands ist nicht zu zweifeln. Sehr schön kann man dieses Verhalten gasometrisch verfolgen. Nichtsdestoweniger besitzen die Carotinoide keineswegs die Eigenschaften eines Atmungspigments, wie man sie beim Hämoglobin antrifft. Letztgenannter Farbstoff nimmt gierig Sauerstoff aus der Luft auf, gibt diesen aber ebenso leicht an reduzierende Körper (Ferro- oder Stannoverbindungen) wieder ab.

Setzt man dem Oxyhämoglobin ein derartiges Salz zu, dann

wird es oxydiert, dank dem Sauerstoff, den es dem Oxyhämoglobin entzieht, das selbst in reduziertes Hämoglobin verwandelt wird. Schüttelt man die Mischung kräftig, dann nimmt das reduzierte Hämoglobin wieder Sauerstoff auf, wobei es sich in Oxyhämoglobin verwandelt. Nach ein paar Minuten hat das überflüssige Ferro- oder Stannosalz jedoch den Sauerstoff wieder dem Oxyhämoglobin entzogen, das sich wieder in reduziertes Hämoglobin verwandelt hat. Dieses Spiel kann solange wiederholt werden, bis alles Ferro- oder Stannosalz oxydiert ist. Das Hämoglobin entzieht also den Sauerstoff viel geringer der Luft als dem Ferro- oder Stannosalz; das Oxyhämoglobin läßt sich dagegen von demselben Salz seinen Sauerstoff entziehen. Von dieser merkwürdigen Eigenschaft der Sauerstoffübertragung, die wohl zuerst von Stokes¹⁾ erfaßt wurde, ist bei den Carotinoiden nichts zu verspüren. Es ist uns nicht gelungen, durch reduzierende Mittel (wie Schwefel-Ammonium oder Stokessche Flüssigkeit) das unter dem Einfluß des Lichts entfärbte, oxydierte Carotin oder Xanthophyll wieder zu einem farbigen Stoff zu reduzieren. Um zu untersuchen, ob etwa der tierische Organismus imstande sei, diese Reduktion herbeizuführen, haben wir bei einigen Kaninchen eine unter dem Einfluß des Lichts entfärbte (oxydierte) wässrige und isotonisch gemachte Xanthophylllösung intravenös injiziert; 1—3 Tage nach der Einspritzung wurden die Tiere getötet. In den Organen wurde kein Xanthophyll gefunden; die Leber enthielt nicht mehr Carotin als normalerweise bei Kaninchen vorgefunden wird. Wir haben uns des weiteren davon überzeugt, daß wässrige Carotin- und Xanthophylllösungen auch nicht als Peroxydase wirken (sie färben Guajac und Benzidin nicht blau beim Vorhandensein alten Terpentin oder Wasserstoffsperoxyds). Schließlich machen sie bei Zusatz von H_2O_2 keinen Sauerstoff frei.

Wir sind denn auch der Meinung, daß nicht ein einziger Grund vorhanden ist für die Annahme, daß die Carotinoide eine Rolle als Atmungspigmente spielen.

Die Möglichkeit, daß ihnen auf Grund ihrer leichten Oxydierbarkeit die eine oder die andere Bedeutung für den Stoffwechsel, etwa von Fetten oder Kohlenhydraten, zukommt, bleibt bestehen.

Die Untersuchungen der letzten Jahre über die sogenannten Vitamine legen die Annahme nahe, daß den Carotinoiden eine

solche Bedeutung zukommen dürfte. Es ist nicht zu leugnen, daß ihr Vorkommen in gewissen Nahrungsmitteln (grünen Pflanzenteilen, Butter), ihr Fehlen in anderen (Speck) sehr an die „accessory substances, fat soluble A“ der amerikanischen Forscher erinnert. Eine Entscheidung haben die experimentellen Untersuchungen bis jetzt nicht gebracht. Eigene Experimente an Ratten mußten wir wegen äußerer Schwierigkeiten beenden. Drummond²⁶⁾ stellte einen Versuch an mit negativem Resultat. Diesem einzigen Versuche ist selbstverständlich kein großer Wert beizumessen. Von größter Bedeutung sind die breit angelegten und wichtigen Experimente von Palmer²⁷⁾. Nach Überwindung großer Schwierigkeiten gelang es diesem Forscher, eine gewisse Zahl Hühner zu züchten bei einer, von ihm lipochromfrei genannter Nahrung. Unter Beobachtung gewisser Vorsorgen wuchsen die Tiere in normaler Weise heran und zeigten normale Fruchtbarkeit.

Aus den Eiern, deren Dotter nur ganz schwach gefärbt waren, konnte durch künstliche Bebrütung ein zweites Geschlecht erzielt werden, das in jeder Hinsicht normal war, abgesehen von dem Fehlen der normalen Hautpigmentierung. Palmer schließt weiter, daß das natürliche, gelbe Pigment der Hühner, das von dem Xanthophyll der Nahrung herrührt, keine wichtige Beziehung zum Wachstum und zur Funktion der Fruchtbarkeit und Fortpflanzung hat, wenigstens während einer Generation. So vortrefflich diese Experimente Palmers auch durchgeführt sind, so glauben wir doch, unter Anerkennung der äußerst wichtigen Resultate, daß die Frage noch nicht ganz gelöst und daß Palmers Schlußfolgerung noch nicht ganz berechtigt ist.

Erstens erwähnt Palmer, daß in dem Blutserum und dem Fettgewebe der Hühner, die mit carotinfreier Nahrung großgezogen worden waren, doch noch eine Spur Pigment sich nachweisen ließe. Im Lichte unserer Untersuchungen ist es zu bedauern, daß die andern Gewebe (Leber, Milz, Nebenniere) nicht untersucht worden sind. Auch die Eier dieser Tiere enthielten noch ein wenig Farbstoff. Zwar ist Palmer der Ansicht, daß dieser Restfarbstoff kein Xanthophyll gewesen sei, aber dieser Ausspruch scheint uns nicht begründet zu sein. Er beruht auf der Tatsache, daß eine Lösung dieses Farbstoffes nicht die von Palmer beschriebene Reaktion mit FeCl_3 gab; auf andere

Eigenschaften (namentlich Blaufärbung mit konzentrierter H_2SO_4) wurde aber nicht untersucht.

Zweitens bekamen bei weitem die meisten von Palmers Tieren Schweineleber als Futter. Während Palmer nun aber behauptet, daß Schweineleber keine Carotinoiden enthalte, haben wir in diesem Organ dieses Pigment stets nachweisen können. (Siehe S. 292.)

Falls Palmers Schlußfolgerungen sich in der Zukunft als vollkommen richtig herausstellen sollten, könnten sie möglicherweise zu dem Schluß führen, daß die Carotinoide für den tierischen Organismus bedeutungslos seien. Einstweilen halten wir dies nicht für wahrscheinlich. Zahlreiche Beobachtungen deuten, wie uns scheint, darauf hin, daß die Lipochrome irgendeine Rolle spielen. Erstens die große Verbreitung der Lipochrome in der Natur und die spezifische, nahezu ausschließliche Aufnahmefähigkeit mancher Tiere für Carotin, anderer für das so sehr verwandte Xanthophyll. Ferner die Tatsache, daß die Pigmente gerade an Stellen vorkommen, die als wichtig für den Stoffwechsel angesehen werden müssen: abgesehen von dem Fettgewebe, das wohl als ein Reservedepot angesehen werden kann, denken wir hier an die Leber, das Corpus luteum des Menschen, den Eidotter, das Colostrum, die Nebenniere. Wichtig scheint uns auch, daß der menschliche Foetus in der Leber zwar kleine, aber trotzdem beachtenswerte Mengen Lipochrome enthält. Bemerkenswert ist es ferner, wie bei lipochromarmer Nahrung das Pigment in den genannten Geweben festgehalten wird: es verschwindet dabei aus dem Blute, wahrscheinlich auch aus der Haut, aber Fett, Leber, Nebenniere und Milz halten es zurück. Diese Tatsache geht aus der Untersuchung der Organe solcher Patienten hervor, die geraume Zeit vor ihrem Tode sehr wenig Nahrung zu sich genommen hatten. Im Gegensatz hierzu sieht man, nach den Beobachtungen von amerikanischen Autoren, daß bei legenden Hühnern das lipochrome Pigment geradezu nach dem Eidotter hingezogen wird, während die sichtbaren Teile, Schnabel, Kamm und Pfoten blaß werden; gibt man legenden Hühnern eine pigmentreiche Nahrung, dann gelingt es nicht, diese Gewebe stärker zu färben, während die Dotter intensiv gelb werden: das Pigment strömt nach dem Dotter. Wir fanden in der Literatur erwähnt (können aber nicht wiederfinden, an welcher Stelle),

daß bei Eiern mit farblosem Dotter dennoch die Keimscheibe immer gelb gefärbt sei. Alle diese Tatsachen scheinen uns auf eine physiologische Bedeutung der lipochromen Pigmente hinzuweisen, obwohl über das Wesen derselben bisher noch nichts bekannt ist.

Endlich ist es nicht überflüssig, sich zu fragen, ob den Lipochromen unter bestimmten Umständen eine pathologische Bedeutung zukommt. Obwohl beim Menschen der Lipochromgehalt des Blutserums ohne Zweifel größtenteils vom Nahrungslipochrom beherrscht wird, verfügen wir doch über Beobachtungen, die es wahrscheinlich machen, daß möglicherweise noch andere Faktoren einen Einfluß ausüben. So fanden wir bei zwei Diabetesleidenden, die während geraumer Zeit soviel wie möglich gleiche Diät gebrauchten, und deren Blut eine gleiche Menge Zucker enthielt, einen sehr verschiedenen Lipochromgehalt. Wir möchten auch die Aufmerksamkeit auf die gelbe Farbe lenken, die man so oft an den Handflächen und Fußsohlen von Leuten sieht, die an akuten Krankheiten leiden, eine Erscheinung, die schon vor langer Zeit von französischen Ärzten unter dem Namen des „*signe palmaire*“ beschrieben worden ist. Die Farbe läßt vermuten, daß wir es hier mit Lipochrom zu tun haben. Nur in einem einzigen Fall gelang es uns, Schuppen von der Haut eines Typhuskranken zur Untersuchung zu erhalten: darin konnten wir Carotin nachweisen. Oft sieht man, daß namentlich die hornartig gewordenen Teile der Haut in diesen Fällen die orangegelbe Farbe zeigen; aber auch bei Kindern und Frauen sahen wir diese Xanthosis palmaris und plantaris bei sehr zarter Haut, ohne daß irgend etwas von Verdickung oder hornartiger Verhärtung zu sehen war. Eine sehr intensive gelbe Farbe zeigte die Palmarfläche bei einem jungen Kind mit septischer Endokarditis und bei zwei noch jungen Frauen, die an einer Anaemia gravis litten (nicht vom Typus Addison-Biermer). Nach dem Tode einer dieser Frauen, die in den letzten Wochen fast keine Nahrung zu sich genommen hatte, fiel uns die orange Farbe der Nebennierenrinde auf. Eine Bestimmung der Lipochromwerte ergab die folgenden sehr hohen Zahlen: Leber 20,5; Milz 7,5; Fett 4,5; die Nebenniere ergab den außerordentlich hohen Wert von 73. —

Bereits seit langer Zeit ist es denen, die sich mit der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems beschäftigen, auf-

gefallen, daß die Nervenzellen im höheren Alter und unter gewissen pathologischen Umständen pigmentiert werden.

Es scheint nunmehr bewiesen, daß diese Pigmente zweierlei Art sind: das eine ist nichts anderes als Lipochrom und rührt von der Nahrung her: Dolley und Guthrie²⁹⁾ fanden es nur beim Menschen und bei jenen Tieren, deren Blutserum Carotinoide enthält (z. B. beim Rind), nicht bei Tieren mit pigmentlosem Serum (Schwein). Durch Verabreichung von carotinoidenarmer oder carotinoidenreicher Nahrung konnten sie erreichen, daß das Pigment in den Nervenzellen je nachdem verschwand oder zunahm.

Das Tatsachenmaterial über das Vorkommen und die Bedeutung der Lipochrome bei Mensch und Tier, welches man bisher zusammengebracht hat, ist gering. Eine Fortsetzung solcher Untersuchungen scheint geboten.

Literatur.

- ¹⁾ Stokes, Proc. Roy. Soc. **13**, 144. 1864. — ²⁾ Sorby, Proc. Roy. Soc. **21**, 992. 1873. — ³⁾ Arnaud, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **100**, 751. 1885; **102**, 1119 u. 1319. 1886; **104**, 1293. 1887; **109**, 911. 1889. — ⁴⁾ Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913. — ⁵⁾ Willstätter und Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. — ⁶⁾ Borodin, nach Willstätter. — ⁷⁾ Hijmans v. d. Bergh und Snapper, Die Farbstoffe des Blutserums. Dtsch. Arch. f. klin. Med. **110**, 540. 1913. — ⁸⁾ v. Noorden (mit Salomon), Pathologie des Stoffwechsels II, 290. 1907. — ⁹⁾ v. Noorden, Internat. Dermatol. Kongreß, Berlin 1904. — ¹⁰⁾ Kaupé, Münch. med. Wochenschr. 1919, S. 330. — ¹¹⁾ Stoeltzner, ibidem 1919, S. 419. — ¹²⁾ Klose, ibidem 1919, S. 419. — ¹³⁾ Moro, ibidem **29**, 1562, 1908 und 1919, S. 674. — ¹⁴⁾ Schüssler, ibidem 1919, S. 596. — ¹⁵⁾ Ueber, Ernährung und Stoffwechselkrankheiten. 2. Aufl. S. 228. — ¹⁶⁾ Ueber, Berl. klin. Wochenschr. **53**, 829. 1916. — ¹⁷⁾ Buerger und Reinhart, Dtsch. med. Wochenschr. 1919. — ¹⁸⁾ Buerger und Reinhart, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 1918, S. 119. — ¹⁹⁾ Salomon, Wiener klin. Wochenschr. **32**, 495. 1919. — ²⁰⁾ Hess and Myers, Journ. of the Amer. med. assoc. **73**, 1793. 1919. — ²¹⁾ Tawett, zit. nach Willstätter und Stoll (⁴). — ²²⁾ Palmer and Eekles, Journ. of Biolog. Chem. **17**, 191. 1914. — ²³⁾ Palmer, ibidem **23**, 261. 1915. — ²⁴⁾ Palmer, ibidem **27**, 27. 1916. — ²⁵⁾ Engelmann, Botan. Ztg. **45**, 393. 1887. — ²⁶⁾ Drummond, Biochem. Journ. **13**, 81, 1919. — ²⁷⁾ Palmer and Kempster, Journ. of Biolog. Chem. **39**, 299 u. f. 1919. — ²⁸⁾ Went, Rec. trac. botaniqu. néerland. **1**, 106. 1904. — ²⁹⁾ Dolley and Guthrie, nach Editorial in Journ. of the Amer. med. assoc. 1920, Februar.
-

Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure.

Die Einwirkung der Kieselsäure auf den tierischen Organismus.

Von

Franz Schuhbauer.

(Aus der Biologischen Versuchsanstalt München.)

(Eingegangen am 2. Juni 1920.)

Die weite Verbreitung der Kieselsäure im Reiche des Anorganischen und die konstante Anwesenheit derselben in der organischen Welt sind durch zahlreiche chemische Analysen erwiesen. Verhältnismäßig gering ist jedoch die Literatur, die uns über ihre nähere Bestimmung im menschlichen und tierischen Organismus aufklärt. Äußerst spärlich sind vollends die Angaben über den therapeutischen Wert der Kieselsäure und ihrer Salze.

Die Anwendung des Natronwasserglases zu fixierenden Verbänden dürfte seit langem bekannt sein. Über die Verwendung der Kieselsäure bei Wunden, über innerliche Darreichung in Form von kiesel säurehaltigen Tees, Quellwässern und des reinen chemischen Präparates sind die Versuche noch nicht sehr zahlreich. Die ersten physiologischen Versuche über die Wirkung des Siliciums auf Tiere stammen von Papillon und Rabuteau. Beide Forscher konstatierten eine fäulniswidrige Wirkung des kiesel sauren Natriums auf Blut, Galle, Eiter und Eiweiß. Durch Einspritzung von $\frac{1}{2}$ proz. Lösungen des Salzes in die Blase beseitigten Dubreuil, Marc See und Goutier die Folgezustände von chronischer Blasenlähmung und Harnleiterentzündung.

Äußerlich wurde das kiesel saure Natrium zur Wundbehandlung von Unna mit gutem Erfolge angewandt. Unna gebraucht speziell Kieselgur in Pulver-, Pasten- und Pillenform bei Ulcus oruris, überhaupt bei starken Hautdefekten mit mangelnder Tendenz zur Überhornung; er bezeichnet die Kieselsäure als ein Härtungs- und Wundheilungsmittel ersten Ranges bei Krankheiten, welche mit Erweichung der Oberhautzellen einhergehen, wie Ekzem und Pemphigus.

Die intravenöse Injektion von *Natr. silicicum* ist jedoch nach Tierversuchen von Rabuteau und Papillon nicht angezeigt; schon bei

geringen Dosen gehen die Tiere an Verfettung der Nieren mit Abstoßung des Epithels der Tubuli zugrunde. Picot bestätigte diese Angabe: Er sagt: „Auf welchem Wege man auch die Kieselsäure dem Organismus zuführen mag, immer ist sie eine energisch wirkende Substanz. Die Haupterscheinung, die sie hervorruft, ist die Neigung zu Asphyxie, als deren Ursache man die Zerstörung der roten Blutkörperchen ansehen darf. Sie erzeugt Fieber, und wenn sie auf dem Verdauungswege eindringt, Diarrhöe.“

Der Rostocker Pharmakologe Kobert und seine Mitarbeiter M. Gonnemann, Zickgraf und Siegfried haben sich mit der Frage der Wirkung der Kieselsäure auf den Organismus, speziell auf Blut und Lunge, eingehender beschäftigt. Kobert ist nun der Ansicht, daß die früheren Autoren mit dem käuflichen Natronwasserglas gearbeitet hätten; ihre Versuchsergebnisse seien daher nicht als ein Effekt der Kieselsäure, sondern als reine Laugenvergiftung aufzufassen. Er prüfte die Ergebnisse Picots nach. Dabei verwandte er ein Präparat, Natrium silic. puriss., welches die Firma Merck in Darmstadt eigens herstellte und seitdem in den Handel bringt. Es enthält nach Koberts Angaben 54% SiO_2 in Form von Polysilicaten des Natriums. Es reagiert alkalisch und enthält keine Lauge. Die mit diesem Präparat längere Zeit gefütterten Tiere blieben nach Koberts Angaben vollkommen gesund; Kobert kommt daher zu dem Schluß, daß die Verträglichkeit innerlich verabreichter Mengen des kiesel-sauren Natriums, die die therapeutisch in Frage kommenden um das Vielfache überschreiten, erwiesen ist.

Diese in kurzen Strichen gezeichnete pharmakologisch-therapeutische Übersicht zeigt, daß die Ansichten über die Wirkung der Kieselsäure und ihrer Verbindungen noch sehr schwanken und keineswegs geklärt sind, besonders hinsichtlich der Frage: Sind etwa auftretende schädliche Wirkungen bei innerlicher Darreichung der Salze der Kieselsäure ein Effekt der reinen Kieselsäure oder ist vielleicht eine Laugenwirkung anzunehmen?

Speziell diese Frage suchte ich an einer Serie von Versuchstieren, weißen Mäuse, die mir durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Dr. De moll, Vorstand des zoologischen Instituts der Tierärztlichen Fakultät in München, freundlichst zur Verfügung gestellt wurden, zu klären.

Für eine Versuchsreihe wurden stets möglichst aus einem Wurf stammende, in Gewicht und Wachstumsenergie möglichst gleichförmige Tiere gewählt.

Das zu den Versuchen verwendete Präparat war ein Polysilicat der Kieselsäure, von der chemischen Fabrik Merck in Darmstadt als Natr. silicic. puriss. in den Handel gebracht. Die quantitative Untersuchung des Salzes durch Dr. Breest ergab

fast dieselben Zahlen, wie die von Kobert gefundenen, nämlich 54,69% SiO_2 (wasserfrei) und 32,47% Natriumoxyd.

Als Grundnahrung für die Versuchs- und Kontrolltiere wurde feinstes Weizenmehl (dieses soll ganz kieselensäurefrei sein) und Kondensmilch gewählt. (Der Kieselensäuregehalt der Milch ist ein ganz geringer.) Die Versuchstiere erhielten meist 1,10 mg pro Gramm Körpergewicht von dem Merckschen Präparat täglich in der Grundnahrung. Meist schon nach 8—10 Tagen erkrankten die Versuchstiere unter folgenden klinischen Symptomen: Das Haarleid war sehr stark gestäubt, die Tiere waren matt, teilnahmslos für die Umgebung, bald stellte sich heftiger Durchfall ein, verbunden mit intensiven Blähungen, die Atmung war sehr frequent. Diese Erscheinungen, besonders auch von seiten der Atmungswege decken sich vollkommen mit den schon von Picot gemachten Beobachtungen.

Nach 14 Tagen bis 3 Wochen gingen die Versuchstiere in der Regel ein. Die makroskopischen und mikroskopischen Befunde am Darm, speziell am Dünndarm, ergaben ein absolut konstantes Bild und ließen bald eine spezifische Wirkung des Merckschen Salzes auf das Duodenum erkennen.

Bei der Sektion zeigte sich nämlich der Dünndarm meist schon äußerlich stark rot bis braun verfärbt; beim Aufschneiden trat ein schokoladefarbiger bis schwarzbrauner, mit Gasblasen vermischter Brei zutage, der sich in destilliertem Wasser mit Blutfarbe löste. Die Dünndarmschleimhaut selbst zeigte zahlreiche, unverwischbare Blutungspunkte, die Gefäße jeweils stark injiziert. Der histologische Befund war ein dem pathologisch-anatomischen entsprechender: Die Schleimhaut an den Kuppen der Darmzotten aufgeschilfert und zerfetzt; die Epithelkerne größtenteils körnig zerfallen, im Darmlumen zahlreiche Epithelien und Kerne in Auflösung; alles in allem eine typische Darmentzündung. Der weiter rückwärts gelegene Darmabschnitt war meist ohne besonders auffallende Krankheitserscheinungen.

Um nun bei dem Merckschen Präparat eine evtl. sich ergebende giftige Wirkung des Alkalis nach Möglichkeit auszuschalten, wurde gleichzeitig ein von den Münchener „Desko“-Werken seit neuerer Zeit in den Handel gebrachtes Präparat, kieselensäurehaltige Pralinés, verfüttert. Diese enthalten das Mercksche Natriumsilicat in genau dosierten Mengen, „neutralisiert“, d. h. bis zur neutralen Reaktion der Lösung mit einer bestimmten physiologisch unwirksamen Säure versetzt. Sie

schmecken wie richtige Pralinés, da als Zusatz noch Schokolade verwendet ist. Sie haben daher vor allem den Vorzug, daß sie in der therapeutischen Verwendung für den Menschen in recht angenehmer Form der Applikation eine genauere Dosierung zulassen, als beispielsweise kieselsäurehaltige Quellwässer oder Tees. Um die für die vorliegenden Fragen äußerst wichtige Neutralisation selbst kontrollieren zu können, habe ich ferner, nach einem von Dr. Schmidt, dem Direktor der „Desko“-Werke mir freundlichst mitgeteilten Verfahren selbst das Natriumsilicat Merck behandelt und so eine gegen Lackmus neutral reagierende Lösung erhalten, bei der durch starkes Zurückdrängen der hydrolytischen Spaltung im Körper eine Laugenwirkung nicht mehr zu erwarten ist. Blieben bei diesem „neutralisierten“ Präparat die schädlichen Wirkungen des Natriumsilicates aus, so kann als bewiesen gelten, daß die Giftigkeit der Kieselsäure eben auf dem Gehalt des Präparates an abspaltbarer Lauge beruht, vorausgesetzt, daß die Kieselsäure in dieser Form ebenso vom Körper aufgenommen wird, wie in dem nicht neutralisierten Merckschen Präparat. Über eine in dieser Richtung angesetzte Versuchsreihe, die die Frage der Resorption der Kieselsäure überhaupt der Lösung näherbringen sollte, wird an anderer Stelle berichtet werden.

In dieser neutralisierten Form vertrugen nun die Tiere tatsächlich Dosen des Merckschen Salzes bis zu 1 mg pro Gramm Körpergewicht ohne jede Störung; auch die Gewichtszunahmen im Verhältnis zu den Kontrolltieren ließen keinen Unterschied erkennen.

Die Resultate meiner Versuche sind daher folgendermaßen zu deuten:

Für die ausschließliche Erkrankung des Dünndarms scheint mir diese Erklärung plausibel:

1. Das Mercksche Präparat, Natrium silicicum purissimum mag frei sein von Lauge, wie Kobert behauptet. Aber es ist sehr wahrscheinlich, daß sich bei Zutritt von Wasser durch hydrolytische Spaltung freie Natronlauge im Darm bildet und dann ätzend auf die Schleimhaut wirkt. Im Dünndarm kommt infolge der schon physiologisch vorhandenen alkalischen Reaktion des Darmsaftes diese freie Natronlauge erst recht zur

Geltung und ruft hier durch Verätzung der Schleimhaut eine Abstoßung des Epithels hervor.

2. Diese schädlichen Wirkungen des Merckschen Präparates werden aufgehoben durch „Neutralisation“.

3. Als eine glückliche Lösung in der Frage nach der Form der Applikation der Kieselsäure und ihrer Verbindungen ist die Darreichung des Siliciums in Pralinéform anzusehen, einerseits, weil durch die Neutralisation des Salzes dessen Laugenwirkung aufgehoben und anderseits eine genaue Dosierung des Siliciums ermöglicht wird. Auch der Geschmack, der beim Merckschen Präparat ein ausgesprochen laugenhafter ist, wird dadurch völlig beseitigt.

Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure.

Über die Resorption der Kieselsäure.

Von

Fr. Breest.

(Aus der biologischen Versuchsanstalt für Fischerei in München.)

(Eingegangen am 2. Juni 1920.)

In steigendem Maße wird in den letzten Dezennien der Kieselsäure Beachtung geschenkt, aber, wie in der vorstehenden Arbeit von Dr. Schuhbauer geschildert ist, in ihrer Wertschätzung ist man sich durchaus nicht einig und Ansicht steht gegen Ansicht. Daß die Kieselsäure aus der normalen Nahrung vom Körper aufgenommen wird, ist zweifellos, denn zahlreiche Analysen verschiedener Gewebe und Organe zeigen einen regelmäßigen Gehalt an Kieselsäure. Ob aber der Organismus fähig ist, bei gesteigerter Darreichung von Kieselsäure mehr von ihr aufzunehmen, ob es zu einer Art Durchschwemmung des Körpers mit SiO_2 kommen kann, oder auch zu einer Aufspeicherung aufgenommener SiO_2 , und ferner, in welcher Form die SiO_2 am besten resorbiert wird, darüber liegen noch fast keine chemisch-analytischen Untersuchungen vor.

Zickgraf, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. 5, 402. 1906, fand den SiO_2 -Gehalt des Harnes nach Trinken von Lippespringer Kieselsäurewasser durchschnittlich um das Doppelte vermehrt, von 40 auf 85 mg im Tag.

Schulz veröffentlichte in der Münch. Mediz. Wochenschr. 1920, S. 253, Vergleiche zwischen dem SiO_2 -Gehalt des Harns vor und nach dem Genuß von Silikoltablettchen, die die Kieselsäure in kolloidaler Form enthalten, und fand eine Steigerung von 33 mg/l auf 53 und 60 mg/l; in einem anderen Falle auf 40 und 53,3 mg/l. In der gleichen Arbeit wird erwähnt, daß nach Zuckmayer-Lecinwerke, Hannover, von 0,2 g SiO_2 in flüssiger Form aufgenommen, binnen 15 Stunden 55% im Harn wieder ausgeschieden wurden, von 0,2 g in fester Form 31%.

Gonnermann, Zeitschr. f. physiol. Chemie 99, 272. 1917, erwähnt ein Patent von Knorr und Weyland über Ausscheidung von Ortho-

kieselsäureestern durch den Harn, daß von dem unlöslichen tertiären Glycerinorthokieselsäureester 30% im Harn als SiO_2 wieder erscheinen.

Auf einem anderen Wege beweist Gonnermann — nach Schulz, a. a. O. — die Resorption der Kieselsäure, indem er den SiO_2 -Gehalt der Blutasche vor und nach dem Genuß SiO_2 -haltigen Tees oder SiO_2 -Tabletten bestimmt. Er findet Steigerungen von 2,26% auf 2,63% und 2,65%, und von 2,129% auf 2,47%.

Damit sind, soweit mir das Schrifttum bekannt wurde, die analytischen Daten zu unserem Thema erschöpft.

Um über die Giftigkeit des Merckschen Natriumsilicates Klarheit zu bekommen, ward von Schuhbauer, wie in vorstehender Arbeit berichtet ist, das Mercksche Präparat an weiße Mäuse verfüttert, ferner das Mercksche Präparat, nachdem es nach den Angaben von Dr. Schmidt — „Desko“-Werke — München „neutralisiert“ war (d. h. nachdem es bis zur neutralen Reaktion gegen Lackmus mit einer bestimmten physiologisch unwirksamen Säure versetzt war). Durch diese Behandlung ward das Gleichgewicht zwischen SiO_2 und Natronlauge stark verschoben und die Annahme war nicht von der Hand zu weisen, daß sich nun die SiO_2 in einer Form befand, in der sie nicht oder wenigstens schwächer als das Silicat resorbierbar war. Dafür sprach auch die Beobachtung, daß die SiO_2 aus der Lösung binnen einer Stunde nach der Neutralisation gelartig sich abschied. Durch Zusatz von gezuckerter Kondensmilch wurde die Gelbildung verhindert.

Andererseits konnte man aber auch annehmen, daß auch im nicht neutralisierten Merckschen Silicat die Kieselsäure von der Magensäure aus ihrer Natriumverbindung ausgefällt würde, und daß man also, bis die SiO_2 in den Darm kommt, in beiden Fällen die Form, in der die SiO_2 Gelegenheit zur Resorption findet, die gleiche geworden ist. Nur der Versuch und die Analyse können entscheiden, ob hier die Neutralisation bei der Resorption eine Rolle spielt.

Konnte ferner festgestellt werden, daß auch das „neutralisierte“ Silicat, wie ich das nach den Angaben der „Desko“-Werke behandelte Mercksche Präparat kurz nennen will, vom Körper ebenso aufgenommen wird, wie das nicht neutralisierte, ohne dessen giftige Wirkung auszuüben, so war man berechtigt, die Giftwirkung der durch hydrolytische Spaltung freigewordenen Lauge zuzuerkennen, die SiO_2 als solche als ungiftig anzusehen.

Ferner wurden noch Fütterungsversuche mit frisch ausgefällttem Kieselsäurehydrat gemacht, um weitere Anhaltspunkte zu gewinnen, wie die Kieselsäure den Aufenthalt in dem sauer reagierenden Mageninhalt verträgt, ob, wie oben erwogen ward, das kieselsaure Salz sowieso durch die Magensäure ausgefällt würde und ob es somit gleichgültig sei, ob die Kieselsäure als Salz oder nicht besser als Säure ohne den bedenklichen Alkaligehalt verfüttert würde, oder ob nicht doch die ursprüngliche Darreichungsform noch bis zur Resorption im Darm ihre Wirkung ausübe. Gleichzeitig mußten die Resorptionsversuche mit freier Kieselsäure auch geeignet sein, Licht auf die merkwürdigen Erkrankungsercheinungen zu werfen, die Boottz, Dissert. Greifswald 1903, bei der Darreichung von freier Kieselsäure am Menschen beobachtet hat.

Die Fütterungsversuche wurden an weißen Mäusen ausgeführt. Bei den sehr geringen Kieselsäuremengen, die zu erwarten waren, schien es mir ausgeschlossen, einzelne Organe für sich auf gesteigerten SiO_2 -Gehalt zu untersuchen, auch interessierte es mich hier ja weniger wo, sondern vielmehr ob überhaupt mehr SiO_2 vom Körper aufgenommen und bei erhöhtem SiO_2 -Gehalt des Futters gespeichert wurde. Deshalb bestimmte ich den Kieselsäuregehalt des ganzen Tieres, indem ich jeweils die ganze Maus auf einmal veraschte, was durch anfänglich trocknes Erhitzen, danach Abrauchen mit rauchender Salpetersäure in 1—2 Stunden ohne Schwierigkeit erfolgte. Die untersuchten 9 Mäuse stammen aus zwei untereinander engverwandten Würfen, Alter etwa 3 Monate.

Die Fütterung der Tiere besorgte Dr. Schuhbauer, wofür ich ihm auch hier meinen besten Dank sage. Das Grundfutter bestand aus zu etwa 75% ausgemahlenem Weizenmehl und mit Rohrzucker gesüßter englischer Kondensmilch. Die Fütterungsversuche dauerten 15 Tage, darauf 1 Tag Grundfutter ohne Zusätze. Bei dem regen Stoffumsatz der Mäuse kann man mit Sicherheit annehmen, daß in dieser Zeit ($1\frac{1}{2}$ Tage, denn getötet wurden die Tiere an dem auf den Grundfuttertag folgenden Morgen) der aus dem SiO_2 -Futter stammende Kot ausgeschieden ist. Da übrigens ein aus dieser Quelle stammender Fehler sich bei allen Versuchen gleichmäßig wiederholen würde, und da das Beweisende meiner Versuche nicht die absoluten, sondern die relativen Zahlen sind, wäre er auch ohne Belang.

Die Menge der verfütterten SiO_2 betrug bei Versuch IV 75 mg, berechnet auf reine SiO_2 , täglich 5 mg, bei den anderen Versuchen 90 mg, bei einer Tagesdosis von 6 mg.

Das bei Versuch II benutzte Kieselsäurehydrat ward nach den Angaben von Bootz durch Ausfällen einer wässerigen Lösung des Merckschen Natriumsilicates mit Salzsäure gewonnen, tagelanges Auswaschen bis zum Verschwinden der Chlorreaktion und Trocknen bei Zimmertemperatur, bis der gallertige Niederschlag einen Gehalt von 9% SiO_2 hatte, während Bootz das Trocknen weiter fortsetzte, bis das Hydrat eine „trockne, krümelige Masse“ ward, die sich zu staubfeinem Pulver verreiben ließ. Über den SiO_2 -Gehalt dieses Pulvers wurden keine Angaben gemacht. Doch spricht er von der Gesamtmenge der gegebenen SiO_2 .

Das für Versuch III und IV benutzte Natrium silicicum puriss. Merck hatte nach dem Trocknen bei 105° — 110° einen Gehalt von 54,69 und 54,72% SiO_2 und 31,97% und 32,47% Na_2O — als Chlorid gewogen.

Versuchsergebnis.

Nr.	Fütterung	Gewicht	Gewichts-	Asche	Asche in % des Körpergewichts	SiO ₂ der Asche	
		beim Abtöten	veränderung während des Versuchs			in g	in %
.		in g	in g	in g		in g	in %
I	Grundfutter	10,35	+0,25	0,3310	3,2	0,0005	0,15
II a	„ und Kieselsäurehydrat	12,09	+0,29	0,3738	3,2	0,0009	0,24
II b	„ „	12,40	+0,50	0,3745	3,0	0,0007	0,19
II c	„ „	11,02	-1,83	0,3673	3,3	0,0026	0,70
III a	„ und Na-Silicat Merck	9,10	-2,65	0,3369	3,7	0,0019	0,56
III b	„ „	11,35	-0,55	0,4076	3,6	0,0023	0,63
III c	„ „	11,40	-0,10	0,3642	3,2	0,0018	0,49
IV a	„ und neutralis. Silicat	10,8	+1,20	0,3485	3,2	0,0039	1,15
IV b	„ „	10,4	-0,50	0,4182	4,0	0,0051	1,22

Aus der Tabelle geht mit großer Deutlichkeit hervor, daß die Darreichung von SiO_2 in größeren Quantitäten mit dem Futter sich im SiO_2 -Gehalt der Asche widerspiegelt. Zwanglos lassen sich die Aschen nach ihrem SiO_2 -Gehalt in Gruppen zusammenfassen, je nach dem gereichten Futter, und zwar: 1. Normalfutter allein und mit Kieselsäurehydrat, mit einem SiO_2 -

Gehalt von rund 0,2%; 2. Mercksches Silicat mit Kieselsäuregehalt von rund 0,6%, und 3. neutralisiertes Silicat mit SiO_2 -Gehalt von rund 1,2%. Nur ein Versuch, IIc, fällt aus dieser Reihe heraus mit 0,7% statt 0,2%¹⁾. — Damit ist die erste Frage nach der Beeinflußbarkeit des SiO_2 -Haushaltes des Körpers bejaht und die Befunde früherer Untersucher sind bestätigt.

Mit weniger Bestimmtheit kann man von einer Aufspeicherung der SiO_2 im normalen Körper sprechen, wohl aber von einer geringen Anreicherung. Es ist nur ein kleiner Bruchteil der dem Körper während der Versuchsdauer angebotenen SiO_2 , den wir bei der Analyse wiederfinden. Nehmen wir rund 1 mg als Normalgehalt unserer Mäuse an, so sind von den während der Versuchszeit dem Körper dargebotenen 75 mg und 90 mg im besten Falle (Versuch IV) nur rund 4,5 weniger 1,0 = 3,5 mg SiO_2 im Körper zurückgeblieben. Bei der Kleinheit der Zahlen, die durch unvermeidliche Analysenfehler schon stark beeinflusst werden, hat es keinen Zweck, rechnerisch Prozente festzustellen. Die Frage, ob ein kieselsäurehungriger, ein kranker Körper, nicht erheblich mehr SiO_2 zu binden vermag, bleibt durch dies Ergebnis natürlich unberührt. Immerhin ist es wahrscheinlich, daß das Mehr an gefundener SiO_2 keiner vorübergehenden Aufnahme, sondern einer länger bestehen bleibenden Anreicherung im Körper zuzuschreiben ist, denn wie im nachfolgenden noch ausgeführt wird, spricht das Analysenergebnis des Merckschen Präparates für ein längeres Verbleiben der einmal aufgenommenen SiO_2 im Körper.

Positiv sind wiederum die Ergebnisse bezüglich der verschiedenen Resorptionsfähigkeit je nach der Form, in der die SiO_2 mit der Nahrung aufgenommen wird.

Neutralisiertes Silicat wird gut aufgenommen. Die Bedenken, daß durch die Neutralisation die SiO_2 in schwer resorbierbare Form übergeführt wird, sind nicht stichhaltig, zum mindesten nicht, wenn, wie bei unserem Versuch, die Gelbildung durch die gezuckerte Kondensmilch verhindert wird.

Wie Schuhbauer gezeigt hat, entfällt bei dem neutralisierten Präparat die Giftwirkung des Merckschen Silicates;

¹⁾ Aber wie die Tabelle zeigt, nahm dieses Tier im Gegensatz zu den anderen während des Versuchs stark ab, befand sich also vielleicht von vornherein in anormalem Zustand.

wie meine Versuche zeigen, wird das neutralisierte Silicat aber doch, sogar stärker resorbiert, als das nicht neutralisierte. Damit ist der Beweis geführt, daß die häufig giftige Wirkung des Merckschen Silicates bei starker Dosierung nicht der SiO_2 zukommt, sondern der Natronlauge.

Das Mercksche Silicat wird während der Versuchsdauer wesentlich schwächer, nur halb so gut wie das neutralisierte, aufgenommen. Die Befunde Schuhbauers bringen zwanglos die Erklärung: Zunächst wird SiO_2 aufgenommen; allmählich tritt dann die durch die hydrolytisch abgespaltene Natronlauge verursachte Schädigung der Darmschleimhaut, die zur völligen Verätzung führen kann, in Erscheinung, der kranke Darm kann nicht mehr oder nur noch schwach resorbieren, die Menge der aufgenommenen SiO_2 bleibt wesentlich zurück hinter der vom gesunden Darm aufgenommenen, und die gefundenen Zahlen sind wohl im wesentlichen der Aufnahme durch den anfangs noch unversehrten Darm zuzuschreiben.

Kieselsäurehydrat wird gar nicht aufgenommen. Der Aschengehalt ist bei Versuch I und II gleich groß, also übt die Magensäure nicht die gleichmachende Wirkung aus und macht die Form der Darreichung der SiO_2 mit der Nahrung nicht gleichgültig. Um so merkwürdiger bleiben die Beobachtungen von Bootz nach der Darreichung des Kieselsäurehydrats am Menschen, die doch nur nach Resorption der SiO_2 von der SiO_2 ausgehen können. Eine Nachprüfung dieser Befunde bleibt sehr wünschenswert. Daß das Bootzsche Hydrat infolge der weiter fortgesetzten Entwässerung leichter resorbiert werden kann als mein nur bis zu 9% SiO_2 getrocknetes, ist wohl ausgeschlossen.

Wie notwendig es ist, bei der Bestimmung des Aschengehalts möglichst genau über Alter, Herkunft und Fütterung der Tiere unterrichtet zu sein und zu solchen vergleichenden Untersuchungen nur Tiere gleicher Vorgeschichte zu benutzen, zeigen zwei Analysen von Tieren, die ich noch untersuchte, um über den SiO_2 -Gehalt normal gehaltener Tiere ein besseres Bild zu bekommen. Sie wurden so, wie sie vom Händler kamen, abgetötet; womit sie gefüttert worden sind, ist nicht festgestellt worden. Wenn die Angaben über ihr Alter (3 Monate) stimmen, so waren sie jedenfalls wesentlich anders beschaffen, als meine im

Institut in Inzucht gezogenen Mäuse, denn gegen durchschnittlich 11 g Körpergewicht hatten die beiden fremden Mäuse 19 u. 21 g Körpergewicht. Dementsprechend war auch der Aschengehalt verschieden. Während bei meinen Mäusen die Aschenmenge von 3 bis 4% um 3,2% des Körpergewichts schwankte, hatten die beiden anderen 2,7 und 2,8% des Körpergewichtes an Asche, und der SiO_2 -Gehalt der Asche zeigte die hohen und weit verschiedenen Zahlen 0,66 und 2,72%. Es wäre interessant festzustellen, ob solche enorme Schwankungen von 0,15 bis 2,72% zwischen Mäusen verschiedener Herkunft die Regel ist, oder ob es hier sich nur um Zufallsresultate handelt. Der ganz regelmäßige Gang in meinem Analysenergebnis kann, wenn das Material zahlenmäßig auch nur klein ist, jedenfalls nicht auf Zufall beruhen.

Anhangsweise sei auf einen Zusammenhang noch hingewiesen, der zwar nicht zum Thema gehört, auf den aber meine Tabelle hinzuweisen scheint, auf die Beziehung des Aschengehaltes des Körpers zum Ernährungsgleichgewicht. Es scheint, als ob Abmagerung, Gewichtsabnahme, mit einer Vergrößerung des Aschengehaltes des Körpers in Beziehung steht. Bei den Tieren, deren Gewicht sich während des Versuches kaum oder positiv verändert hat, I, IIa, b, IIIc, IVa ist der Aschengehalt auch am geringsten, 3,0 und 3,2% des Gewichtes, während die Tiere, die stärker abgenommen haben, IIc, IIIa, b, IVb einen höheren Aschengehalt 3,3, 3,6, 3,7 und 4,0% besitzen. Daraus wäre zu folgern, daß bei fehlenden Ernährungsgleichgewicht im negativen Sinne, bei Abmagerung, die Einschmelzung der organischen Bestandteile in verhältnismäßig stärkerem Maße vor sich geht als die der anorganischen, was wohl damit zusammenhängt, daß ja auch beim Hungern zunächst das an den anorganischen Bestandteilen sehr arme Fettgewebe verbraucht wird.

Zusammenfassung.

Aus meinen Analysen gleichalteriger, nahverwandter, mit dem gleichen Futter aufgezogener weißer Mäuse geht hervor, daß

1. der SiO_2 -Gehalt des Körpers durch geeignete SiO_2 -Zufuhr mit dem Futter erhöht werden kann,
2. nur ein kleiner Teil der dargebotenen SiO_2 im normalen Körper zurückbehalten wird,

3. die „Neutralisation“ des Merckschen Silicates nicht nur nicht die Resorption hinabsetzt, sondern im Gegenteil erhöht. Damit ist in Verbindung mit der Arbeit von Schuhbauer bewiesen, daß

4. die Giftigkeit des Na-Silicates Merck auf der abspaltbaren Natronlauge beruht, die SiO_2 an sich ungiftig ist.

5. Die Passage durch den sauren Mageninhalt macht die Verfütterungsform der Kieselsäure nicht gleichgültig.

6. Kieselsäurehydrat wird nicht resorbiert.

7. Bei vergleichenden Analysen ist es nötig, gleichalterige Tiere gleicher Vorgeschichte und nächster Verwandtschaft zu benutzen.

Über Anhydride höherer Fettsäuren als synthetische Neutralfette.

Von
D. Holde.

(Eingegangen am 30. Juni 1920.)

Wie an anderer Stelle¹⁾ mitgeteilt wurde, betrifft die von Franz Fischer und W. Schneider vor kurzem²⁾ gegebene Anregung, Anhydride höherer Fettsäuren, sofern sie wie Neutralfette resorbierbar sein sollten, ein von mir vor 5 Jahren dem damaligen Vorsitzenden der Ernährungskommission A (Emil Fischer) des Kriegsausschusses für pflanzliche Öle und Fette unterbreitetes und nachher auch in seinen wichtigsten Grundzügen chemisch und physiologisch verfolgtes Problem³⁾. Die während des Krieges in Rücksicht auf die Kriegsbestimmungen unterbliebene Publikation der gewonnenen Erkenntnisse wurde bislang noch aufgeschoben, um die Arbeiten noch weiter abzurunden; sie soll aber nunmehr fortlaufend erfolgen.

Die genannten Autoren erhielten bei der Oxydation von Paraffin mit Luft bei 135—145° Oxydationsprodukte, welche sich nicht in Soda, sondern nur in Ätzalkalien zu Seifen lösten. Ihre Schlußfolgerung, daß es sich deshalb bei diesen Oxydationsprodukten möglicherweise um Anhydride handele, muß indessen insofern berichtigt werden, als nach A. Grün⁴⁾ u. a. bei der Oxydation von Paraffin mit Luft neben höheren Alkoholen auch esterartige Verbindungen der letztern mit Fettsäuren entstehen, welche ohne nähere Prüfung wohl das Vorhandensein von Anhydriden vortäuschen können.

Die nachstehend in ihrem organoleptischen und physiologischen Teil beschriebenen, im Jahre 1915 begonnenen und 1916

¹⁾ Chem.-Ztg. 44, 78. 1920.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 53, 924. 1920.

³⁾ Über die bisherigen Ergebnisse habe ich am 12. Juli d. J. in der Deutschen chemischen Ges. vorgetragen.

⁴⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch 53, 987. 1920

fortgesetzten Voruntersuchungen der im obigen Thema aufgeworfenen Frage erstrecken sich ebenso wie spätere, in Gemeinschaft mit Frl. Ida Tacke im Herbst 1919 wiederaufgenommene Arbeiten auf technische Fettsäuregemische wie z. B. durch Vakuumdestillation gereinigtes Olein, Leinölfettsäuren usw., weil die Einzelindividuen für die Beantwortung der aufgeworfenen chemischen und physiologischen Fragen als Untersuchungsobjekte wegen ihres zu hohen Herstellungspreises und die höher schmelzenden krystallisierten Anhydride der Stearin-, Palmitin- und Erucasäure an und für sich als Speisefette nicht in Frage kamen. Zudem lassen sich die gewonnenen Ergebnisse — mutatis mutandis — ohne weiteres auch auf die Einzelindividuen übertragen.

Über die Entstehungsgeschichte des vorliegenden Problems berichte ich folgendes:

Am 27. Nov. 1915 unterbreitete ich dem Vorsitzenden der Kommission A des Kriegsausschusses folgenden Vorschlag: „... Bei Erwägung der Möglichkeiten, die Fettsäuren (Ölsäure, Erucasäure, Linolsäure, Palmitinsäure usw.) ohne Einverleibung von Glycerin oder Glykol in eine leichtverdauliche, aber neutrale Form zu bringen, ist mir der Gedanke gekommen, ob nicht die Anwendung der Säuren in Form von Anhydriden, die ja neutral und hydrolisierbar sind, zu ermöglichen ist. Ich nehme an, daß diese Körper, mit denen ich mich in ihrem reinen Zustand noch nicht zu beschäftigen Gelegenheit hatte, da sie naturgemäß nicht wie z. B. Essigsäureanhydrid, auf der Zunge hydrolisiert werden, weniger einen störenden Geschmack haben könnten, als die flüssigen ungesättigten Säuren selbst. Falls nicht grundsätzliche chemische, physiologische oder technische Bedenken entgegenstehen, würde ich an die Bearbeitung der Sache heran gehen...“

Gegenüber Bedenken Emil Fischers, die sich auf die mögliche schwerere Resorbierbarkeit der ins Auge gefaßten Anhydride höherer Fettsäuren bezogen, antwortete ich unter dem 22. Dez. 1915, nachdem ich einige Vorversuche in Gemeinschaft mit H. Smelkus im Staatlichen Materialprüfungsamt angestellt hatte, folgendes: „... Ich habe die Produkte (Anhydride) aus Ölsäure bei uns mittels Essigsäureanhydrid nach H. Albitzky¹⁾ herstellen lassen und dabei festgestellt, daß der nicht in Reaktion getretene Betrag an freier Ölsäure darum nicht sehr genau durch Titration mit $\frac{2}{10}$ -Lauge²⁾ zu ermitteln ist, weil der Farbenumschlag

¹⁾ Journ. d. Russ. chem. Ges. **31**, 103. 1899; s. a. Michael Jemoljemof u. H. Albitzky, über Elaidinsäureanhydrid, ebenda S. 106.

²⁾ Es wurde alkoholische Lauge benutzt. Die Reaktion wurde später aufgeklärt, s. Vortrag, gehalten über obiges Thema am 12. Juli 1920 in der Deutsch. chem. Ges., dessen chemischer Teil voraussichtlich in Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Heft 8, abgedruckt wird.

nach Rot immer wieder bald verschwindet, also die Anhydride offenbar sehr leicht spaltbar durch ganz verdünnte Lauge sind. Dies deutet wohl auf eine leichte Resorbierbarkeit hin, wenn als Maßstab für diese die leichte Spaltbarkeit durch sehr verdünnte Lauge gelten kann... Tatsächlich hat das Ölsäureanhydrid selbst in der dunkelfarbigem Beschaffenheit, in der ich es zunächst erhalten hatte, im Gegensatz zur Ölsäure keinen kratzenden Geschmack... Der Vorzug solcher Anhydride gegenüber den reinen festen Fettsäuren würde auch in deren flüssiger bzw. im Gemisch mit festen Anhydriden in ihrer voraussichtlich vaselineartigen Konsistenz liegen¹⁾...“

Ferner heißt es in dem Protokoll der Sitzung der Fettsäuresynthesekommission B des genannten Ausschusses vom 25. Februar 1916 (Vorsitzender C. Engler, Karlsruhe), in der Harries und Koetschau ihre ersten Mitteilungen über die Gewinnung von aliphatischen Fettsäuren durch Ozonisation von Braunkohlenteerölen machten, und an der u. a. noch E. Graefe, I. Marcusson, E. Albrecht, Hamburg und Welter, Crefeld, teilnahmen, wie folgt:

Auf Anfrage von Holde teilt der Vortragende (Harries) mit, ... daß eine Verwendung der synthetischen Fettsäuren zu Speisefettprodukten bisher noch nicht erwogen sei. In dieser Hinsicht macht Holde darauf aufmerksam, daß eine Anhydridisierung der Fettsäuren diese nach den bei den natürlichen Fettsäuren gemachten Erfahrungen wahrscheinlich in neutrale Speisefette überführen lasse, wenn der Geschmack der neuen Fettsäureanhydride nicht störe.“

Da nun Paraffine bei der Oxydation mit Luft oder Sauerstoff, wenn sie hierbei zu Fettsäuren oxydiert werden, wahrscheinlich vorher zu ungesättigten Kohlenwasserstoffen teilweise abgebaut werden, und sich ja die von mir gemachten Vorschläge generell auf Verwendung von Anhydriden höherer Fettsäuren bezogen, so dürfte auch an der Priorität der Vorschläge für das Gebiet der durch Oxydation von Kohlenwasserstoffen aus Teeren, Erdöl, bituminösem Schiefer usw. gewonnenen Fettsäuren kein Zweifel obwalten.

Organoleptische Prüfungen.

Nachdem sich gezeigt hatte, daß die nach Albitzky aus einer reinen, im Vakuum destillierten Ölsäure (Ausgangsmaterial Olein von Motard) hergestellten Anhydride, ebenso wie normale Fette bei der Behandlung mit alkoholischer $\frac{n}{2}$ -Lauge leicht verseifbar waren, und hiernach an ihrer voraussichtlichen Resor-

¹⁾ Emil Fischer hatte im Einklang mit den ebenfalls der Ernährungs-kommission angehörenden Herren Rubner, Zuntz usw. wiederholt auf die bessere Resorbierbarkeit weicher Fette im Vergleich zu härteren Fetten hingewiesen.

bierbarkeit im tierischen Körper Zweifel nicht angezeigt schienen, wurde ein derartiges, durch Filtration über Fullererde noch weiterhin gereinigtes hellgelbes geruchloses Anhydrid 4 Wochen lang in meinem Haushalt als Salatöl genossen¹⁾. Vorher hatte ich durch zahlreiche Geschmacksproben festgestellt, daß bei den nicht anhydrierten Fettsäuren, auch der reinen, durch dreimalige Vakuumdestillation bei 9—10 mm Druck aus Olein Motard erhaltenen blaßgelben Ölsäure, welche zur Gewinnung des zu den Geschmacksproben und den physiologischen Versuchen benutzten Anhydrids gedient hatte, zwar nicht auf der Zunge, wohl aber alsbald im Gaumen ein unangenehmer kratzender Geschmack entstand, welcher bei dem in Rede stehenden Anhydrid nicht bemerkt wurde. Wie schon in der vorläufigen Mitteilung²⁾ erwähnt wurde, hat das Anhydrid, welches bei höherer Zimmerwärme völlig flüssig (wie Olein oder Olivenöl), an kühleren Tagen aber im Zimmer halbflüssig bis salbenartig war, als Salatöl bei häufigem Genuß vollauf genügt. Dagegen ergab sich, als ich durch diesen Erfolg ermutigt, die Probe zum Braten von Kartoffeln benutzen ließ, ein kratzender Geschmack der letzteren, dessen Ursachen und damit auch die Beseitigungsmöglichkeiten aufzuklären sind. Wenn man beispielsweise die weiterhin bei einem Leinölsäureanhydrid festgestellte starke Zersetzlichkeit durch strömenden Wasserdampf zur Erklärung dieses ersten Mißerfolges heranzieht, so würde ja die hohe Temperatur beim Braten der Kartoffeln und der in letzteren enthaltene Wassergehalt den unangenehmeren Geschmack des Anhydrids genügend erklären. Es ist aber ferner auch möglich, daß das Anhydrid, das damals nur durch Ausschütteln mit 85 vol.-proz. Alkohol von nicht anhydriert gebliebenen freien Fettsäuren befreit wurde, wegen der immerhin vorhandenen teilweisen Löslichkeit von Fettsäuren im Anhydrid und umgekehrt noch geringe Mengen freier Fettsäuren³⁾ enthielt (im vorliegenden Fall Ölsäure), welche bei der höheren Temperatur des Bratens den schlechteren Geschmack veranlaßten. Da von

¹⁾ Das Öl dürfte damals (Frühjahr 1916) durch Schütteln mit 85 vol. proz. Alkohol von nicht anhydrierten Fettsäuren gereinigt worden sein. Leider fand sich keine Niederschrift hierüber mehr vor.

²⁾ l. c.

³⁾ Diese konnten nach den späteren Titrationsversuchen mit alkoholischer $\frac{2}{10}$ -Natronlauge (alkoholisch) auf 4—5% geschätzt werden.

dem damals den Versuchen zugrunde gelegten Anhydrid neuerdings nur noch geringe Mengen vorhanden waren und diese auch nach Entfernung des Gehaltes an freien Fettsäuren bei so langem Lagern nicht mehr als genügend einwandfrei in organoleptischer Hinsicht angesehen werden könnten, so werden über diesen Punkt neue Untersuchungen an frischem Material anzustellen sein. Zu bemerken ist übrigens, daß die Technik selbst die Gewinnung von in bezug auf Geruch und Geschmack befriedigenden Fetten naturgemäß besser beherrscht, als dies bei der geringeren Übung, der Anwendung flüchtiger Lösungsmittel usw. im kleinen Laboratoriumsstil im allgemeinen möglich ist. Schon aus diesem Grunde kann den organoleptischen Proben naturgemäß vorläufig keine maßgebende Bedeutung zugesprochen werden, soweit sie noch nicht befriedigten.

Physiologische Ausnützungsversuche.

Eindeutiger, und zwar in durchaus günstigem Sinne waren, den von mir aus der leichten Verseifbarkeit der Anhydride geschöpften Erwartungen entsprechend, die nachstehenden Ergebnisse der auf meinen Wunsch von Prof. M. Cremer freundlichst veranlaßten Ausnützungsversuche, welche im Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin von Dr. Seuffert ausgeführt wurden:

Methodik des Versuches: Nach Verfütterung von Knochen — zwecks Abgrenzung — erhielt der Versuchshund an zwei aufeinander folgenden Tagen je 20,0 g Anhydridöl mit 75 g Reis, 2 g Fleischextrakt und 1 g Kochsalz, worauf wieder eine Knochenperiode folgte.

Der zwischen den Knochenkoten anfallende Kot wurde gesammelt und auf Fettgehalt analysiert.

Es ergab der Alkoholextrakt des gesamten Kotes	0,4025 g
In Petroläther lösliche Substanz: der 1. Ätherextrakt . .	1,3080 g
der 2. Ätherextrakt . .	0,2660 g
	<hr/>
zusammen:	1,9765 g

Da von dem Fett aus dem Futternapfe 0,86 g wieder gewonnen wurden, ist die tatsächlich verfütterte Anhydridölmenge auf 39,14 g zu korrigieren.

Die Ausnützung beträgt also bei diesem Versuche rund 95%.

Eine kleine Änderung dieser Zahlen ist durch die in den Rückständen möglicherweise noch enthaltenen Seifenmengen denkbar. Da aber die Untersuchung daraufhin noch einige Zeit in Anspruch nimmt, erlaube ich mir, diese vorläufigen Zahlen heute schon jetzt mitzuteilen.

Die Zahlen ergeben die Rohausnützung. Die wahre Ausnützung ist besser, da bei demselben, aber anhydridölfreiem Futter ebenfalls Fett im Kote vorhanden ist.

Den 5. Juni 1916.

gez. Prof. M. Cremer.

Das vorstehende sehr günstige Ergebnis der Ausnützungsversuche veranlaßte mich, bei Herrn Prof. Cremer die Prüfung von noch 2 Proben Anhydrid, deren Herstellung aus den Natriumsalzen von sog. Olinit- und Knochenfettsäuren mittels Phosgen Herr A. Grün freundlichst veranlaßt hatte, auf ihre Ausnützung nachzusuchen.

Die Untersuchung ergab folgende Werte (Hund):

Ausanützung des Olinitfettes: 93,2%. Nettoausnützung ist günstiger.
des Knochenfettes: 94,4%. Verfüttert 40 g in 2 Tagen.

Eine Analyse der mit dem Kote ausgeschiedenen freien Fettsäure bzw. Seifenmenge ist bisher noch nicht abgeschlossen.

Die betreffenden Werte sollen seinerzeit mitgeteilt werden.

Das Ergebnis der Ausnützungsversuche wird durch die noch ausstehenden Zahlen höchstens ganz unwesentlich beeinflußt.

Den 25. VII. 1916.

gez. Cremer.

Zu den Versuchen an Olinit¹⁾- und Knochenfettsäureanhydriden ist zu bemerken, daß erstere nach den später angeführten Titrationsversuchen mit alkoholischer $\frac{n}{10}$ -Lauge etwa 16%, letztere aber überwiegend, nämlich fast 80%, freie Säure enthielten, was möglicherweise auf eine Zersetzung dieser mißfarbigen salbenartigen Produkte beim Transport zurückzuführen war. Daher wären nur die beiden ersterwähnten Anhydride mit nur geringem bzw. mäßigem Gehalt an freier Säure zur Beurteilung der Ausnützbarkeit im tierischen Organismus einstweilen heranzuziehen. Es ist aber bekannt, daß auch manche unreine Glyceridfette, selbst reines Palmfett oder Olivenöl, beim Transport, besonders zur wärmeren Jahreszeit — und dieser Fall lag auch hier vor — leicht sehr starke Zersetzungen in freie Säure, z. B. Palmfett bis zu fast 100%, erleiden. Es wäre mithin verfrüht, wenn man etwa aus solchen vereinzelt Anomalien allgemeine ungünstige Schlüsse auf die Haltbarkeit von Anhydriden ziehen wollte. Systematische Versuche über diese Frage werden zur Zeit in Gemeinschaft mit Frl. Ida Tacke ausgeführt; es wird später hierüber berichtet werden.

¹⁾ Die Olinitfettsäuren entstammten einem bis zur Schmalzkonsistenz gehärteten Tran (Waltran).

Die technische Herstellung der Anhydride der höheren Fettsäuren ist weder für Ernährungszwecke noch für sonstige technische Benutzung an Stelle von Glyceridfetten meines Wissens bisher in Angriff genommen, weil es bislang sowohl an den nötigen Reagenzien wie auch an dem erforderlichen Rohmaterial (Fettsäuren) fehlte. Zudem mangelte es auch an den erforderlichen physiologischen und sonstigen chemischen Kenntnissen, welche diese Körperklasse dem Interesse der Chemiker hätten näherbringen können. Hierzu kam, daß man während des Krieges an den physiologisch gut ausnützbaren Äthylestern und an den nach Vorschlag von Emil Fischer in mäßigen Mengen den Speisefetten zugesetzten freien festen Fettsäuren einen bis zu einem gewissen Grade brauchbaren und wesentlich einfacher als die Anhydride zu gewinnenden Neutralfettersatz hatte. Nach Beendigung des Krieges fielen natürlich die Gründe für die Benutzung auch dieser Notbehelfe fort, sobald genügende Mengen Neutralfette eingeführt wurden.

Immerhin scheint es aber auch für den wahrscheinlichen Fall, daß wir mit Auslandsfetten in nächster Zeit reichlicher als bisher versehen werden, nötig, den allgemeinen Eigenschaften auch der im Vergleich zu den Äthylestern bisher kaum beachteten Anhydride der höheren Fettsäuren um so mehr erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen, als es sich hier im Gegensatz zu den Äthylestern dieser Säuren nicht um esterartig riechende, leichter flüchtige und, soweit sie nicht krystallinisch sind, sehr leichtflüssige Produkte, sondern um Produkte handelt, welche in allen ihren physikalischen Eigenschaften durchaus fettartigen, d. h. viscosöiligen oder salbenartigen Charakter haben.

Natürlich ist hierbei nicht etwa an die hochschmelzenden oder mäßig hochschmelzenden Individuen wie Palmitinsäure-, Stearinsäure-, Eruucasäureanhydrid usw. gedacht, welche, wie schon oben erwähnt, aus bloßen ökonomischen Gründen technisch nicht als Fettersatz in Betracht kommen und ebenso wie die entsprechenden Glyceride krystallisiert sind, sondern an die Anhydride aus den natürlichen Fettsäuregemischen, welche auch die bei Zimmerwärme flüssigen bzw. salbenartigen Anhydride der flüssigen Fettsäuren neben denjenigen der genannten festen Säuren enthalten.

Autorenverzeichnis.

- Bechhold, H. und L. Reiner. Die Stalagmone des Harns. S. 98.
- Bögel, Josef s. Verzár.
- Breest, Fr. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Über die Resorption der Kieselsäure. S. 309.
- Brinkman, R. und Frä. E. van Dam. Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. I. S. 35.
- — Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. II. S. 52.
- — Studien zur Biochemie der Phosphatide u. Sterine. III. S. 61.
- — Bemerkungen zu der Arbeit „Die Permeabilität der roten Blutkörperchen für den Traubenzucker“ von M. Bönninger. S. 74.
- Broekmeyer, J. s. Hymans van den Bergh.
- van Dam, E. s. Brinkman.
- Gerngross, Otto. Die Fähigkeit der tierischen Haut zur Reaktion mit Phenolaldehyden. S. 82.
- Holde, D. Über Anhydride höherer Fettsäuren als synthetische Neutralfette. S. 317.
- Holzer, P. s. Rosenthal.
- Hymans van den Bergh, Muller, P. und J. Broekmeyer. Das lipochrome Pigment in Blutserum und Organen, Xanthosis, Hyperlipochromämie. S. 279.
- Köhler, Erich. Untersuchungen über den Gang der alkoholischen Gärung der Hefe. S. 235.
- Muller, P. s. Hymans van den Bergh.
- Reiner, L. s. Bechhold.
- Rosenthal, F. und P. Holzer. Beiträge zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitszuständen. S. 220.
- Salkowski, E. Über die Konservierung von Blut mit Allylalkohol. S. 244.
- Schnabel, Alfred. Über die Bestimmung zell- und keimschädigender Substanzen in dünnen Lösungen auf biologischem Wege. (1. Mitteilung: Optochin.) S. 258.
- Schuhbauer, Franz. Zur physiologischen Wirkung der Kieselsäure. Die Einwirkung der Kieselsäure auf den tierischen Organismus. S. 304.
- Schulze, Paul. Membran und Narkose. II. Mitteilung. Vergleichende Leitfähigkeitsmessungen an narkotisierten Muskel- und Bindegewebsmembranen. S. 1.
- Stoklasa, Julius. Über die Radioaktivität des Kaliums und ihre Bedeutung in der chlorophylllosen und chlorophyllhaltigen Zelle. I. S. 109.
- — Der Mechanismus der physiologischen Wirkung der Radiumemanation und der Radioaktivität des Kaliums auf die biochemischen Vorgänge bei dem Wachstumsprozeß der Pflanzen. II. S. 140.
- — Die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums bei der Photosynthese. III. S. 173.
- Stosius, Karl und Karl Wiesler. Über die elektrosynthetische Darstellung der Tetradekamethylendikarbonsäure. S. 75.
- Verzár, Fritz und Josef Bögel. Untersuchungen über die Wirkung von akzessorischen Nahrungsubstanzen. S. 185.
- — Weitere Untersuchungen über Stoffwechselregulierung bei Bakterien. S. 207.
- Wiesler, Karl s. Stosius.

die Ka
it Ali

ber d
mschid

nen L
Wap

S. 251

ur ph
Kiesel

spaus

n und

ppie
reda

und

de
ur

rd
gen

ur

ur

ur

ur

ur

ur

ur

ur

ur

ur

ur

SLACKS

141709

